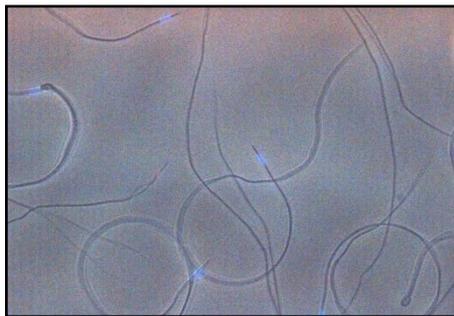
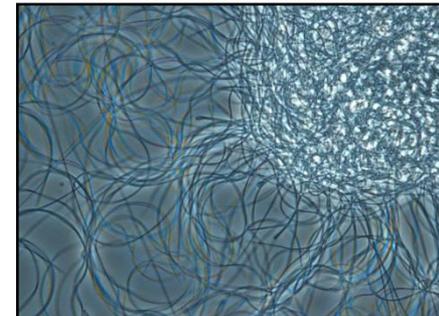


Drohnersperma, künstliche Besamung und Honigbienen- Samenbanken – Hintergrund und Anwendungen

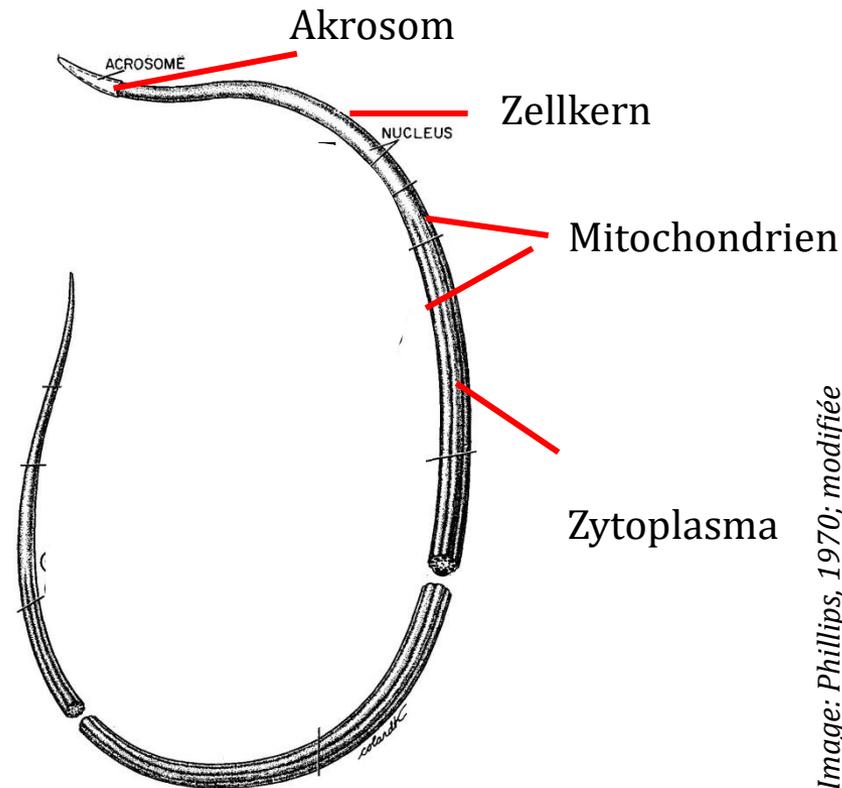


LIB/Wegener



- Gliederung des Vortrags:
 - Teil 1: Drohnensperma
 - Biologie von Drohnenspermien
 - Produktion hochwertigen Spermas für die Besamung
 - Flüssiglagerung, Mischtechnik, Transport
 - Teil 2: Künstliche Besamung
 - Anatomie und Physiologie
 - Arbeitsschritte
 - Vergleich der Leistungsfähigkeit besamter/natürlich begatteter Königinnen
 - Teil 3: Aufbau einer Kryobank für Honigbienen-Ressourcen
 - Teil 4: Ausblick auf andere Methoden der Paarungskontrolle

Das Spermium von *Apis mellifera* – eine ganz besondere Zelle



Das Spermium von *Apis mellifera* – eine ganz besondere Zelle

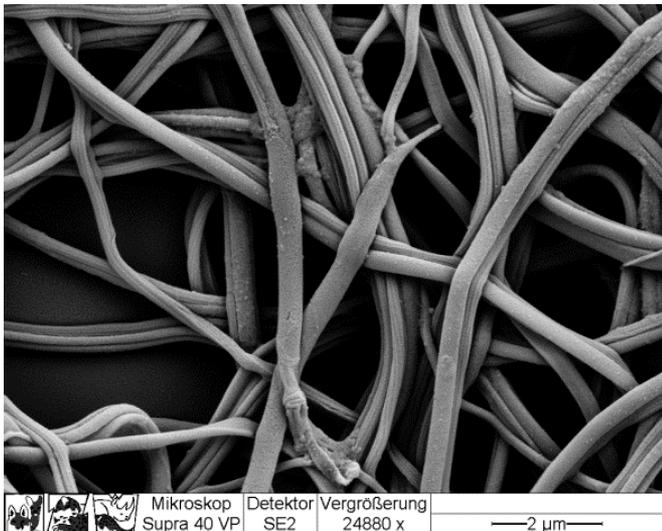


Image: Wegener/IZW

Elektronenmikroskopische
Aufnahme von Bienenspermien

- Länge: ungefähr 200 µm (0,2mm)!
- Stark abgewandelte Mitochondrien (Stützfunktion?)

Chemische „Vorlieben“:

- Optimale Osmolarität: >400 mOsm (entspricht ca. 12 g/L Kochsalz)
- Inaktiv bei höherer Osmolarität
- Niedrige Osmolarität (<350 mOsm) meist tödlich
- In der Lage, einfache Zucker (Glukose, Fruktose) zu veratmen

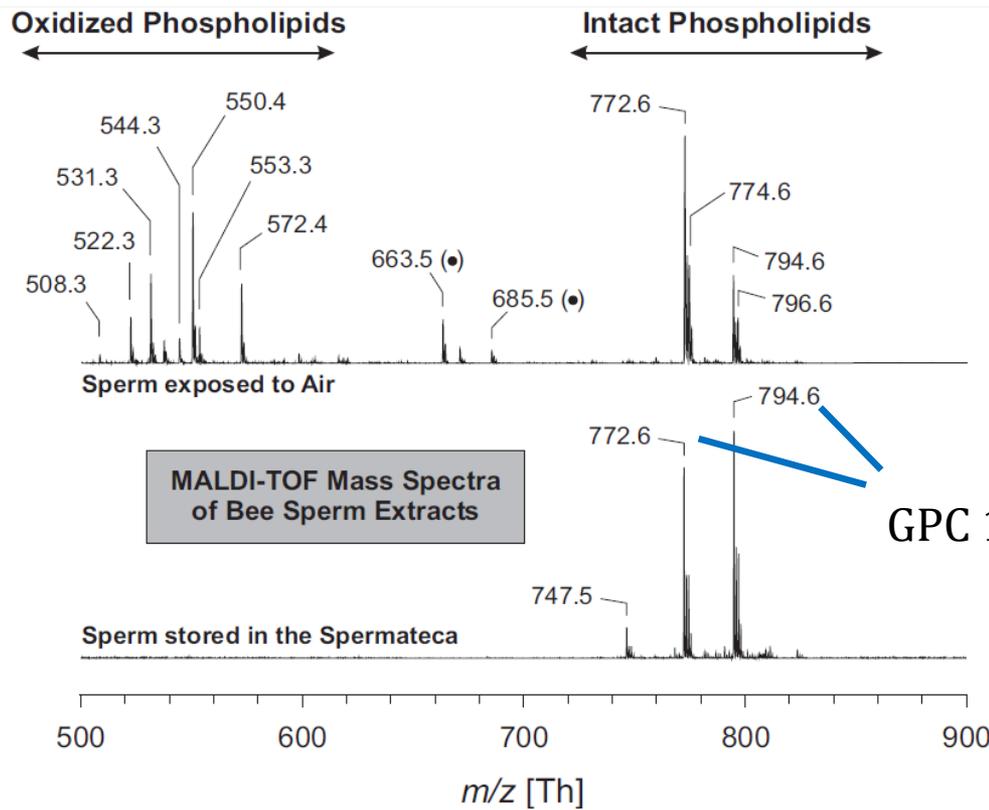
Das Spermium von *Apis mellifera* – eine ganz besondere Zelle



