

## Studie aan ontwikkelingsstadia van Megachilidae

Anne Jan Loonstra

### Inleiding

In dit artikel worden methodieken besproken die voortvloeien uit jarenlang eigen onderzoek aan ontwikkelingsstadia van acht bijensoorten uit de familie Megachilidae. Dit waren *Anthidium manicatum*, *Chelostoma rapunculi*, *Heriades truncorum*, *Megachile lapponica*, *Osmia bicornis*, *O. leaiana*, *Stelis breviscula* en *S. punctulatissima*.

Het onderzoek gebeurde met behulp van bijenhôtels waar de gevulde nestgangen, die bestonden uit voorgespleten bamboestengels, uit gehaald konden worden voor onderzoek (Fig. 1). Voor *Anthidium manicatum* (en dus ook *S. punctulatissima*) werd door de auteur een speciaal observatienestblokje ontworpen om de soort aan te trekken (publicatie in voorbereiding) (Fig. 2). Deze soort nestelt zelden in bamboebuizen of geboorde gaten. Nadat een nest voltooid was, kon de bamboebuis of het observatienestblokje weg worden gehaald en binnenshuis met behulp van een binoculair onderzocht worden. Na het bespreken van de methodieken worden opvallende waarnemingen aan de verschillende ontwikkelingsstadia besproken en ter discussie gesteld.



Figuur 1. Een oude geverfde wijnkist in gesloten en open toestand met daarin 15 observatiebuizen. Foto A.J. Loonstra.



Figuur 2. Een observatienestblokje dat speciaal door de auteur is ontworpen voor *Anthidium manicatum*. De harige witte vulling is het nest van deze bij dat uit plantenharen bestaat. Foto A.J. Loonstra.

### Openen en bewaren nestbuizen

De bamboe observatiebuizen worden eerst voorgespleten, daarna kunnen beide helften gemakkelijk met ijzerdraad weer als één geheel in een observatiekist worden geplaatst. Elk buisje wordt gedragen door een klein houten latje waar zij met een tiewrap op vast worden gebonden (Fig. 1). Zo zijn zij achteraf ook weer gemakkelijk te openen (Fig. 3), zonder dat men met groot gereedschap de buis, met uiterst kwetsbare inhoud, nog moet open zien te krijgen. Het is belangrijk de bovenkant en onderkant van de buis te markeren. De onderkant van de buis komt na het openen op een plankje te liggen. Let er tijdens het openen op dat de voedselvoorraden alle op het onderste deel belanden, soms kleven zij namelijk aan de bovenkant. Om dit te voorkomen moet de bamboebuis net iets boven het midden gespleten worden (Fig. 4), daarbij is de aanhechting van de door de bij aangelegde tussenwandjes en vaak ook de voedselvoorraad in de nestbuis altijd sterker aan het onderste deel. Eenmaal open wordt de buis op een plankje vastgezet met twee stukken kneedgom, wat voorkomt dat de buis wegrolt. Op momenten dat de larven niet bestudeerd worden kan de bamboebuis weer worden afgesloten door de bovenste helft er voorzichtig weer op te leggen en deze op twee plaatsen met kneedgom even vast te zetten. Daarna kan het plankje met daarop de buis op een veilige, donkere koele plaats in huis worden neergezet. Er bestaan ook observatienestkasten voor solitaire bijen waarbij er in gestapelde planken nestgangen zijn gefreesd. Die zijn voor onderzoek naar de



Figuur 3. Een nestbuis van *O. leaiana* in geopende toestand. Foto A.J. Loonstra.

ontwikkelingsstadia minder geschikt omdat men genoodzaakt is ineens alle nestgangen bloot te leggen. Ook nestgangen waar eventueel andere vrouwtjes nog in bezig zijn. Het voordeel van de hier beschreven observatiekast is dat men een voltooid nest er individueel uit kan halen zonder andere vrouwtjes te verstoren.



Figuur 4. Een nestafdichting van *O. leaiana* in de observatienestkast, de pijl laat zien dat de bus net iets boven het midden gespleten is. Foto A.J. Loonstra.

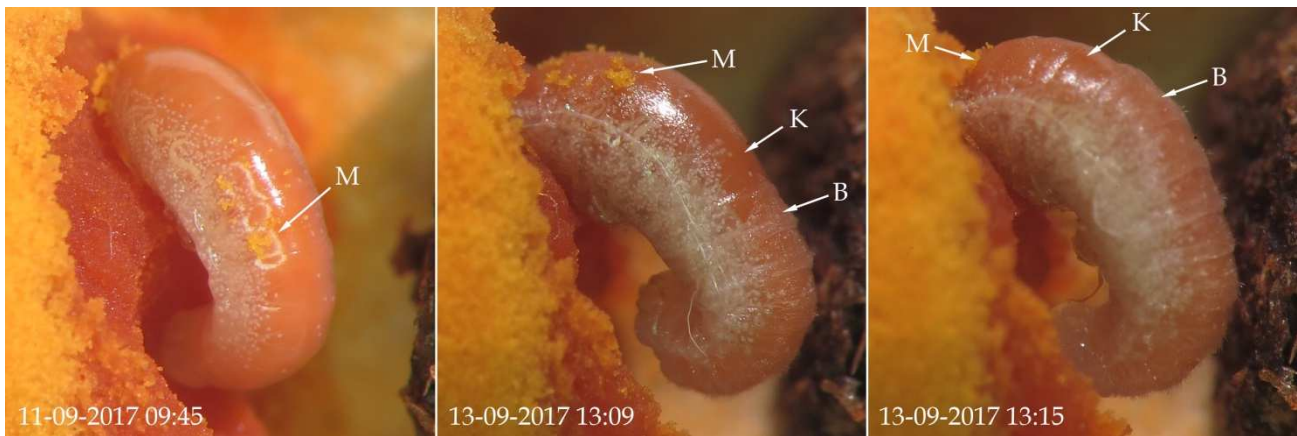
Niet alle soorten bijen laten zich echter zo gemakkelijk observeren. Zo is het openen van *Megachile* nestcellen tijdens het ei stadium of als jonge larve vaak fataal. Doordat de voedselvoorraad erg vloeibaar is, droogt deze dan te snel uit en sterft de larve vroegtijdig. Een andere soort waar zich problemen voordeden door het openen van de cocons was *Osmia leaiana*. Deze soort kent een typerende ontwikkeling die verdeeld ligt over drie kalenderjaren. De eerste overwintering vindt als prepop in diapauze (rustlarve) plaats. Het openen van de cocons was voor geen enkele larve nadelig. De tweede overwintering vindt plaats als imago. Het lijkt er op dat alle imago's na die tweede overwintering een hermetisch afgesloten cocon teveel hebben gemist. Sommige verschijnen daardoor veel te vroeg en andere stierven vroegtijdig, vermoedelijk aan uitdroging. De overige besproken soorten vertoonden geen afwijkingen in ontwikkelingspatroon. Zij ontwikkelden zich tot gezond imago en konden alle in de voor die

