



Jahresbericht EIP Projekt SETBie 2021 in Baden-Württemberg

Verfasserin: Birgit Gessler (birgit.gessler@uni-hohenheim.de)

Stand 21.12.2021

Das Projekt *Selektion und Etablierung Varroa toleranter Bienenvölker in Baden-Württemberg (SETBie)* konnte ein gutes, drittes Projektjahr 2021 abschließen. In dem Projekt SETBie arbeiten Imker und Wissenschaftler gemeinsam an der Zucht von Bienenvölkern, die die Varroa Milbe (*Varroa destructor*) in Bienenvölkern gezielt detektieren und die Vermehrung einschränken.

Die Varroa Milbe wird für das Sterben von Bienenvölkern mitverantwortlich gemacht. Sie schwächt die sich entwickelnde Biene und überträgt Viren und Bakterien. Zu viele Varroa Milben in einem Bienenvolk führen zu einem Zusammenbruch des Volks. Es gibt jedoch Bienenvölker, die die Milbenvermehrung unterdrücken. Diese Besonderheit wird SMR (suppressed mite reproduction/reduzierte Milbenreproduktion) genannt und kann durch unterschiedliche Eigenschaften oder Verhaltensmerkmale in einem Bienenvolk hervorgerufen werden. Eines der Merkmale, das zu einem geringeren Milbenbefall führt, ist die Varroa-sensitive Hygiene (VSH). Bei Vorliegen von VSH bemerken Arbeiterinnen Varroa Milben in verdeckelten Brutzellen des Bienenvolks und öffnen diese. Durch das nachfolgende Ausräumen der Bienenpuppe wird die Reproduktion der Milbe unterbrochen. Als Folge wird die exponentielle Vermehrung der Varroa Milbe reduziert und die Bienengesundheit erhöht. Chemische oder biotechnische Eingriffe des Imkers zur Reduzierung der Varroa könnten in der Folge vermindert werden.

In dem SETBie Projekt arbeiten 37 lokale Imker aus Baden-Württemberg mit verschiedenen Institutionen zusammen wie den Imkerverbänden (Verband der Buckfastimker Süd e.V., dem Landesverband Badischer Imker e.V. und dem Landesverband Württembergischer Imker e.V.), der Arista Stiftung sowie universitären Einrichtungen. Die Universität Hohenheim ist mit dem Fachgebiet Populationsgenomik bei Nutztieren sowie der Landesanstalt für Bienenkunde vertreten und die Universität Tübingen mit dem Zentrum für Quantitative Biologie (QBiC). Die Projektleitung obliegt Gerhard Kottek von der Landsiedlung Baden-Württemberg GmbH.

Die gezielte Zucht von Königinnen gehört zu den ersten praktischen SETBie bezogenen Arbeiten in jedem Projektjahr. Jeder Imker zog eine Reihe von Königinnen aus Bienenvölkern nach, die bereits das VSH Merkmal im voran gegangenen Jahr gezeigt haben bzw. aus neuen Völkern, die qualitativ hervorragende Zuchteigenschaften aufwiesen. 2021 wurde aufgrund der kühlen Witterung im Frühjahr gleich an zwei Wochenenden, Ende Mai und Mitte Juni, die gezüchteten Königinnen mit hochwertigen Drohnen durch eine künstliche Besamung in Leukershausen gepaart. Die Anzahl an besamten Königinnen war mit 397 auf vergleichbar hohem Niveau wie im Vorjahr (2020: 424 Königinnen; 2019: 311 Königinnen). Die Besamungen wurden wieder für drei verschiedene Subspezies (*Apis mellifera mellifera*, *A.m. carnica* sowie Buckfast) durchgeführt. Die Königinnen

fangen einige Tage nach der Besamung an, Eier zu legen. Die sich daraus neu entwickelnden Arbeiterinnen haben je zur Hälfte die genetischen Eigenschaften der besamten Königin und die des verwendeten Drohns. Wie sich diese genetische Kombination auf das Verhalten im Bienenvolk in Bezug auf die Varroamilbe auswirkt, wird mit gezielten Tests überprüft.