Video: Wegener/LIB

- Unter dem Mikroskop erscheinen Drohnenspermien als „rotierende Kreise“

Das Spermium von *Apis mellifera* – eine ganz besondere Zelle



- Lebensdauer bei Raumtemperatur meist >14 Tage!
- Gründe:
 - Antioxidantien in Seminalplasma und Spermatheka-Flüssigkeit
 - Herunterfahren des Stoffwechsels in Abwesenheit von Sauerstoff
 - Außergewöhnliche Zusammensetzung der Zellmembran!

Chromatogramm der Lipide aus Bienenspermien

Das Spermium von *Apis mellifera* – eine ganz besondere Zelle

- Soziales Insekt, soziale Spermien....

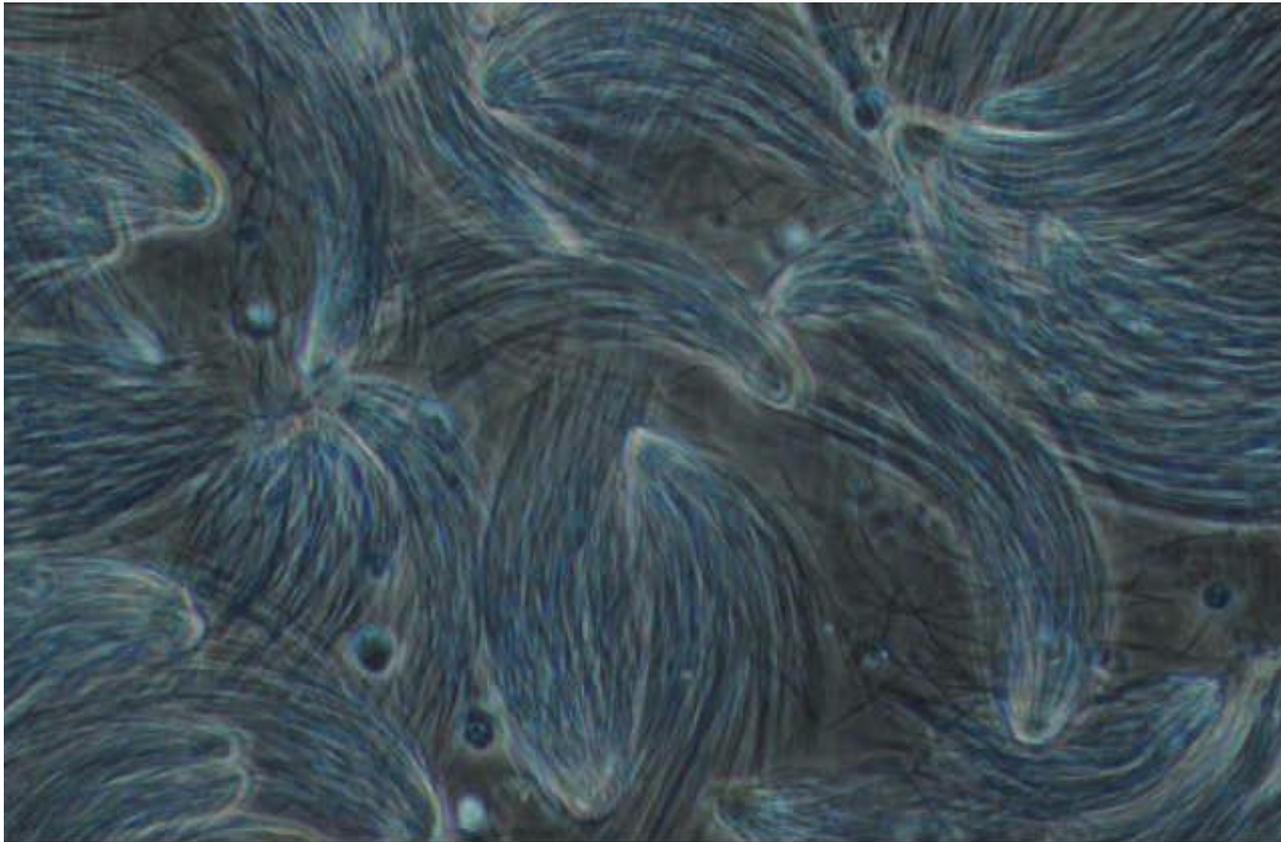


- Ca. 7 Mio. Zellen/ μ L!

Video: Wegener/LIB

Noch „besonderer“: Ameisen-Spermien

- Soziales Insekt, soziale Spermien....



- Weltmeister in der Disziplin „Sperma-Haltbarkeit“

Vidéo: Wegener/LIB

Erzeugung von hochwertigem Sperma für die künstliche Besamung

- Etappe 1: Drohnenaufzucht

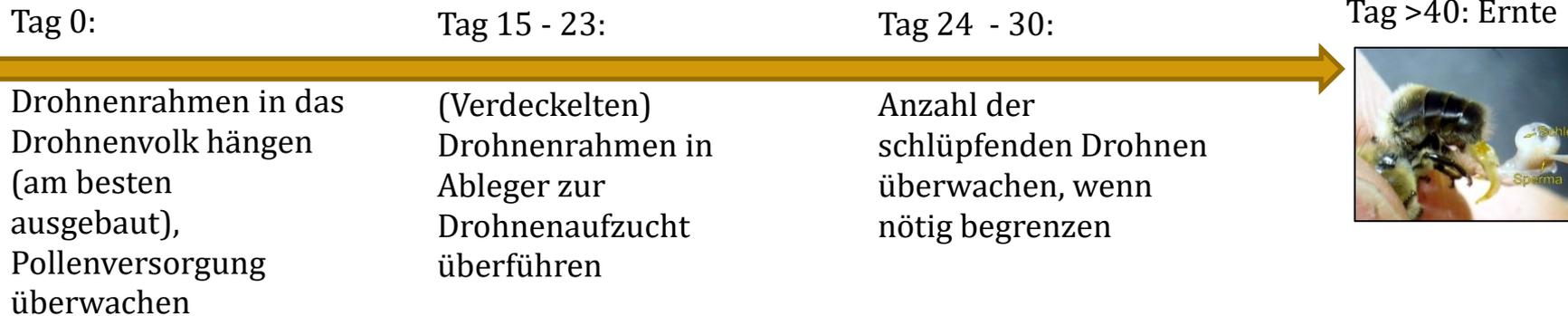


Photo: Wegener/LIB

Erzeugung von hochwertigem Sperma für die künstliche Besamung

- Aufzuchtbedingungen der Drohnen:
 - Vor der Verdeckelung genügen die Bedingungen , die in einem normalen Wirtschaftsvolk bei guter Pollenversorgung herrschen.
 - Die Spermienbildung geschieht im frühen Puppenstadium, hängt aber von der Ernährung im Larvalstadium ab.
 - Nach Verdeckelung, Aufzucht in einem speziellen „Drohnenableger“:

- Der Drohnenableger (LIB-Methode)

- 2 Waben Futter/Pollen
- 2 verdeckelte Brutwaben
- Ca. 1 kg Bienen
- ½ - 1 Drohnenrahmen
- Gekäfigte, unbegattete Weisel
- Stetiger (schwacher) Futterfluss



Photo: Wegener/LIB

Erzeugung von hochwertigem Sperma für die künstliche Besamung

- Drohnen einsperren oder frei fliegen lassen?