soort typerende verschijningsperiode vrijgelaten worden.

#### Markeringsmethode voor onderzoek larvestadia

Vanaf het openen van een nestbuis werden er per dag op minimaal twee vaste momenten observaties gedaan (ochtend en avond). In het begin van de ontwikkeling van ei tot en met het spinnen van een cocon komt het er echt op aan om daar niet van af te wijken door één of meer dagen over te slaan. Sommige stadia duren slechts een halve dag. Het is tijdens de eerste vier dagen na het uitkomen van het ei zelfs raadzaam drie observatiemomenten per dag aan te houden (vroeg ochtend, middag en avond). Dit type nestonderzoek vergt een sterke discipline en een zorgvuldige en overzichtelijke manier van werken. Vooraf werd een datasheet gemaakt waarin alle belangrijke zaken als nest- en nestcelnummer, datum, dagdeel (AM/PM), soort (gastheer/broedparasiet) en stadium (ei, larve, etc.) konden worden ingevoerd. Daarnaast moet er ruimte zijn om speciale waarnemingen te kunnen noteren. Een datasheet moet zo zijn ingericht dat er gemakkelijk overzichten uit gehaald kunnen worden. Het invullen van een datasheet (digitaal of op papier) moet direct gebeuren.

Het vaststellen van de verschillende larvestadia geschiedde met behulp van kleine markeringen van stuifmeel en later ook met een blauwe pigmentstof, die werden aangebracht op de larvehuid. Met deze methode kan zeer nauwkeurig het aantal en de duur van de verschillende larvestadia worden vastgesteld. Direct na het uitkomen van het ei werd een zeer kleine hoeveelheid stuifmeel met een fijn kwastje aangebracht op het lichaam van de larve. Er werd een foto van de markering gemaakt. Daarna is wederom minimaal twee keer per dag gekeken of de markering nog intact was, of teruggeschoven was door het afstropen van de larvehuid. In dit laatste geval was de (nieuwe) larvehuid weer volkomen schoon (Fig. 5). Ook dan werd weer een foto gemaakt van de schone larve en werd direct een nieuwe markering gemaakt, waarvan ook weer een foto werd gemaakt. Deze methode is de enige betrouwbare om vervellingen vast te kunnen stellen. De huidjes zijn zodanig dun dat het afstropen vrijwel niet met het blote oog waargenomen kan worden, maar het wordt heel goed zichtbaar door de markering die met het afstropen van de huid mee verschuift. De larve beweegt in de eerste stadia niet actief door de nestcel heen, ze zit volkomen immobiel



Figuur 5. Fotocompilatie van vervelling van *Osmia leaiana*. Links een larve met een markering van stuifmeel midden op het lichaam. Midden en rechts is te zien hoe de markering met het afstropen van de larvehuid mee schuift en er een schone larvehuid tevoorschijn komt. **Legenda:** M= markering van stuifmeel, K= kale larvehuid (glanzend), B= behaarde larvehuid (dof). Foto's A.J. Loonstra.

op de voedselvoorraad. Abusievelijk aanwezig stuifmeel anders dan de gemaakte markering is afwezig. Bovendien is elke markering uniek qua vorm, door hier een foto van te maken kunnen veranderingen direct opgemerkt worden.

Het stuifmeel is geheel ongevaarlijk en heeft van nature een lichte kleverigheid waardoor het uitermate geschikt is voor jonge kwetsbare larven. Wanneer de larve vervelt tot het laatste larvestadium raakt ze van de voedselvoorraad af. Het is zaak nu wel een markering te maken die anders is dan het aanwezige stuifmeel. Niet alleen bestaat er dan de kans dat er ander stuifmeel op de larve belandt maar ook dat de gemaakte markering door bewegingen langs de nestcelwanden wordt afgeschuurd. Daartoe werd een markering gemaakt met een lichtblauwe markeringsstift die ook wordt gebruikt voor het markeren van Honingbijen (POSCA-stift). Het vloeibare pigment werd eerst op een gladde niet-zuigende ondergrond aangebracht en vervolgens met een fijn kwastje op de huid van de larve. De blauwe markering blijft de rest van de actieve larvale periode aanwezig. Soms brokkelt deze wel uiteen door het groeien van de larve. Dan werd de markering weer ververst. De plaats bleef echter altijd hetzelfde. Markeringen met pigment uit markeringsstiften zijn af te raden voor jonge larven, daar zijn bij andere proeven larven aan bezweken. Oudere larven hebben er geen last van.