Gezielte Infektion der SETBie Bienenvölker mit der Varroa Milbe zur Überprüfung des Ausräumverhaltens

Die Bienenvölker werden gezielt mit je 180 Varroamilben infiziert, um das Verhalten der Arbeiterinnen gegenüber diesen Milben und deren Reproduktionserfolg erfassen zu können. In einem nicht auf geringen Reproduktionserfolg (SMR) selektierten Volk haben die meisten in der Brut befindlichen weiblichen Milben Nachkommen: Aus dem ersten Ei schlüpft ein männlicher Nachkomme, aus den weiteren nach und nach Tochtermilben (Abb.1).



Abbildung 1: Bienenpuppe mit einer Milbenfamilie, bestehend aus der Muttermilbe (braun- mittig unterhalb der Puppe), Tochtermilben in verschiedenen Entwicklungsstadien sowie dem männlichen Nachkommen (oberhalb der Puppe in der Mitte des Bildes). Bild: Birgit Gessler

222 Bienenvölker wurden im Jahr 2021 im Rahmen des SETBie Projekts Ende Juli auf dem Hofgut Tachenhausen bei Oberboihingen (Landwirtschaftlicher Lehr- und Versuchsbetrieb der Hochschule für Wirtschaft und Umwelt Nürtingen-Geislingen) hinsichtlich der Milbenvermehrung ausgewertet. Alle aktiven SETBie-Imker brachten ihre Bienenvölker zur Auswertung und prüften selbst Brutzellen (Abb. 2). Die Brutzellen wurden auf Milbenbefall hin untersucht und falls eine Milbe in der Zelle vorhanden war, wurden die Nachkommen dokumentiert. Guillaume Misslin (Arista Stiftung) unterstützte die SETBie Imker bei der Auswertung wieder mit Rat und Tat. Komplettiert wurde die dreitägige Auswertung von einer Reihe an Mitarbeitern und studentischen Hilfskräften der beiden Hohenheimer Institute.

Zur Identifizierung der Völker mit hohen Anteilen an Milben ohne Nachkommen (SMR) werden vor allem Puppen mit violetten Augen und älter betrachtet. VSH Völker räumen vermehrt die Zellen 5 Tage nach der Verdeckelung aus. Geschieht dies und die Milben werden dabei nicht getötet, können sie weitere Zelle befallen. Diese Milben könnten jedoch in Ihrer Reproduktionsfähigkeit gestört sein und somit in den weiteren Vermehrungszyklen weniger oder keine Eier mehr legen. Höhere Ausräumraten könnten somit indirekt zu einem höheren Anteil an Milben ohne Nachkommen führen. Jedoch gibt es hierfür auch andere Hypothesen und die zugrundeliegenden Mechanismen für SMR und VSH und der mögliche Zusammenhang zwischen den beiden Resistenzparametern sollten unbedingt durch weitere gezielte Versuche geklärt werden. Klar ist jedoch das sich über diese Methode Völker identifizieren lassen, bei denen die Milbenvermehrung unterdrückt wird und somit die Belastung für das Volk reduziert ist.



Abbildung 2: SETBie Imker bei der Milbenauswertung Ende Juli 2021 in Tachenhausen. Bild: Birgit Gessler

Im Jahr 2021 wiesen 20 Völker wiederum einen hohen Wert von > 76% nicht reproduzierenden Milben auf (Abb. 3), auch wenn der sehr hohe Wert von 2020 nicht ganz erreicht wurde. Jährliche Steigerungen dieser Werte sind aber auch nicht automatisch zu erwarten, da in die Zuchtentscheidung weitere Faktoren wie z.B. Herkunft und Art mitberücksichtigt werden und unter anderem auch jährlich neue Zuchtlinien getestet wurden. Ein weiterer grundsätzlicher biologischer Faktor ist die sehr hohe Rekombinationsrate von *Apis mellifera*. Bei der Rekombination wird das genetische Material in einer Zelle neu verteilt bzw. angeordnet. Dieses führt zu einer Durchmischung von mütterlichen und väterlichen chromosomalen Abschnitten und den damit verbundenen, möglichen Eigenschaften. Positiv zu bewerten ist bei der Auswertung, dass 2021 im Schnitt mehr Milben je Volk im Vergleich zum Vorjahr ausgewertet wurden, so dass fundiertere Aussagen getroffen werden konnten.