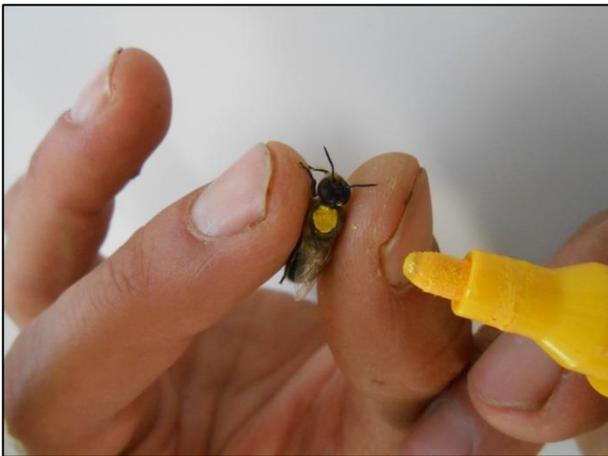


Photo: Wegener/LIB



Photo: Wegener/LIB

- Unsere Methode: Haltung über Absperrgitter



LIB/Wegener

- Im Schatten
- Große Gitterfläche (Verstopfungsgefahr!)
- Von Zeit zu Zeit tote Drohnen entfernen (=Boden leeren)

Erzeugung von hochwertigem Sperma für die künstliche Besamung

- Einfangen der Drohnen



Photos: Wegener/LIB



- Um Verluste bei der Entnahme zu vermeiden: die „Drohnen-Tankstelle“ (Entwicklung Marion Schröder)

Erzeugung von hochwertigem Sperma für die künstliche Besamung

- Die Sperma-Abnahme:

Photos: Wegener/LIB



Erzeugung von hochwertigem Sperma für die künstliche Besamung

- Wo ist Sperma, wo ist Schleim?

Photos: Wegener/LIB

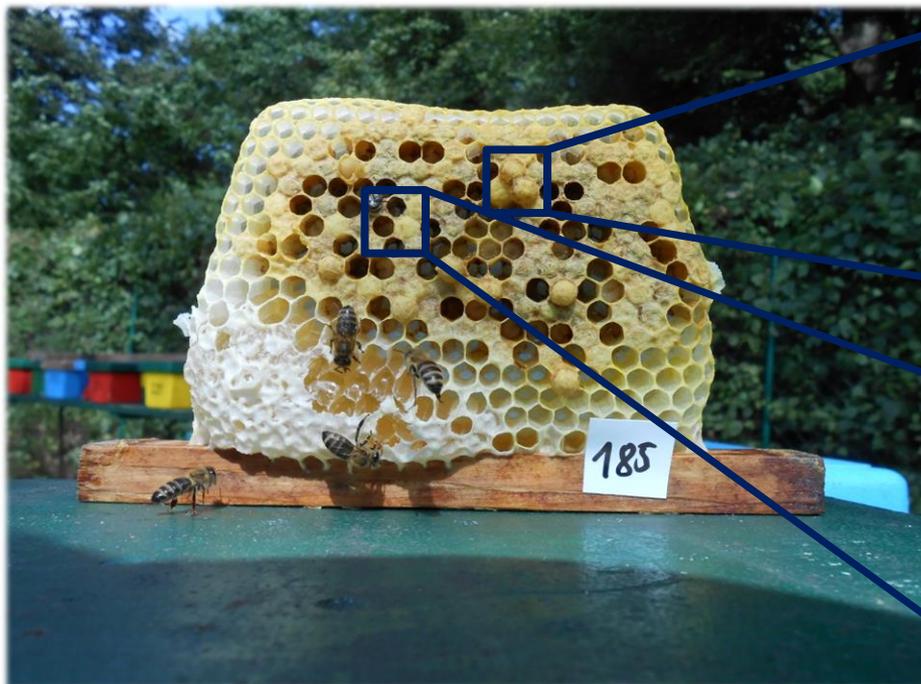


- Tipps für die Sperma-
Abnahme:
 - Drohnen warm halten
(Heizung, Brutschrank,
Imkerbauch)
 - Die Technik in Funktion
des Alters der Drohnen
anpassen (die Alten
sind motivierter)
 - Die „pneumatische
Natur“ des Drohns
verstehen...

*Schematische Darstellung der
Luftsäcke einer Arbeitsbiene*

Lagerung, Homogenisation, Transport von Drohnensperma

- Qualitätstests
 - Bester Indikator: Brutbild



Photos: Wegener/LIB



Nicht voll
fruchtbar



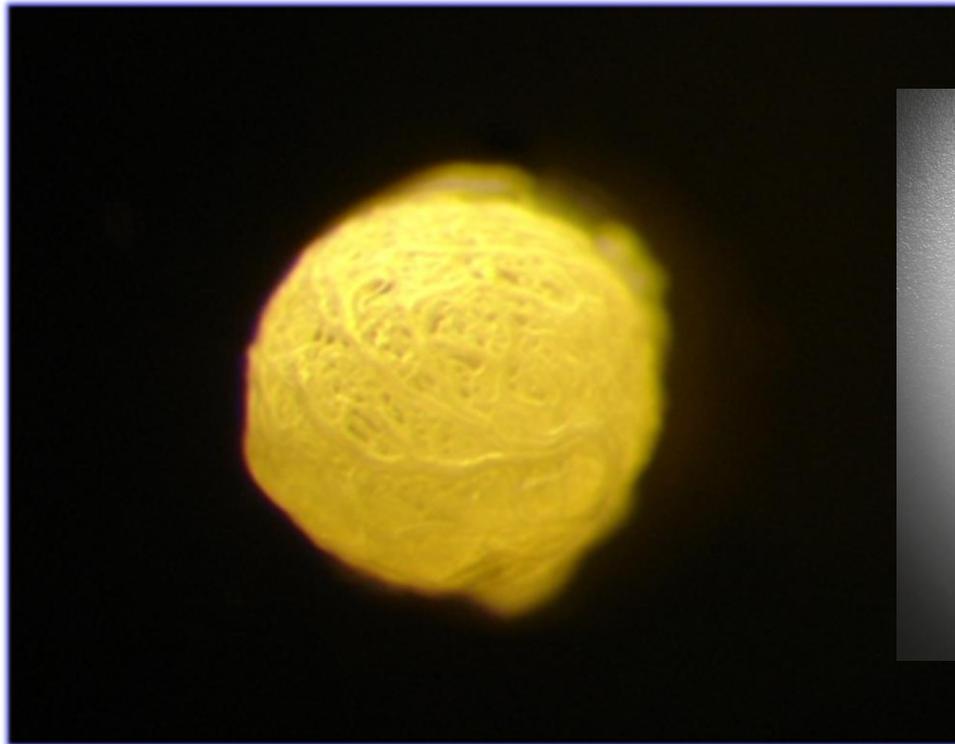
Voll fruchtbar

Lagerung, Homogenisation, Transport von Drohnensperma

- Qualitätstests

- Weitere wichtige Kenngröße: Spermathekafüllung (3,5 Mio. minimum)