Het tellen van oude larvehuidjes is een moeilijke en onzekere methode, bovendien kan de duur van de stadia op die manier niet worden vastgesteld. Oude larvehuidjes zitten altijd om de zitbasis van de larve, dus rondom het achterste deel van de originele ei positie. Zij kunnen slechts als één geheel verzameld worden. Het is zeer lastig tot onmogelijk deze van elkaar te krijgen (zonder de mogelijkheden van een laboratorium) om het aantal vervellingen vast te

stellen. Zij zijn microscopisch dun, uiterst kwetsbaar en zitten volkomen ineengeschrompeld op elkaar gekleefd. De huidjes van de eerste larvestadia kennen maar weinig of geen sklerotisering van de kaken en zullen minder snel herkenbaar zijn. Toch kan het zinvol zijn deze met een microscoop met verlichting van onderen te bekijken, om te kijken of de kopdelen als zodanig herkenbaar zijn. Als dat het geval is kunnen de larvehuidjes die rond de zitbasis van de larve zitten geteld worden. Dit is in dit onderzoek niet geprobeerd. Een opvallende overeenkomst tussen alle waargenomen soorten is dat alle vervellingen plaatsvinden zolang de larve met de zitbasis aan de voedselvoorraad vastgehecht zit. Daarna vervelt het individu niet meer tot aan het popstadium.

#### Hanteren, openen en bewaren cocons en larven

Alle onderzochte soorten spinnen een cocon. Het is raadzaam om de cocon, wanneer dat kan, voor het openen geheel uit een nestbuis te halen en aan de buitenkant volledig schoon te maken. Dit schoonmaken kan met een kwastje maar ook kan het oppervlak voorzichtig afgeschrapt worden met een scalpel of afbreekmesje. Het isoleren en schoonmaken heeft meerdere redenen. Een losgemaakte cocon kan beter en preciezer bewerkt en gehanteerd worden en bovendien wordt voorkomen dat resten van excrementen of stuifmeel op de rustende larve belanden. Om de larven te laten overwinteren na het openen van de cocons moeten zij in aparte kleine bakjes bewaard worden omdat ze met een geopende cocon meestal aangevallen worden door mijten die de larven uiteindelijk doden. De in dit onderzoek gebruikte bakjes zijn volledig transparante perspex Micromount doosjes (Figuur 8) voor geologische monsters.

Bij sommige soorten is de cocon slechts één vliezige dunne huls, andere spinnen harde en taaie cocons die

uit meer lagen bestaan. De vliezige cocons kunnen gemakkelijk met een pincet of gekromde microscopische schaar geopend worden. Sommige van deze vliezige cocons zitten echter tamelijk vast gesponnen aan de nestwanden en laten zich niet als hele en gave cocon verwijderen (Fig. 6). Een poging daartoe resulteert in een uitgerekte en gescheurde cocon. Zeker als de larve er nog in zit bij het verwijderen, komt deze soms fataal in de knel tussen plooiën en vouwen in het vlies die door het trekken ontstaan. De larve kan men niet terug in de buis leggen omdat zij dan prooi wordt voor mijten. Hieraan zijn bij onderzoeken soms alle larven in een nestbuis gestorven. In die gevallen kan er voor worden gekozen om een schoon stukje keukenpapier te nemen en dit op kneedgom te drukken en daarin een heel klein ovaal kuiltje te maken waar de larve in komt te liggen. Dit wordt vervolgens in een Micromount doosje geplaatst en kan op een donkere veilige plaats worden opgeborgen op momenten dat men de larven niet bestudeert. Het gaat er om dat de larve tijdens de winterrust op de rug kan blijven liggen in een ronde tot ovale vorm die ongeveer gelijk is aan die van een cocon.



Figuur 6. Een geopende nestcel van *Heriades truncorum* met daarin een rustlarve die in een vliezige, deels aan de wanden gehechte cocon ligt. Foto A.J. Loonstra.

Het openen van een dikwandige taaie cocon gebeurde door de cocon onder een binoculair te leggen en vast te zetten op kneedgom op itex bodemplaat of piepschuim. Met behulp van een puntige (nieuwe!) scalpel of scherp afbreekmesje en soms een gekromde microscopische schaar werd heel voorzichtig een ovaalvormige incisie gemaakt over de lengte van de zijwand van de cocon (Fig. 7). Onder het binoculair kan heel precies te werk worden gegaan, men mag immers niet te ver in de cocon snijden omdat anders de larve geraakt wordt. Met duim en wijsvinger van de ene hand kan de cocon op zijn plek worden gehouden en langzaam worden gedraaid terwijl men met de andere hand de incisie maakt. De incisie wordt gemaakt door zachtjes met de punt van de scalpel over de cocon te bewegen, net zo lang tot men voelt dat de

scalpel er door snijdt. Soms lukt volledig uitsnijden met een mesje niet doordat de cocon flexibel is en teveel veert. Het gevaar bestaat dan dat de harde en scherpe snijranden van de cocon de larve raken. Ze kunnen de larve gemakkelijk fataal verwonden. Dan komt een gekromde microscopische schaar van pas. De kromming van de schaar moet richting cocon worden gehouden zodat men zoveel mogelijk met de lengte van de coconwand mee knipt.

Als eenmaal de cocon is opengeknipt, kan ze voor observatie vast worden gezet op kneedgom in een Micromount doosje (Fig. 8). Het doosje moet worden voorzien van een stickertje met informatie over de inhoud. Dat is datum, nestbuisnummer, nestcelnummer en de soort.



Figuur 7. Een schoongemaakte en geopende cocon van *Osmia leaiana* met daarin een rustlarve. Foto A.J. Loonstra.