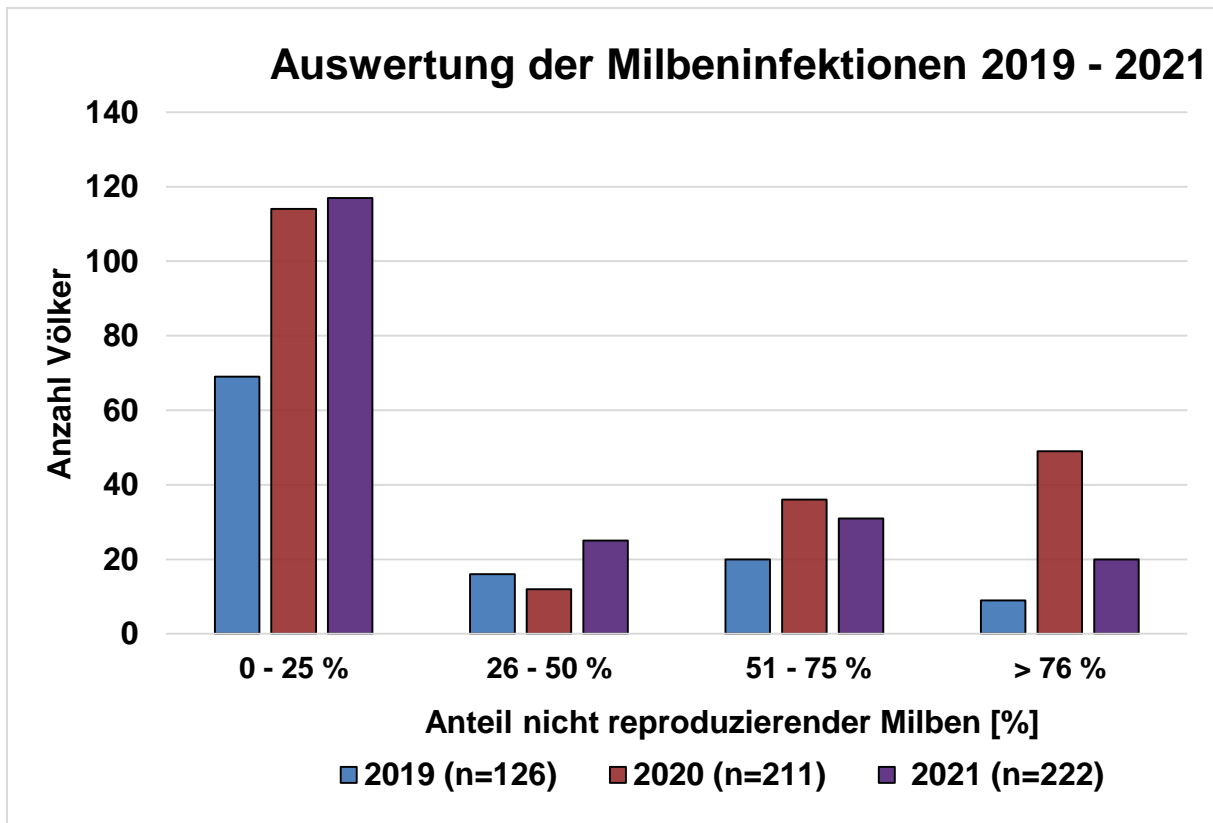


Abbildung 3: Ergebnisse SETBie Auswertungen von 2019-2021. In vielen Bienenvölkern konnte wieder ein hoher Anteil an Brutzellen mit nicht reproduzierenden Milben nachgewiesen werden. Bereits ab einem Anteil von 50% nicht reproduzierender Milben dürfte die Vermehrung der Milbenpopulation deutlich reduziert sein.

Bei 41 Völkern, die zuvor bei der Auswertung in Tachenhausen geprüft wurden, erfolgte im August 2021 eine weitere Auswertung an der Universität Hohenheim. Bei der zweiten Auswertung wurden die SETBie Völker gezielt auf das VSH Merkmal mittels der Direktinfektionsmethode geprüft. Bienen, die das VSH Merkmal vorweisen, räumen mit *Varroa* befallene Zellen aus und stoppen damit die Vermehrung der Milbe, da diese ihre Reproduktionsphase in der Zelle nicht beenden können. Bei der Direktinfektionsmethode wurden pro Volk Milben in 30 frisch verdeckelten Brutzellen direkt eingesetzt (Abb. 4). Weitere 30 Zellen wurden auf derselben Wabe als Kontrolle lediglich geöffnet und wieder verschlossen. Der prozentuale Anteil an ausgeräumten Zellen verglichen zu der Anzahl an infizierten Zellen ergibt einen Wert für das VSH Merkmal.