Photos: Wegener/LIB



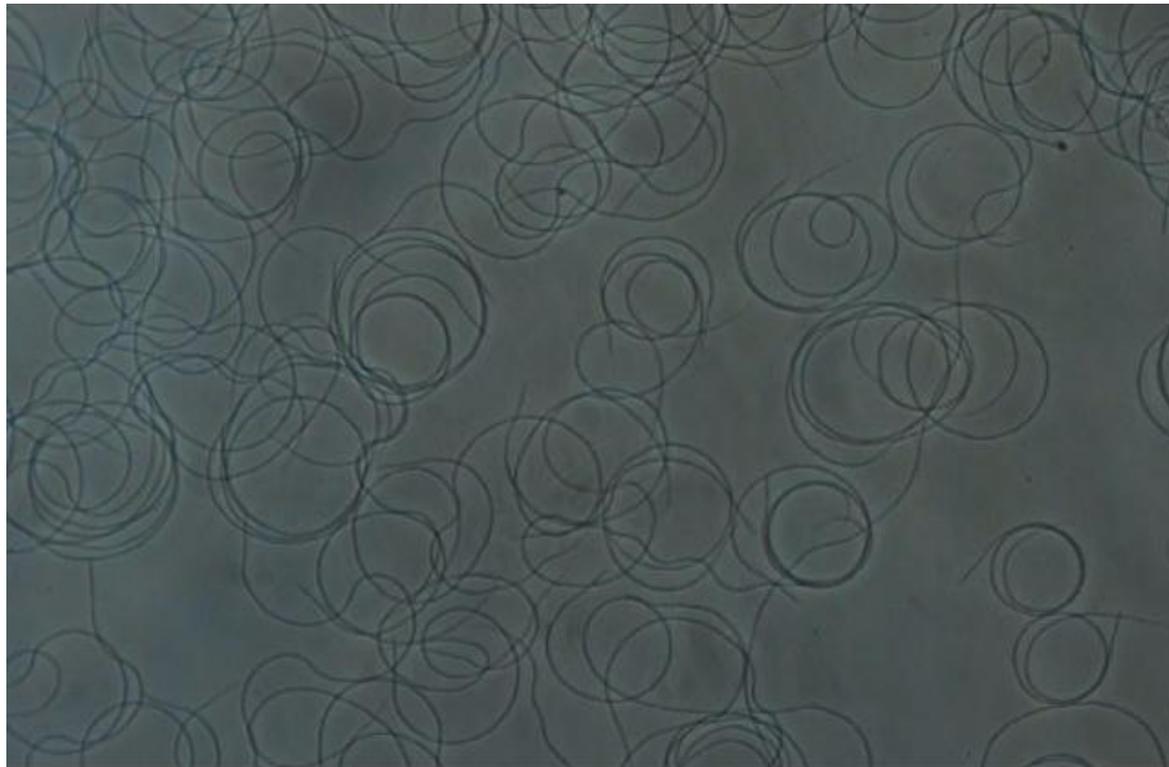
Spermatheka



Zählkammer

Lagerung, Homogenisation, Transport von Drohnensperma

- Weiterer Qualitätstest: Motilität

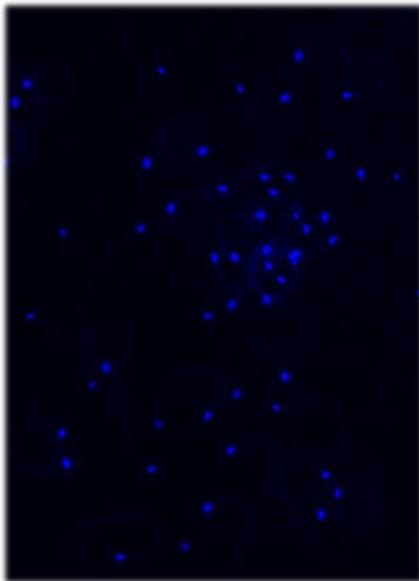


- Erklärt ca. 50% der Schwankungen in der Spermatheka-Füllung

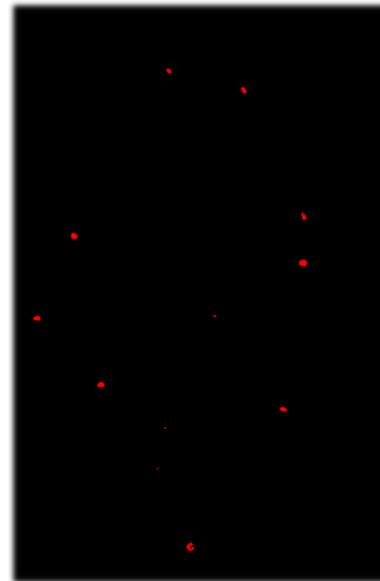
Lagerung, Homogenisation, Transport von Drohnensperma

- Weiterer Qualitätstest: tot/lebend-Färbung

Photos: Wegener/LIB



Farbstoff 1: Hoechst33342
(färbt ALLE Zellkerne)



Farbstoff 2: PI
(färbt Kerne TOTE Zellen)

Lagerung, Homogenisation, Transport von Drohnensperma

- Ein Wort über Sperma-Homogenisation
 - Um die Qualität einer mütterlichen Abstammung klarer Erkennen zu können (Prüftiere erhalten Sperma aus dem gleichen „Mix“)
 - Um Sperma zu waschen, z.B. zur Entfernung von Gefrierschutzmittel

Homogenisation nach der „LIB-Methode“:

Photos: Wegener/LIB



mischen



zentrifugieren



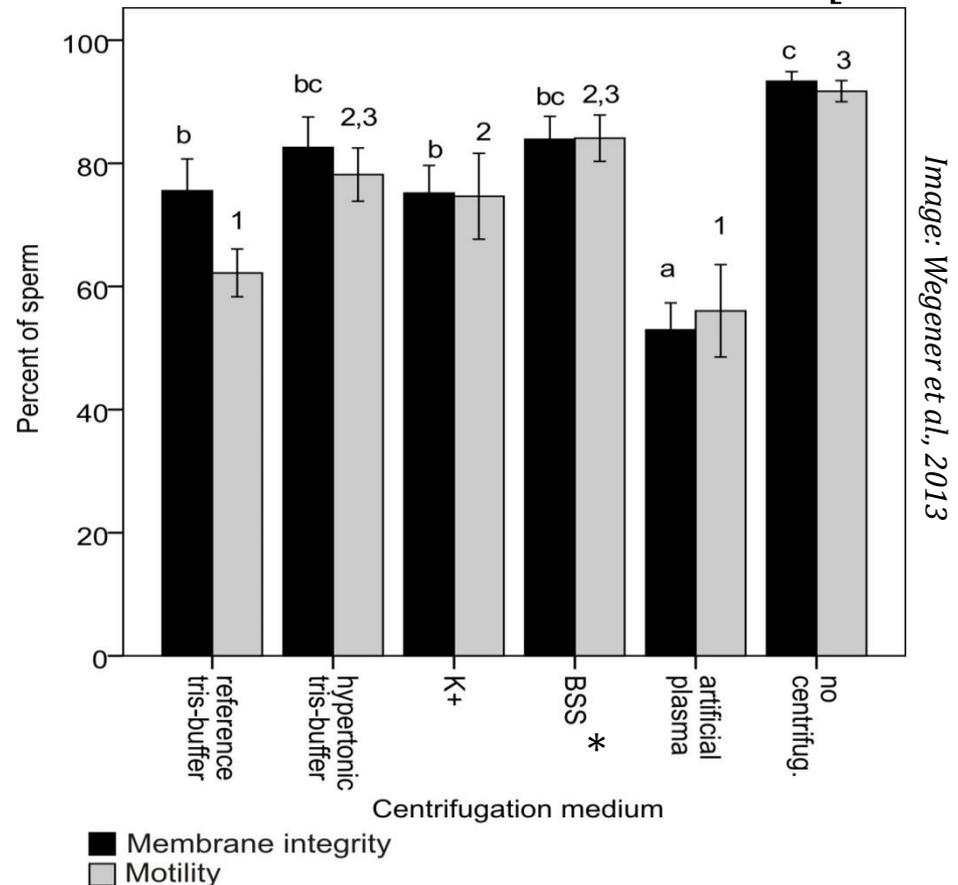
In Besamungsspritze aufnehmen

Ein Wort über Verdünner

- Einfluss verschiedener Sperma-Verdünner auf Überleben und Motilität nach Zentrifugation...