Het hanteren en oppakken van larven vergt een goede motoriek en geschikt gereedschap. Wanneer het kon werd een larve slechts met een zeer zacht kwastje al rollend verplaatst naar een klein kartonnetje om vanaf daar door gerold te worden naar een veilige plek zoals een kuiltje in keukenpapier. Soms werd een Leonard pincet gebruikt om de larven op te pakken, grote stevige larven kunnen wel wat hebben, maar voor de allerkleinste larven lijkt dit niet erg gunstig.

### Overwinteren larven

Om de larven succesvol te laten overwinteren, moeten zij in de Micromount doosjes in een grotere en lichtdichte (al dan niet dubbele) schone bak of kist worden geplaatst op een droge plaats buitenshuis (Fig. 9). De Micromount doosjes sluiten niet geheel hermetisch af waardoor zuurstoftekort geen probleem lijkt te zijn. Eventueel kunnen er in het dekseltje kleine gaatjes geboord worden of kan het dekseltje op een klein open kiertje gezet worden om ventilatie mogelijk te maken. Vooral bij aanwezigheid van resten stuifmeel of andere bederfelijke inhoud is dit

belangrijk. Bij doosjes zonder ventilatie is kans op schimmelvorming op resten stuifmeel groot, bij doosjes met betere ventilatie blijft schimmelvorming weg. De larven zelf ondervonden nooit last van schimmelvorming, ook niet bij gesloten doosjes. De bewaarkistjes werden steeds in een onverwarmde schuur geplaatst. Het is van groot belang om de larven bij de natuurlijke buitentemperaturen te laten overwinteren. In onze huizen zijn weliswaar koude plaatsen aanwezig, maar zijn altijd nog veel warmer dan buiten en temperatuurschommelingen van dag en nacht zijn veel kleiner. Ook is de luchtvochtigheid in onze huizen waarschijnlijk te laag en bestaat er kans op uitdroging.



Figuur 8. Een geopende cocon van *Anthidium manicatum* op een stukje kneedgom in een Micromount doosje. Foto A.J. Loonstra.



Figuur 9. Verschillende Micromount doosjes en een groter doosje met een nest van *Anthidium manicatum* in een dubbele overwinteringskist die in een onverwarmde schuur komt te staan. Foto A.J. Loonstra.

Door de larven al dan niet in een eigen cocon op deze wijze veilig op te bergen wordt er voor gezorgd dat zij veilig kunnen overwinteren. Na de winter kan ook gemakkelijk de verpopping worden bijgehouden. Imago's kunnen gewoon vrij worden gelaten.

### Opvallende waarnemingen aan larvestadia en voorstel voor alternatieve naamgeving

De meeste van de hier bestudeerde soorten Megachilidae kennen vier larvestadia, één kent er vijf. Van twee soorten kon het exacte aantal niet worden vastgesteld. De markeringsmethode zoals boven beschreven is door de auteur jarenlang gebruikt bij het bestuderen van Megachilidae en liet bij alle hier bestudeerde soorten een gezamenlijk goed herkenbaar en karakteristiek ontwikkelingspatroon zien binnen de actieve periode van de larve. Met dit laatste wordt de periode bedoeld die loopt vanaf het uitkomen van het ei tot en met het spinnen van de cocon waarbij de larve het proviand consumeert, zich ontlast en als laatste een cocon spint. Alle onderzochte soorten kennen na uitkomen van het ei een aantal korte snel opeenvolgende larvestadia gevolgd door één langer laatste stadium dat eindigt wanneer de cocon is gesponnen. Alle onderzochte soorten vertonen bij het laatste stadium overeenkomstige morfologische en biologische kenmerken (zie kenmerkenoverzicht verderop in deze paragraaf). De eerste larvestadia lijken op elkaar maar kunnen in aantal verschillen per genus. Bij *Megachile lapponica* werden 4 eerste stadia geconstateerd (totaal 5 larvestadia met vier vervellingen). Bij *Anthidium manicatum*, *Chelostoma rapunculi*, *Heriades truncorum*, *Osmia bicornis* en *O. leaiana* werden drie eerste stadia geconstateerd (in totaal 4 larvestadia met drie vervellingen). Bij *Stelis punctulatisima* kon het exacte aantal eerste larvestadia niet worden vastgesteld, echter wel het moment van het uitkomen van het ei en de vervelling naar het laatste larvestadium. De optelsom van de eerste stadia is bij deze soort 4,3 dagen, het laatste stadium duurt gemiddeld 15,3 dagen. Van *S. breviscula* werden wel alle ontwikkelingsstadia waargenomen, echter verspreid over verschillende individuen, sommige gingen vroegtijdig dood. Beide soorten *Stelis* laten echter wel eenzelfde patroon zien als bij de eerder genoemde bijensoorten. Dus een aantal korte stadia die vooraf gaan aan één langer laatste stadium. Torchio (1989) beschrijft voor *Stelis montana* vijf larvestadia waarvan de eerste vier zeer kort zijn en de laatste langer (stadium. 1: verm. < 24 uren, st. 2 en 3: 24 uren, st. 4: 30-36 uren, st. 5: 7-15 dagen). Dit toont ook duidelijk hetzelfde patroon.