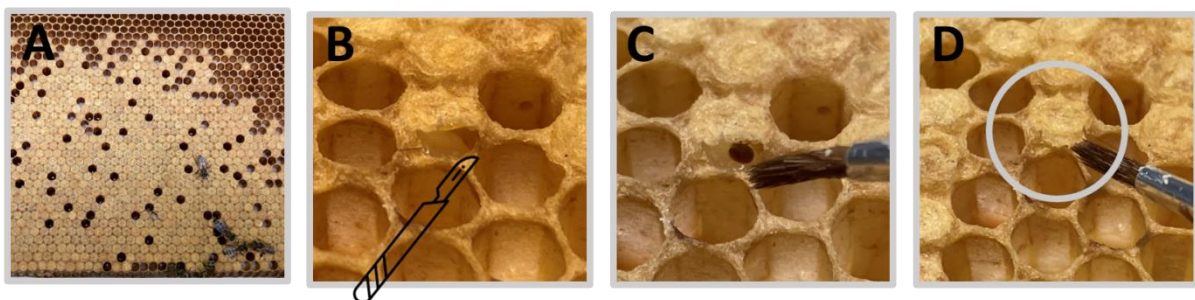


Abbildung 4: Die Methode der Milben-Direktinfektion in Bildern. A: Wabe mit verdeckelten Brutzellen; B: Eine frisch verdeckelte Brutzelle wird mit dem Skalpell an einer Seite geöffnet; C: Eine Varroamilbe wird gezielt in die Zelle geführt; D: die Zelle wird wieder geschlossen. Bilder: Lina Sprau

Auswertung VSH (Ausräumrate 2020-2021)

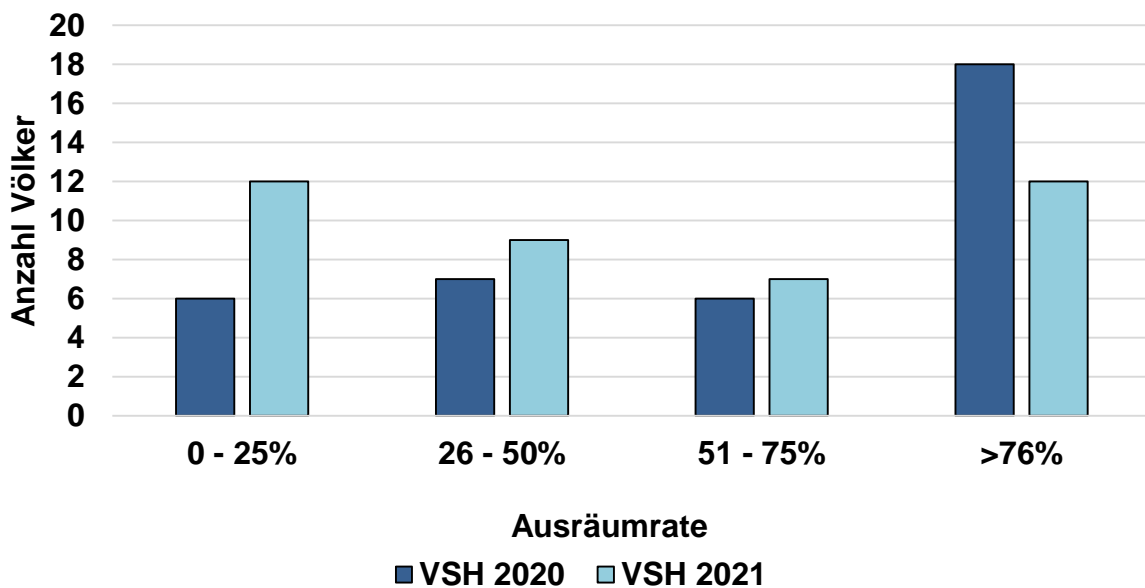


Abbildung 5: Ergebnisse der infizierten Zellen bei der Direktinfektion der SETBie Völker an der Universität Hohenheim (2020-2021) zur Bestimmung des VSH Merkmals. 2020: n= 37 untersuchte Völker; 2021= 40 untersuchte Völker.