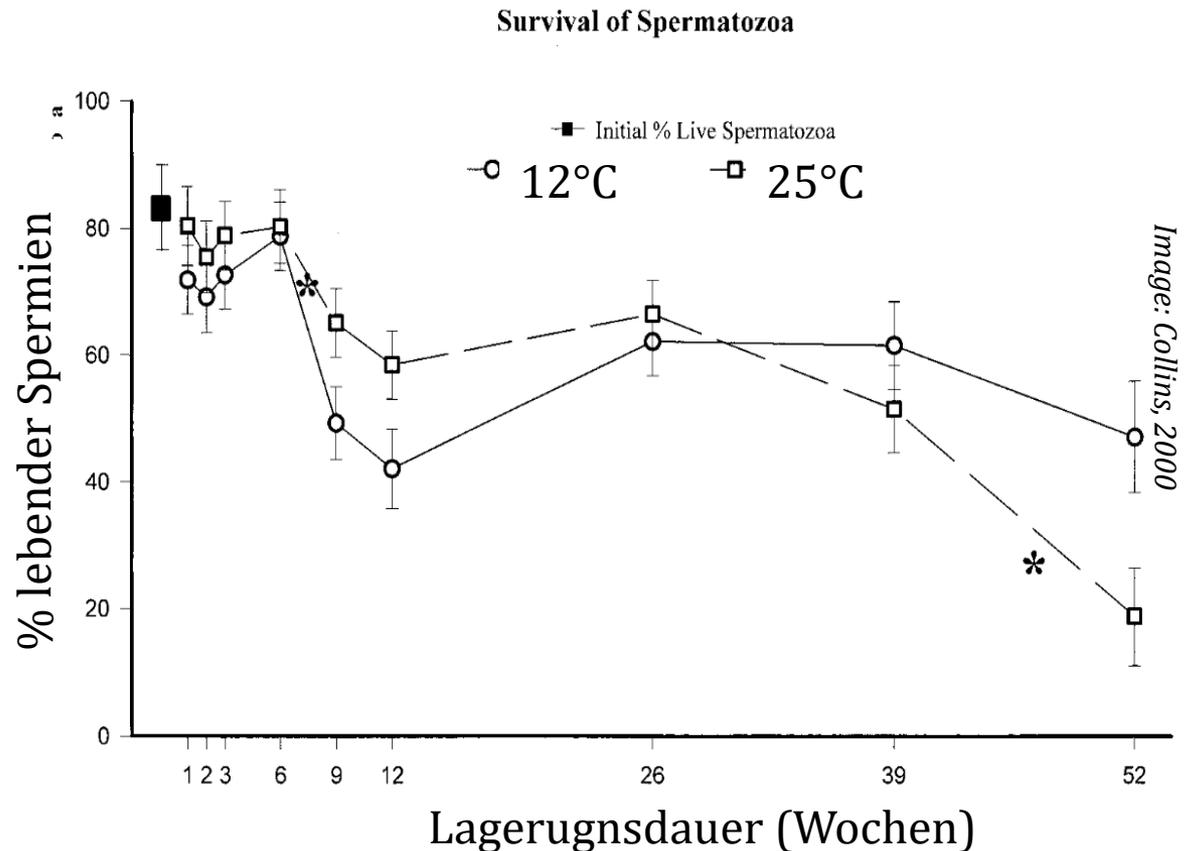
(*BSS: „Bee Sperm Solution“, vertrieben durch Fa. AMP-Lab GmbH)

Osmolarität: 293 645 410 441 335 - [mOsm]



Langzeitüberleben nach Flüssiglagerung:

- 13-18°C, im Dunkeln
- Bis 3 Wochen kaum Qualitätsverluste
- Darüber hinaus variable Ergebnisse



Verpackungssysteme für Drohnensperma:



„Winkler“-Container:

- Dicht und haltbar
- Teuer, funktioniert nur mit Winkler-Spritze

Photos: Wegener/LIB



Vaseline:

- In kleinen Portionen im Kühlschrank lagern
- Billig und dicht
- Etwas schwieriger in der Benutzung



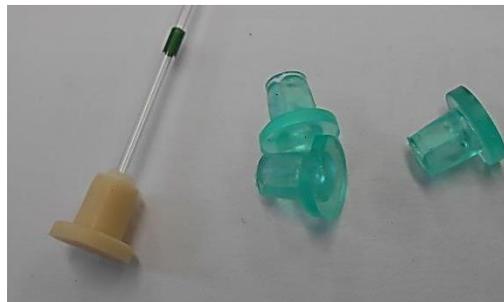
Verpackungssysteme für Drohnensperma:



Photos: Wegener/LIB

Pailletten aus Plastik (250 μ L)

- Einfacher Verschluss mit Glaskügelchen
- Billig und unzerbrechlich
- Großes Volumen (verwendbar ab ca. 40 μ L)
- Dicht, mit verschiedenen Spritzen kombinierbar



Kautschuk-Hütchen:

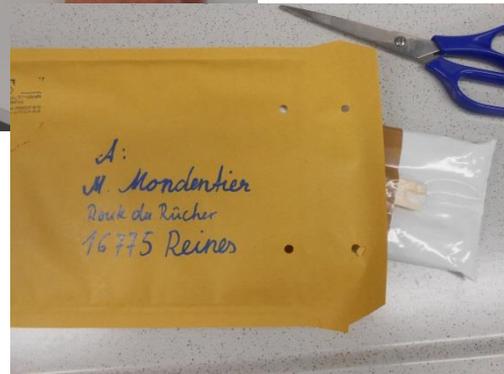
- Leicht zu benutzen
- billig
- Nicht sehr dicht

Postversand

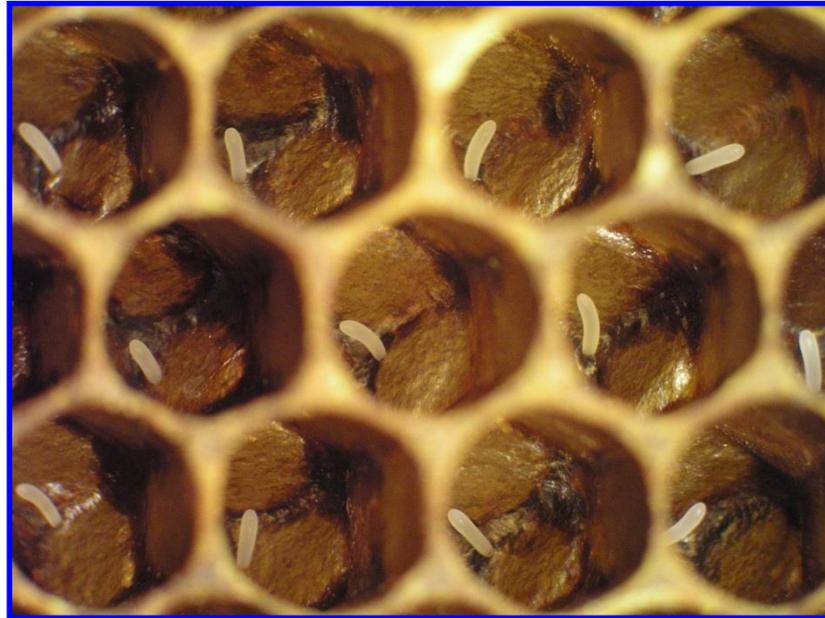
- Kapillare in sterile Alu-Folie wickeln, auf Hollättchen legen

- Mit Frischhaltefolie fixieren und zusätzlich abdichten

- Auf vortemperierten Kühlakku (12-15°C) binden, im Briefumschlag versenden.