De kenmerken van hierboven beschreven larvestadia van de 8 bestudeerde soorten komen zo sterk met elkaar overeen en zijn dermate karakteristiek dat tijdens het bestuderen en schrijven de behoefte rees

aan een alternatieve naamgeving en indeling van deze stadia. Deze behoefte wordt pas duidelijk als men de larven daadwerkelijk zelf minutieus onderzoekt. De eerste korte larvestadia zouden “primaire larvestadia” genoemd kunnen worden (dus primair larvestadium 1, primair larvestadium 2 en primair larvestadium 3 etc.) en het laatste larvestadium zou “secundair larvestadium” genoemd kunnen worden. Binnen dit onderzoek lijken deze termen recht te doen aan de karakteristieken van de soort of het genus. Voornamelijk omdat het laatste larvestadium een uniforme naam krijgt (niet larvestadium 4 of 5). Bij bijvoorbeeld *Heriades truncorum* is het secundaire stadium het vierde larvestadium, echter bij *Megachile lapponica* is het secundaire stadium het vijfde larvestadium. Zo worden bij beschrijvingen misverstanden voorkomen en het vergemakkelijkt het maken van vergelijkingen met andere soorten of genera. Vanaf hier worden deze termen gebruikt in dit artikel.

De procentuele verhouding tussen de optelsom van de primaire stadia en het aantal dagen in het secundaire stadium verschilt per soort. Zo zien we dat bij *Osmia*

*bicornis* de primaire stadia samen 30 % van de totale actieve larvetijd innemen en dat dit voor *Heriades truncorum* slechts 12% is. Binnen de primaire stadia zien we bij alle soorten een oplopende duur van stadium 1 tot en met 3. Het eerste stadium het kortst, het derde stadium het langst. Zie tabel onder en Torchio (1989).

In tabel 1 en diagram 1 zijn de absolute en procentuele duur van de larvestadia opgenomen over de totale actieve periode van de larve vanaf uitkomen van het ei tot en met het spinnen van de cocon. De resultaten zijn hier beperkt tot een vijftal soorten die alle in totaal vier larvestadia kennen en waarvan voldoende gegevens onderzocht konden worden. Het patroon geldt echter voor alle bestudeerde soorten.

Kenmerkenoverzicht primaire en secundaire larvestadia bij Megachilidae

- De primaire larvestadia gaan altijd vooraf aan een langer secundair (laatste) larvestadium. Zij zijn altijd kort tot zeer kort. Hierbij is de larve altijd kaal, het lichaamsoppervlak is glanzend en niet gerimpeld. De larve ontlast zich niet, de middelste en achterste

Tabel 1. Overzicht van actieve larvestadia van vijf van de bestudeerde soorten.

Actieve larvestadia (l.st.) vanaf ei t/m spinnen cocon in gemiddelde dagen					
Soort	Primair l.st. 1	Primair l.st. 2	Primair l.st. 3	Secundair l.st. 4	Totaal
<i>Anthidium manicatum</i>	0,75 (n=2)	0,75 (n=2)	2,25 (n=4)	10,42 (n=4)	14,2
<i>Chelostoma rapunculi</i>	1,00 (n=12)	1,17 (n=12)	2,33 (n=15)	17,35 (n=17)	21,9
<i>Heriades truncorum</i>	0,75 (n=18)	1,03 (n=17)	2,02 (n=22)	28,8 (n=23)	32,6
<i>Osmia bicornis</i>	2,75 (n=4)	3,00 (n=4)	3,75 (n=4)	22,67 (n=3)	32,2
<i>Osmia leaiana</i>	1,29 (n=7)	1,29 (n=7)	2,88 (n=8)	25,01 (n=9)	30,5

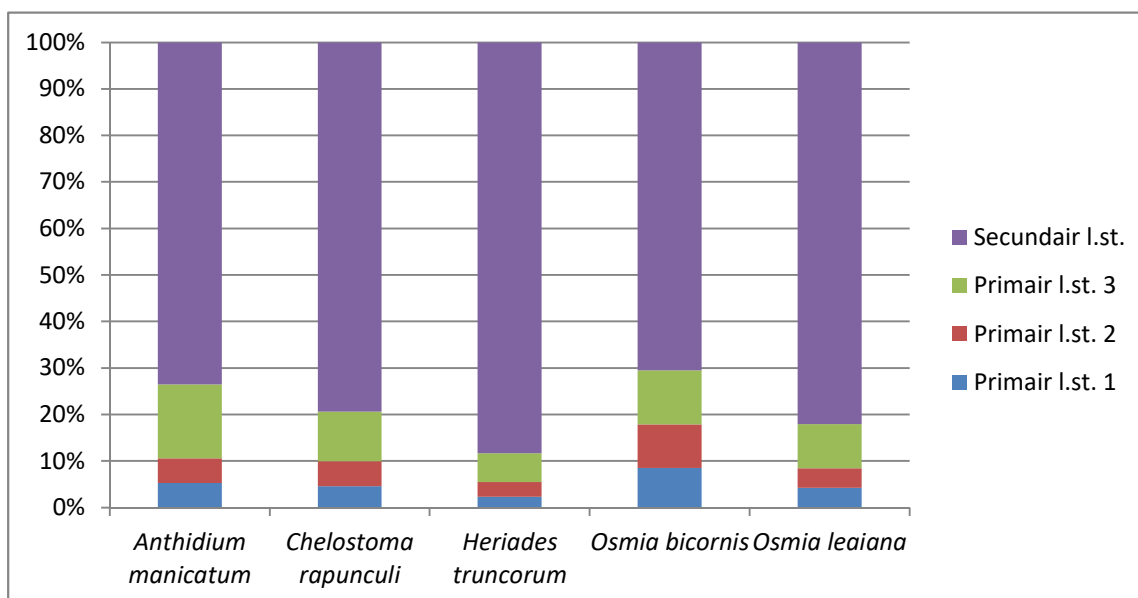


Diagram 1. Overzicht van de procentuele verhouding tussen de primaire stadia en het secundaire stadium.

darmen blijven in de primaire stadia van elkaar gescheiden (Michener 1974). Per genus kan het aantal primaire stadia verschillen (3-4). De larven zitten tijdens alle eerste stadia vast op het voedsel en zijn immobiel. De locatie is bij soorten met een droge voedselvoorraad altijd boven aan de voorkant op de voedselvoorraad. Zo eten zij altijd met de kop naar beneden het voedsel onder zichzelf weg. Ook soorten met een vochtige voedselvoorraad als *Anthidium* en *Megachile* zijn nu altijd immobiel en consumeren het voedsel met de kop ondergedoken in het vloeibare voedsel.