12 der 40 untersuchten Völker wiesen dabei einen hohen VSH Wert bei der Direktinfektion auf (Abb. 5). Dabei ist zu beachten, dass bei der Auswahl der Völker für diese Direktinfektion nicht nur Völker mit einem zuvor ermittelten hohen SMR Wert untersucht wurden, sondern auch Völker, die (a) aufgrund des Pedigrees interessant waren und (b) Völker mit einem geringen SMR Wert als negative Kontrolle. Nach Untersuchungen von Lina Sprau besteht kein direkter Zusammenhang zwischen reproduzierenden und nicht reproduzierenden Milben in einer Brutzelle in Bezug auf das Ausräumverhalten durch die adulten Bienen (Sprau et al., 2021). Deshalb ist es wichtig, beide Selektionsmerkmale gezielt zu erfassen. Es ist positiv zu bewerten, dass einige Völker in dem Projekt sowohl bei SMR als auch bei VSH sehr gute Werte erreichten.

Erfreulich bei den Versuchen mit der Direktinfektion war, dass die Kontrollzellen, bei denen lediglich der Zelldeckel manipuliert wurde, im Jahr 2021 nicht mehr so stark ausgeräumt wurden wie im Vorjahr. Ein unspezifisches Ausräumen von nicht infizierten Brutzellen würde die Entwicklung und Leistung des Bienenvolkes schwächen. Das lässt den Rückschluss zu, dass die untersuchten Völker im Jahr 2021 spezifischer auf die infizierten Zellen reagierten. Ein sehr guter Fortschritt!

Schwankungen bei der Ausprägung des VSH Merkmals in den Nachzuchten

An einem Vitalitätsstandort eines Imkers ergab sich bei der Durchführung mittels Direktinfektion eine unterschiedlich starke Ausprägung der Ausräumraten und damit des VSH Merkmals. An dem Vitalitätsstandort wurden Bienenvölker aus dem Projekt in üblichen Magazinbeuten auf ihre Praxistauglichkeit hin überprüft. Es handelte sich hierbei um Nachzuchten, die an Belegstellen begattet waren und deren Elterngeneration sehr gute Werte bei der Auswertung in Tachenhausen

aufwiesen. Bei der Ermittlung der Ausräumrate mittels Direktinfektion reichte die Spannweite von 10% bis 65%.

In einem weiteren Versuch wurden Geschwisterköniginnen an der Universität Hohenheim miteinander verglichen. Hierbei handelt es sich um Königinnen, die aus einer Zuchtlinie mit einem hohen VSH Wert stammten und künstlich mit gutem Drohnenmaterial besamt wurden. Bei diesen Völkern wurde bei der mehrfach durchgeführten Direktinfektion eine Ausprägung von 30-80% VSH für die verschiedenen Völker ermittelt, was die o.a. großen Schwankungen des VSH-Merkmals bei den Nachzuchten bestätigt.

Daraus ergibt sich, dass größere Anzahlen an Wiederholungen in den Zuchtkombinationen empfehlenswert bzw. notwendig sind. Das heißt, von einer Königin sollten mehrere Geschwisterköniginnen gezogen werden, die dann mit den Drohnen aus dem gleichen Volk besamt werden. Diese Methode würde die Wahrscheinlichkeit erhöhen, Königinnen mit sehr guten VSH Werten in der nächsten Generation zu erhalten.

Die ersten genetischen Daten des SETBie Projekts sind da

Innovativ ist der methodische Ansatz der genetischen Analysen in dem SETBie Projekt. Es werden von Völkern, die eine starke Ausprägung des VSH Merkmals zeigen sowie von Kontrollvölkern ohne VSH-Ausprägung Bienenarbeiterinnen mit definiertem Alter entnommen und parallel drei unterschiedliche Analysen durchgeführt: Zum Einem wird das Genom dieser Bienen sequenziert, welches durch die DNS im Zellkern repräsentiert wird. Der zweite Sequenzieransatz betrifft das Transkriptom, wobei die Aktivität genetischer Elemente in den Zellen analysiert wird. Die dritte Sequenzieransatz fokussiert das Methylom, da methylierte/ codierte Bereiche in der DNS sich auf die Genaktivität auswirken können. Methylierte Bereiche können Umweltbedingt beeinflusst werden, sind aber auch in der Vererbung relevant.