Teil 2: künstliche Besamung



Warum ist künstliche Besamung gerade bei der Bienenzucht wichtig?



Foto: LIB, E. Musin

Das natürliche Paarungsverhalten ist
schwer zu kontrollieren!

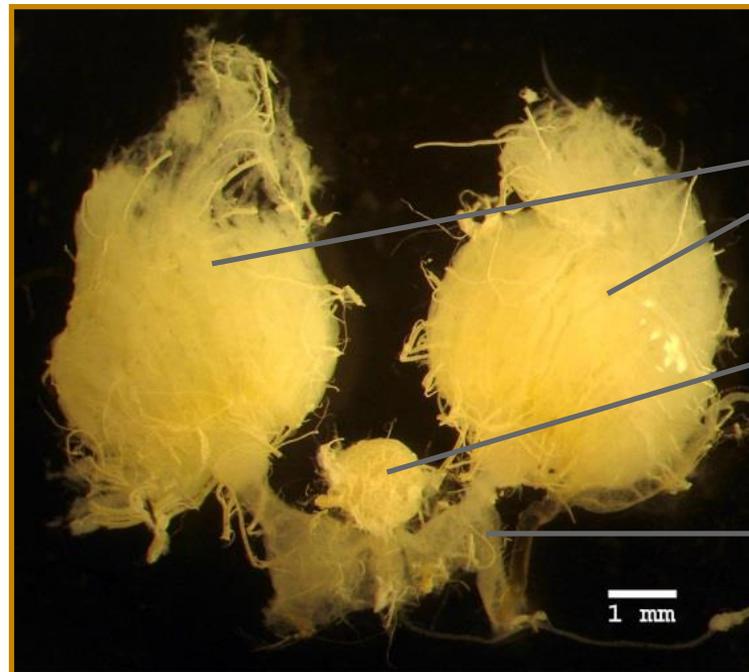
Biologische Voraussetzungen: Anatomie der Königin

O: Ovarien
V.v.: Scheidenklappe
O.v. Scheidenöffnung

S: Stachel
Spt: Spermatheka

Biologische Voraussetzungen: Anatomie der Königin

Abbildung: Wegener



Ovarien

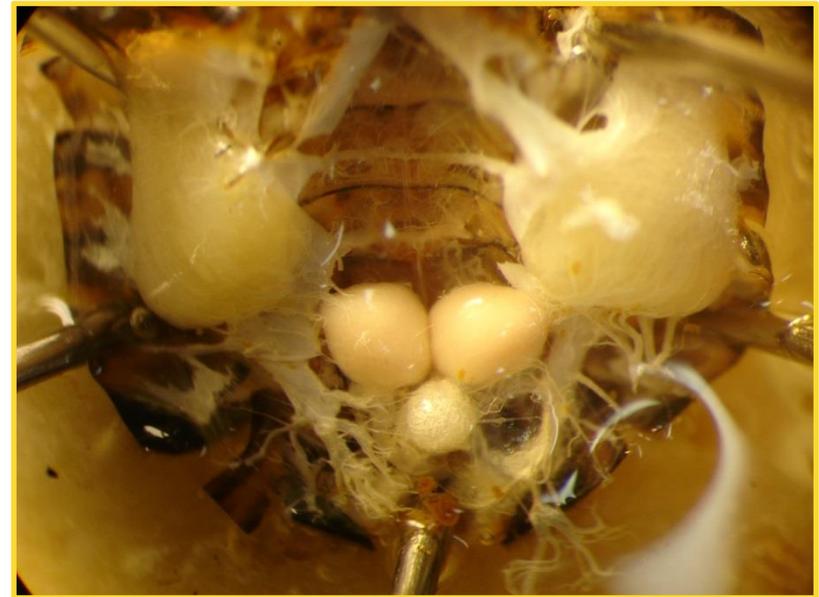
Spermatheka

Eileiter

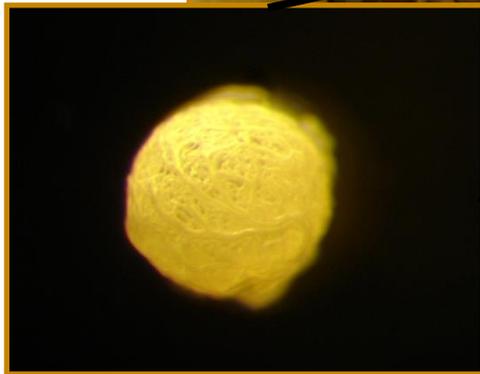
Biologische Voraussetzungen: Anatomie der Königin



Ältere Königin



Frisch besamt: Sperma in
Eileitern
(95% des Spermas wird wieder
ausgeschieden!)



LIB/Wegener

Biologische Voraussetzungen: Besamungsvorgang

- Die Brunftzeit der Königin setzt natürlicher Weise ca. 5-10 Tage nach dem Schlupf ein. Begattungsfähig (=besamungsfähig) bleibt die Königin etwa 2-3 Wochen.
- Während des Begattungsfluges produzieren die Flugmuskeln CO₂. Das ist wichtig, um die Eibildung anzuregen (ohne CO₂ stark verzögerte oder keine Eibildung)
- Der größte Teil des Spermas (ca. 95%) wird nach der Begattung wieder ausgeschieden
- Eine gut begattete Königin lagert ca. 4 Millionen Spermien in ihrer Spermatheka

Biologische Voraussetzungen: Begattungsorgan des Drohns

C: Hörnchen
De: Spritzgang

Sp: Sperma
M: Schleim

Biologische Voraussetzungen: Begattungsorgan des Drohns



Abbildung: Wegener

Sperma

Schleim

Biologische Voraussetzungen: Begattungsorgan des Drohns

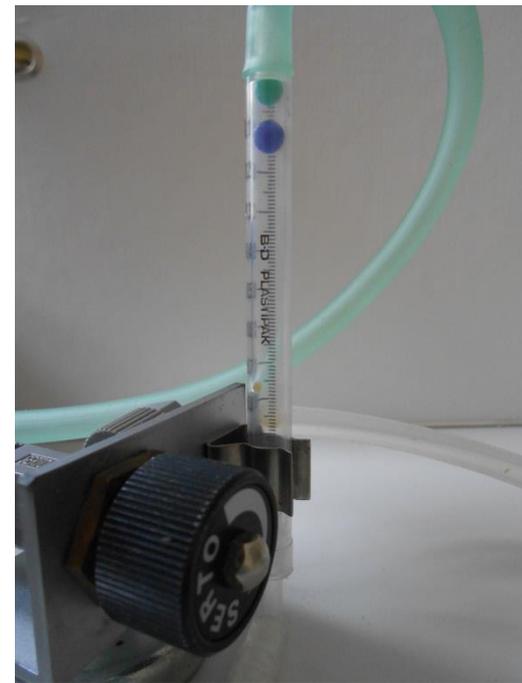
- Der Phallus liegt im Ruhezustand zusammengefaltet im Hinterleib verborgen
- Bei der Ejakulation wird der Phallus durch das Zusammenpressen der Luftsäcke des Hinterleibes nach außen gestülpt („aufgeblasen“)
- Nach dem Schlupf braucht der Drohn noch **mind. 12 Tage** zur Erlangung der Geschlechtsreife
- Die Spermabildung findet vor dem Schlupf statt, dennoch ist die Pflege des Drohns nach dem Schlupf für die abnehmbare Spermamenge+ -qualität wichtig!