- Het secundaire larvestadium duurt altijd langer als alle primaire stadia bij elkaar en is altijd het laatste actieve larvestadium. Dit larvestadium duurt tot en met het spinnen van de cocon. Hierbij is de larve altijd behaard (soms heel lastig zichtbaar doordat haren klein en doorschijnend zijn) en het lichaamsoppervlak is dof en direct na het vervellen zeer fijn gerimpeld. Kort na de laatste vervelling wordt de afscheiding tussen de middelste en achterste darmen opgeheven en kan de larve starten met ontlasten. Na het ontlasten worden middelste en achterste darm weer van elkaar gescheiden (Michener 1974). Welk specifiek moment dit voor de onderzochte soorten is, kon niet met zekerheid worden vastgesteld. Vermoedelijk kort na het inspinnen, tijdens het spinnen wil de larve nog wel eens dunne ontlasting of vocht afscheiden uit de anale opening. Bij uitzondering werd bij enkele larven soms nog een restje ontlasting op de larvehuid gevonden terwijl ze al ingesponnen waren. Ontlasting wordt namelijk altijd volledig oversponnen. Binnen in de cocon zit normaal nooit ontlasting. Om die reden is de korte periode van inspinnen ook tot het secundaire larvestadium gerekend. Het moment van scheiden van de middelste en achterste darmen moet in ieder geval vooraf gaan aan de start van de metamorfose als prepop (zie volgende paragraaf). Alle larven met een droge voedselvoorraad zitten in het secundaire larvestadium aanvankelijk nog vast bovenop het voedsel maar vallen daar na enige tijd van af door geringere aanhechting en zwaartekracht. Zij worden vanaf dat moment mobiel. Dit geldt voor alle soorten ongeacht de aard van de voedselvoorraad. Ook *Anthidium* en *Megachile* die een vochtige voedselvoorraad aanleggen worden pas in het secundaire stadium mobiel.

### **Terminologie prepopstadium en voorstel voor nuancering in de naamgeving**

De grens tussen alle verschillende ontwikkelingsstadia wordt bij bijen gemarkeerd door een vervelling, behalve bij de grens tussen het laatste actieve larvestadium en het prepopstadium (zie tabel ontwikkeling *Heriades truncorum* onder). In vergelijking

met bijvoorbeeld vlinders is dit anders. Bij vlinders is wel sprake van een laatste (meestal 4<sup>e</sup>) vervelling. Na het afwerpen van de laatste rupsenhuid verandert de rups in een pop en vindt de metamorfose naar imago plaats binnenin de pophuid. Bij vlinders zijn alle stadia inclusief de kenmerken daarvan met één kernachtig passend woord te benoemen. Bij bijen is dat lastiger. Alvorens het prepopstadium hier te beschrijven en toe te lichten aan de hand van foto's is het zinvol de terminologie eerst te bespreken.

Een volgroeide larve die alle excrementen heeft uitgestoten noemen we vanaf dat moment een "prepop" (Michener 1974 & 2000) en de periode waarin dit plaatsvindt wordt het prepopstadium genoemd. In Peeters et al. (2012) wordt aangegeven dat dit ook wel een "rustlarve" genoemd wordt. Het wordt als synoniem omschreven. Beide termen zijn al jarenlang verankerd in de literatuur.

De term "prepop" duidt op een inwendige metamorfose "voorafgaand aan het popstadium". Het moment waarop die metamorfose start kan verschillend zijn. Bij veel soorten die als imago in het voorjaar vliegen zien we dat die metamorfose (vrijwel) direct volgt na het uitstoten van de excrementen. Bij de meeste soorten die als imago in de zomer vliegen zien we dat die metamorfose pas de volgende lente start. Bij die laatste gaat de larve (evt. na het inspinnen) in diapauze. De term "larve" is nu niet meer helemaal toereikend omdat de meeste van de onderzochte soorten zich niet meer als actieve secundaire larve kunnen gedragen, verschillende lichaamsfuncties lijken te veranderen of lijken voorgoed te zijn stilgelegd (zie ook beschrijving verderop). De term "rustlarve" is voor deze periode van (winter)rust het meest passend omdat in het woord zelf al een indicatie zit waar het in deze periode over gaat, namelijk letterlijk een "larve in rust". Het woord "prepop" is op dat moment niet passend omdat het geen indicatie van diapauze of rust bevat maar op een verandering duidt die nog niet plaats heeft gevonden. Echter na de winterrust zal de larve ontwaken en starten met de inwendige metamorfose. Op dat moment kan dat niet meer een "rustlarve" genoemd worden en dan is het woord "prepop" wel van toepassing omdat de larve inwendig bezig is het lichaam voor te bereiden op het popstadium. De woorden "rustlarve" en "prepop" dekken voor soorten met de bovengenoemde larvale winterrust alleen samen de lading. De schoen wringt door het feit dat wij "prepop" en "rustlarve" als synoniem hebben omschreven, terwijl er binnen dit stadium sprake is van twee uitersten; rust tegenover ingrijpende inwendige activiteit. De activiteit is voor een ongetraind oog maar weinig herkenbaar.