Für diese Analysen wurden von altersstandardisierten Arbeiterinnen aus 46 Bienenvölkern die DNA und RNA aufgereinigt und bei der Firma CeGaT GmbH in Tübingen sequenziert. Das Zentrum für Quantitative Biologie an der Universität Tübingen führte die aufwendigen Qualitätskontrollen der drei unterschiedlichen Sequenzierungen durch und konnte bereits mit den ersten, sehr umfangreichen bioinformatischen Analysen der vielen Millionen Einzeldaten beginnen. Ziel ist es, VSH relevante und stabil vererbare molekulare Marker durch die vergleichende Analyse von Bienenvölkern mit hohem und niedrigem VSH Merkmal zu detektieren.

Bei den Analysen der Völker der verschiedenen Subspezies (*A.m.mellifera*, *A.m.carnica* und Buckfast) sind die hohen Qualitätskriterien für die Anforderungen an das Probenmaterial und die Sequenzierungen für die o.a. genetischen Analysen erfüllt worden. Dieses ist die Grundlage für eine aussagekräftige Auswertung der Daten.

Genetische Elemente wie z.B. Gene werden in einem Organismus unterschiedlich stark exprimiert, d.h. sie können zu unterschiedlichen Zeitpunkten, aber auch in unterschiedlichen Geweben zeitlich aktiv sein. Diese komplexen Muster der Genexpression und Genaktivierung können unter anderem von dem Zeitpunkt der Entwicklung der Biene abhängig sein aber auch durch die genetische Herkunft

beeinflusst werden. In diesem Projekt werden Bienenvölker, bei denen das VSH Merkmal stark ausgeprägt ist mit Völkern ohne diese Ausprägung (Kontrollen) verglichen. Es wird nach signifikant unterschiedlich exprimierten Genen in den einzelnen Subspezies gesucht. In den weiterführenden Analysen werden diese Gene auf ihre Funktion hin betrachtet und zwischen den einzelnen Subspezies miteinander verglichen. Gene von Interesse werden in weiterführenden Laboranalysen mit nicht sequenziertem Probenmaterial abgeglichen.

Bei der Genomsequenzierung werden die genetischen Varianten in der DNA analysiert. Ein Beispiel hierfür sind SNPs (single nucleotide polymorphisms)- sogenannte einzelne Nukleotid Veränderungen. Dabei sind an exakt der gleichen Position in verschiedenen Genomen unterschiedliche Basen zu finden. Diese Unterschiede sind von besonderem Interesse, wenn sie bei den Völkern mit dem VSH Merkmal verglichen zu den Kontrollvölkern auftreten. Erste Analysen zeigen hier Unterschiede zwischen den Völkern von Interesse. In weiterführenden Analysen werden die vielen vorhandenen SNPs auf ihre Zuverlässigkeit im Zusammenhang mit dem VSH Merkmal geprüft.

Das letzte Projektjahr wird mit den Detailanalysen der Genom- und Transkriptomsequenzierung und dem Vergleich der Ergebnisse mit weiteren Proben sowie die Analyse der Methylomsequenzierung ausgefüllt sein. Diese umfassenden Datenmengen ermöglichen den Mitarbeitern des QBIC Tübingen sowie dem Fachgebiet für Populationsgenomik mit Martin Hasselmann und Birgit Gessler, genetische Muster in den Völkern zu identifizieren, die mit der Eigenschaft VSH assoziiert sind. Diese möglichen, relevanten genetischen Muster sollen nachfolgend auf ein reduziertes Set von stabil vererbbar molekulare Marker eingrenzt werden. Unsere Erkenntnisse zum Einfluss der Rekombination auf die Merkmalsverteilung erfordert jedoch ein längerfristiges Monitoring der Genetik in den Zuchtlinien, für das die verbleibende Projektlaufzeit sicherlich nicht ausreicht.

Weitergekommen aber noch nicht am Ende angelangt

Im Rahmen des SETBie Projekts wurden 2021 viele erfolgreiche Arbeiten zur Zucht von Bienenvölkern mit dem VSH Merkmal gemeinsam durchgeführt. Dieses ist vor allem den aktiven Imkern des SETBie Projekts zu verdanken.