Die eigentliche Besamung kann von fast jedem erlernt werden



Schritt 1: Begasung

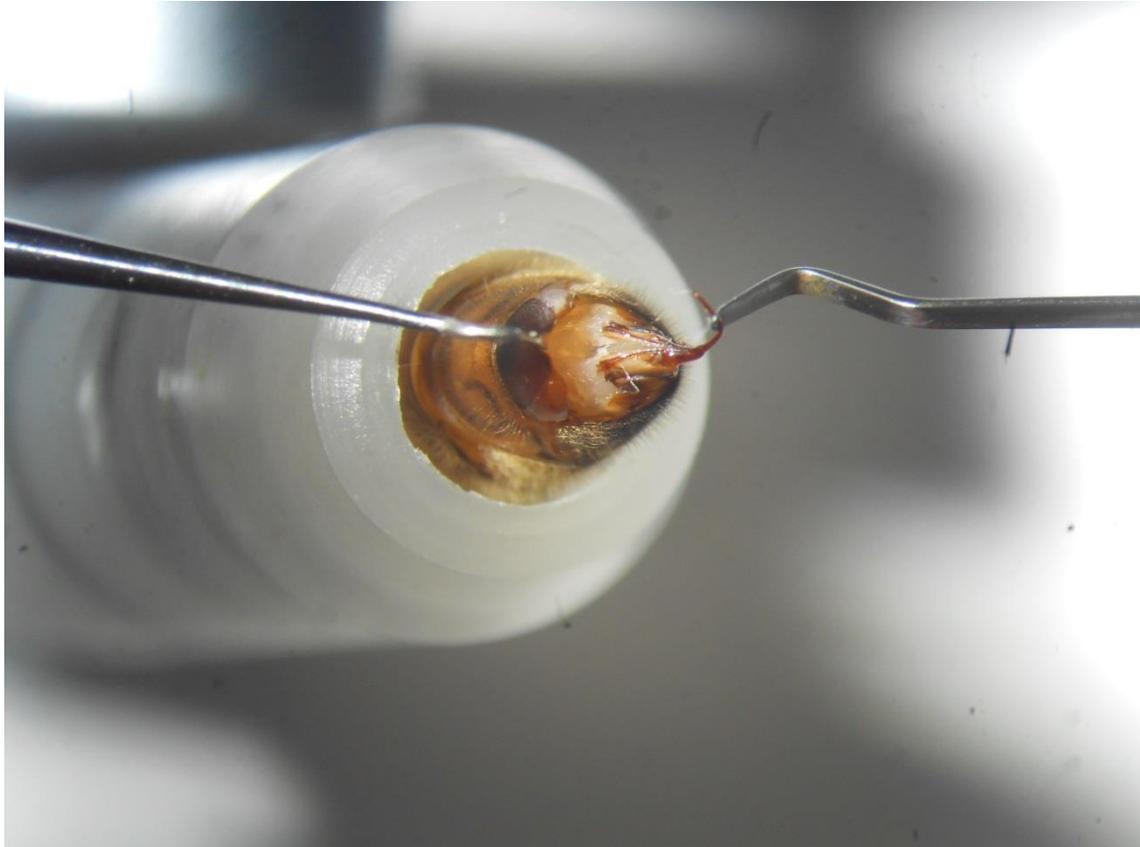
Die eigentliche Besamung kann von fast jedem erlernt werden



LIB/Wegener

Schritt 2: Anbringung der Königin, Begasung

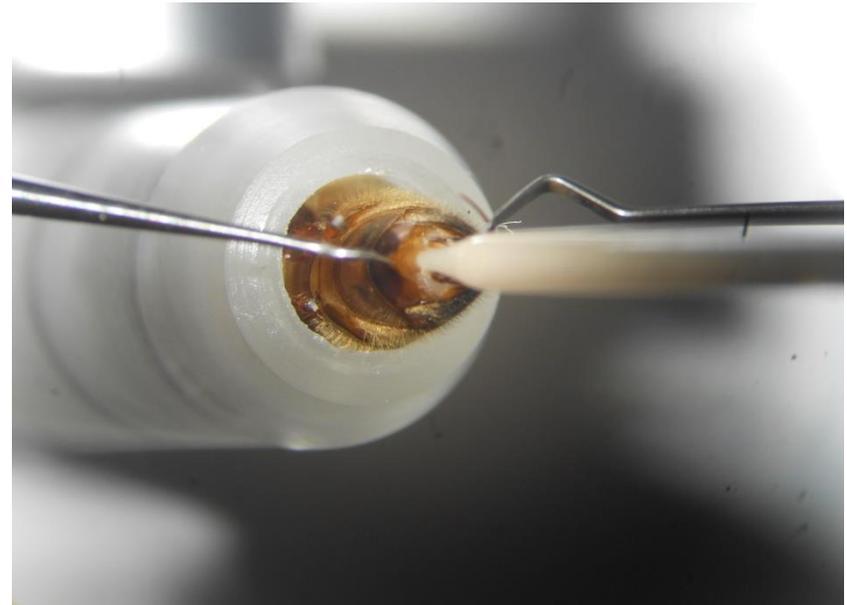
Die eigentliche Besamung kann von fast jedem erlernt werden