De bestaande termen kan men gebruiken zolang men maar goed toelicht wat er mee bedoeld wordt. De term “rustlarve” geldt alleen voor de larve die na zich geheel ontlast te hebben niet overgaat tot inwendige metamorfose maar voor een periode in diapauze of rust gaat. Meestal is dit de winterrust maar mogelijk bestaat er voor sommige soorten nog een korte rust voordat zij verpoppen in hetzelfde jaar. De term “prepop” geldt alleen voor de periode waarin de larve een inwendige metamorfose ondergaat (direct of kort na het secundaire larvestadium of na het ontwaken uit de diapauze het volgende kalenderjaar).

Wanneer het wenselijk is binnen deze materie één uniforme term te hanteren moet er een keuze gemaakt worden. Omdat de term “prepop” van Michener (1974) al zodanig in onze literatuur is vergroeid is het wenselijk hier niet zomaar van af te wijken. Datzelfde geldt voor de term “rustlarve” die bijvoorbeeld ook in het Duits “Ruhelarve” wordt genoemd. Dat zou veel verwarring opleveren. Toch blijkt duidelijk dat een nuancering op zijn plaats is omdat het zinvol kan zijn een onderscheid te willen maken tussen de karakteristieke perioden van rust en metamorfose. Wanneer je een uniforme basisterm wilt hanteren voor de periode tussen het laatste actieve larvestadium en het popstadium die voor alle bijen (met of zonder larvale winterrust) passend is lijkt het de beste oplossing om de term “prepop” aan te vullen met een term er achter tussen haakjes. Dat resulteert in “Prepopstadium (rustlarve)” en “Prepopstadium (ware prepop)”. Voor beschrijving van individuen kunnen de termen “prepop in rust/diapauze” en “prepop in metamorfose” gehanteerd worden. Op deze wijze blijven de bestaande termen “prepop” en “rustlarve” gehandhaafd en wordt er geen verwarring veroorzaakt wanneer bestaande literatuur wordt vergeleken. De woorden zelf geven een directe indicatie waarover het gaat.

### Waarnemingen aan het prepopstadium

De overgang tussen een prepop in diapauze en prepop in metamorfose tekent zich niet scherp af en voltrekt zich ook niet binnen enkele uren zoals bij de overgang van prepop naar pop (Loonstra 2012). De beschrijvingen in de genoemde literatuur blijven beknopt en zijn zelden voorzien van beelden. Aan de hand van de eerder genoemde soorten wordt hieronder een beeldende beschrijving gegeven om meer helderheid te verschaffen over dit complexe stadium. Alle bovengenoemde bestudeerde Megachilidae behalve *Osmia bicornis* overwinteren als prepop in diapauze en vertonen alle op dezelfde wijze de hier beneden beschreven processen (*O. bicornis* start direct na het inspinnen de metamorfose). Om het visueel te verduidelijken is *Heriades truncorum* als voorbeeld genomen, voor de andere soorten gaat een

vergelijkbare ontwikkeling op.

Direct na het ontlasten spint de larve een cocon. Morfologisch verandert er direct na het inspinnen tot aan het vroege voorjaar weinig. De larve is tot in het vroege voorjaar in volledige diapauze. Per soort is het verschillend wanneer die absolute rust ingaat. Wanneer men de cocon enkele dagen na inspinnen open maakt, kan het zijn dat de larve nog reageert op licht en beroering. Alle secundaire larven vertonen een bijtreflex wanneer de kop met een fijn kwastje beroerd wordt. Er komt kort daarna echter een moment dat de larve op geen enkele prikkel meer reageert. De larve ligt vanaf dat moment op de rug in de cocon in een sterk gekromde houding en is niet meer in staat te bewegen. Deze gekromde houding is karakteristiek voor rustlarven van alle geobserveerde soorten (Fig. 10). Het lichaam is erg kreukelig en zeer slap. Het is volledig in te drukken en wordt met een poging om het met een Leonardpincet op te pakken volkomen plat gedrukt en veert ook niet terug in de originele vorm. Het reageert bijna als een kussen waar de vulling los en slap in zit.

Na het winterseizoen komt er een moment van ontwaken uit de diapauze (Fig. 10). Dit moment is erg moeilijk vast te stellen en vergt ervaring in het observeren van dit stadium. Vanaf ongeveer half februari/begin maart zijn de meeste bestudeerde soorten één keer per dag gecontroleerd op veranderingen. Ook dit vergt net als het observeren van vervellingen de nodige discipline. Als eerste komt enige beweeglijkheid terug en reageert de rustlarve weer op beroering. Net na het ontwaken is de larve nog in staat het lichaam nog volledig te krommen en te draaien al gaat dit moeizaam en traag. Bij de meeste soorten werd geen bijtreflex meer waargenomen bij beroering. Het leek er op dat de kaken zelfs niet meer bewogen konden worden. Een opvallende uitzondering hierop vormde *Osmia leaiana*. De larve gedroeg zich als een secundaire larve, deze was nog goed beweeglijk en vertoonde ook een bijtreflex bij beroering van de kop. De ontwaakte rustlarve zet nu een inwendige morfologische verandering in gang die je “prepupale metamorfose” zou kunnen noemen. Zeer langzaam, verspreid over weken, begint de larve het lichaam te strekken en komt er stevigheid terug in het lichaam. Het lichaam kan weer normaal opgepakt worden met een Leonardpincet zonder dat het volkomen plat wordt gedrukt. De beweeglijkheid neemt geleidelijk af. Het lichaam kan in het voorbeeld na ongeveer 3 weken (Fig. 10) nog op één plaats voorover buigen maar ook dat verdwijnt uiteindelijk. Deze knik bevindt zich op de plaats waar het toekomstige borststuk en achterlijf aan elkaar zitten, de taille. Ook wordt de huid zeer fijn rimpelig en is het