2021 konnten die Imker des Projekts die Methode zur Direktinfektion in Rahmen eines Kurses erlernen. Diese Schulung der Direktinfektion wird im Jahr 2022 nicht nur den SETBie Imkern nochmals angeboten, sondern wird auch für weitere interessierte Imker offen sein. Die Veranstaltung wird von Seiten der Landesanstalt für Bienenkunde durchgeführt.

Zudem wurden die Arbeiten des Projekts in verschiedenen Foren Imkern und anderen Interessierten 2021 nähergebracht, u.a. mit Vorträgen, Veröffentlichungen in Imkerzeitschriften und Workshops. Durch diese und andere Aktionen sind Anfang des Jahres weitere interessierte Beteiligte zu dem Projekt hinzugekommen und waren mit eigenen Völkern als Züchter oder als freiwillige Helfer:innen bei den Auswertungen tätig.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass 2021 viele neue Erkenntnisse im Bereich der Zucht und der einzelnen Selektionsmerkmale gebracht haben. Eine Reihe an Bienenvölkern mit einer hohen Ausprägung an VSH wurden erfolgreich identifiziert und werden im Jahr 2022 weiter gezüchtet. 2022

wird neben den jährlichen Zucharbeiten und Auswertungen vor allem neue Erkenntnisse aus den molekulargenetischen Arbeiten bereithalten.

Hervorzuheben ist die gute und konstruktive Zusammenarbeit und das hohe Engagement aller Projektpartner der OPG SETBie. Diese Gesamtheit wird auch das nächste und letzte Projektjahr in 2022 mit Zuversicht und einem motivierten Team tragen.

Kontakte:

Birgit Gessler (Birgit.Gessler@uni-hohenheim.de)



UNIVERSITÄT
HOHENHEIM

Projektkoordination:

Gerhard Kottek (gerhard.kottek@landsiedlung.de)

Landsiedlung



Baden-Württemberg GmbH

Homepage mit Übersicht aller Akteure:

<https://setbie.uni-hohenheim.de/>

Veröffentlichungen

Sprau, L., Hasselmann, M. & Rosenkranz, P.; Reproduction of *Varroa destructor* does not elicit varroa sensitive hygiene (VSH) or recapping behaviour in honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Apidologie* (2021). <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00886-2>

Gessler, Birgit; SETBie: Innovative Kombination von klassischer Züchtung, genetischer Analyse und Evaluation in der Praxis; *Bienenpflege*; 05/2021, Seite 260-262.

Gessler, Birgit; Varroatolerante Bienen durch Praxis und Wissenschaft. *Deutsches Bienenjournal* (2021). 7/2021, Seite 20-21.

Gessler, Birgit; Gemeinsam und innovativ gegen die Varroamilbe. *Ökologie und Landbau* 03/2021; Seite 36.

Birgit Gessler und Gerhard Kottek; EIP-Projekt: SETBie in Baden-Württemberg. *Landentwicklung Aktuell*. Ausgabe 2021, Seite 77-78.

Gessler, Birgit (2021) Praxisblatt; Projekt: SETBie in Baden-Württemberg, einsehbar unter <https://foerderung.landwirtschaft-bw.de/pb/,Lde/Startseite/Foerderungswegweiser/EIP-Tier?QUERYSTRING=setbie>

Gessler, Birgit (2021) Selektion und Etablierung Varroa toleranter Bienenvölker in Baden-Württemberg; Poster für den Fünften OG- und IDL-Workshop am 18. und 19. August 2021; Teilnehmer Gerhard Kottek; https://www.netzwerk-laendlicher-raum.de/fileadmin/Redaktion/Seiten/Service/Veranstaltungen/2021/5._OG-IDL-Workshop/Bildung/Kottek_SETBIE_-_Selektion_und_Etablierung_varroatoleranter_Bienen_in_BW.pdf

Förderung durch:



EUROPÄISCHE UNION

Europäischer Landwirtschaftsfonds für
die Entwicklung des ländlichen Raums - ELER
Hier investiert Europa in die ländlichen Gebiete



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR LÄNDLICHEN RAUM
UND VERBRAUCHERSCHUTZ

MINISTERIUM FÜR UMWELT,
KLIMA UND ENERGIEWIRTSCHAFT

Logo des Projekts:



SETBie
in Baden-Württemberg