Figuur 10. Fotocompilatie van ontwikkeling van *Heriades truncorum* van rustlarve tot pop (alle hetzelfde individu bij dezelfde vergroting). Foto a: rustlarve (prepop in diapauze), foto b: ontwakende rustlarve, foto c: prepop in metamorfose, foto d: prepop in metamorfose, foto e: prepop in metamorfose, foto f: pop van 1 dag oud. Foto's A.J. Loonstra.

lichaam iets meer opaak (niet doorschijnend). Alle onderdelen voor de toekomstige pop worden binnenin de oude larvehuid gevormd. In dagen (verschillend per soort) vlak voor de verpopping beginnen toekomstige kop, borststuk en poten zich af te tekenen. De zijanten van het lichaam vlakken aan de tophelft af, alleen de beneden helft vertoont nog de plooiën van

de larvale segmenten. Wanneer alle onderdelen van de pop intern gevormd zijn kan de prepop door het lichaam te krommen en de strekken de oude larvehuid doen scheuren en kunnen monddelen, kop, borststuk en poten opgepompt worden. De overgang van prepop naar pop werd eerder beschreven in Loonstra (2012) en wordt hier achterwege gelaten.

Tabel 2. Overzicht van alle ontwikkelingsstadia van *Heriades truncorum*.

Ontwikkeling <i>Heriades truncorum</i> in dagen				
Stadium	Min.	Gem.	Max.	n
Ei	2,5	<b>3,53</b>	5,0	17
( <i>verveling ei-larve</i> )				
Primair larvestadium 1 (voeden)	0,5	<b>0,75</b>	2,0	18
( <i>1e larvale vervelling</i> )				
Primair larvestadium 2 (voeden)	0,5	<b>1,03</b>	2,0	17
( <i>2e larvale vervelling</i> )				
Primair larvestadium 3 (voeden)	1,5	<b>2,02</b>	4,0	22
( <i>3e larvale vervelling</i> )				
Secundair larvestadium (voeden en ontlasten)	17,5	<b>26,11</b>	35,0	21
Secundair larvestadium (spinnen cocon)	1,5	<b>2,69</b>	5,0	18
Prepop in diapauze (rustlarve)	213,5	<b>237,75</b>	270,5	34
Prepop in metamorfose (ware prepop)	27,0	<b>44,57</b>	63,5	35
( <i>verveling prepop-pop</i> )				
Pop	15,0	<b>15,59</b>	17,5	34
( <i>verveling pop-imago</i> )				
Imago in cocon	3,5	<b>4,93</b>	7,0	34
<b>Totaal</b>		<b>338,97</b>		nvt

Om een overzicht te krijgen hoe een volledige ontwikkelingscyclus er uit ziet is een tabel gemaakt van de ontwikkelingsstadia van *Heriades truncorum* (Tabel 2). De totale tijd in het nest bedraagt ongeveer 339 dagen (nagenoeg 11 maanden, 93% van één jaar). Daarvan is 83% als prepop doorgebracht (70% als prepop in diapauze en 13% als prepop in metamorfose). Van de onderzochte individuen ontwaakten de meeste prepoppen rond eind april-begin mei, sommige eerder of later.

### Discussie

Binnen dit onderzoek lijken de voorgestelde alternatieve termen van primaire larvestadia en een secundair

larvestadium recht te doen aan de karakteristieken van de soort of het genus. Voornamelijk door de uniformering van het laatste larvestadium. Daarmee rijst gelijk de vraag of dezelfde terminologie toepasbaar is op andere soorten en genera. Zo zien we bijvoorbeeld dat *Anthophora plumipes* (Loonstra 2012) en *A. furcata* (Loonstra pers. obs.) beide pas gaan ontlasten wanneer de voedselvoorraad (vrijwel) volledig is geconsumeerd. Daarnaast zijn die laatste larvestadia kaal. Dan kun je je gaan afvragen of en hoe een dergelijke indeling passend is voor deze en andere soorten. Om die vraag te beantwoorden moet eerst van veel meer genera de larvale ontwikkeling in kaart gebracht worden.

Het onderzoek heeft duidelijk laten zien dat de tot op heden gebruikte terminologie binnen het prepopstadium om verheldering en nuancering vraagt. De voorgestelde termen zouden beter recht doen aan de twee verschillende fases binnen dit stadium zonder de bestaande sterk verankerde termen los te laten of verwarring te scheppen.

#### Dankwoord

Pieter van Breugel, Jan Smit, Hans Nieuwenhuijsen en Wijnand Heitmans worden hartelijk bedankt voor de waardevolle commentaren op dit artikel.

#### Summary

Material and methods are described that were used during a study to deliver insight in the development stages of eight species from the family Megachilidae. From five species data is presented. Remarkable corresponding characteristics of the larval stages and the prepupal stage are described and the terminology used to date is discussed. Alternative terminology and additions are given without discarding the existing terms.

#### Literatuur

- Loonstra, A.J., 2012. Het ondergrondse leven van de gewone sachembij, *Anthophora plumipes* (Hymenoptera, Apidae). - Entomologische berichten 72 (1-2): 66-76
- Michener, C.D., 1974. The Social Behavior of the Bees: A Comparative Study. - The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 404 p.
- Michener, C.D., 2000. The Bees of the world. - John Hopkins University Press, Baltimore, London, 913 p.
- Peeters, T.M.J., H. Nieuwenhuijsen, J. Smit, F. van der Meer, I.P. Raemakers, W.R.B. Heitmans, M. Kwak, A.J. Loonstra, J. de Rond, M. Roos & M. Reemer 2012. De Nederlandse bijen (Hymenoptera: Apidae s.l.). - Natuur van Nederland 11: 544 p.
- Torchio, P. F. 1989. Biology, immatures, and adaptive behavior of *Stelis montana*, a cleptoparasite of *Osmia* (Hymenoptera: Megachilidae). - Annals of the Entomological Society of America 82: 616-632.