LIB/Wegener

Schritt 4: „Aufhakeln“

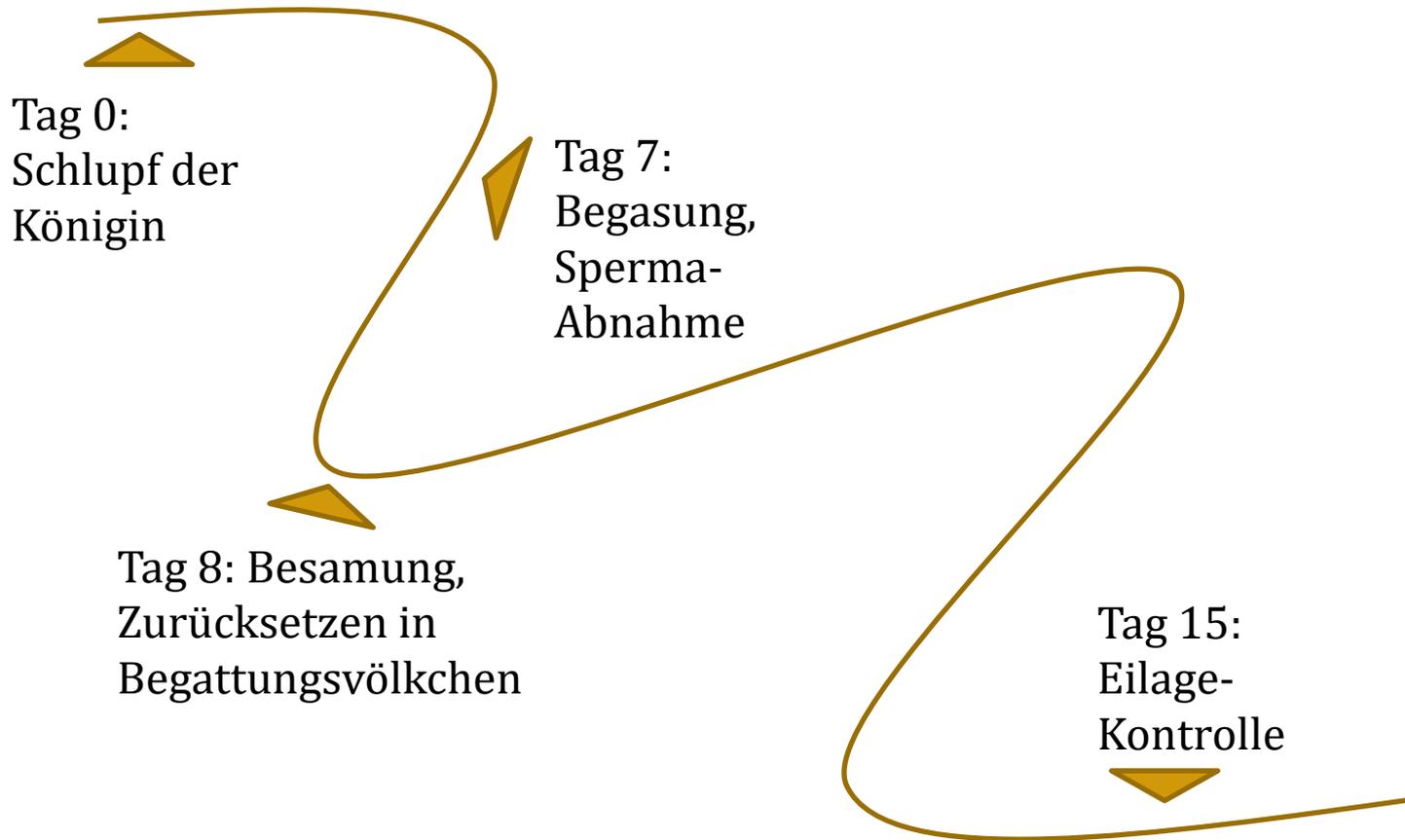
Die eigentliche Besamung kann von fast jedem erlernt werden



LIB/Wegener

Schritt 5: Sperma injizieren

Zeitliche Abfolge



Vergleich der Leistungsfähigkeit besamter und natürlich begatteter Königinnen



Foto: JLIB/Musin

?

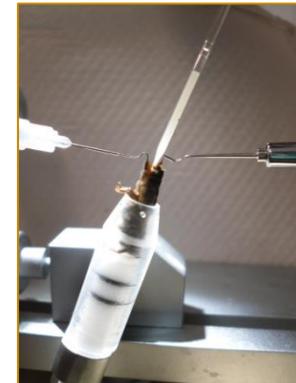


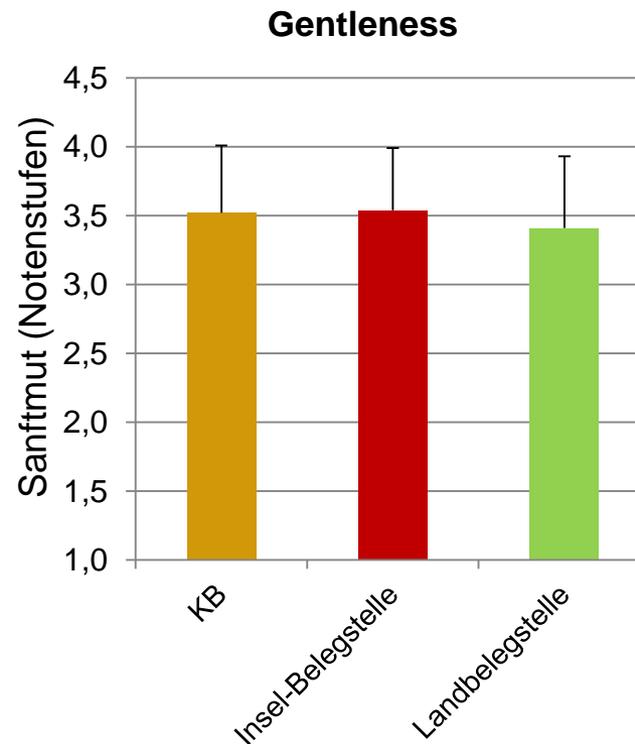
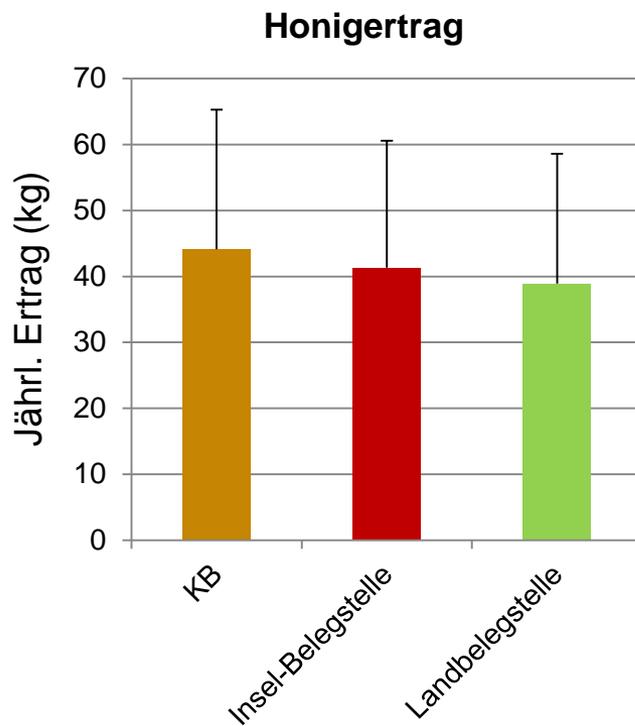
Foto: Jakob Wegener

Vergleich der Leistungsfähigkeit besamter und natürlich begatteter Königinnen



Ansatz: Vergleich der Leistungsprüfungs-
Ergebnisse aus BeeBreed nach
„Begattungstypen“; ca. 40.000 Königinnen

Vergleich der Leistungsfähigkeit besamter und natürlich begatteter Königinnen



(Noch Korrektur um Effekte des Zuchtwertes nötig)

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma



Montage: Florian Bong-Kil Grosse, Jakob Wegener

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Montage: Florian Bong-Kil Grosse, Jakob Wegener



Ziele:

- Verlust genetischer Honigbienen-Ressourcen vorbeugen
- Anpassungsfähigkeit an zukünftige Stressoren wie Klimawandel oder neue Parasiten/Pathogene sichern helfen

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

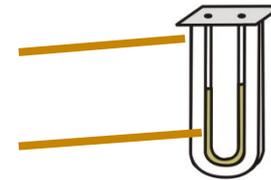
Erinnerung:

In den letzten Jahren wurden die Methoden zur Kryokonservierung von Drohnensperma stark verbessert

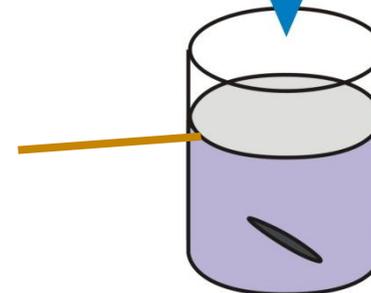


Dialysekammer

Sperma



Gefrierschutzmittel-
Lösung



LIB/Wegener

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Erinnerung:

In den letzten Jahren wurden die Methoden zur Kryokonservierung von Drohnensperma stark verbessert

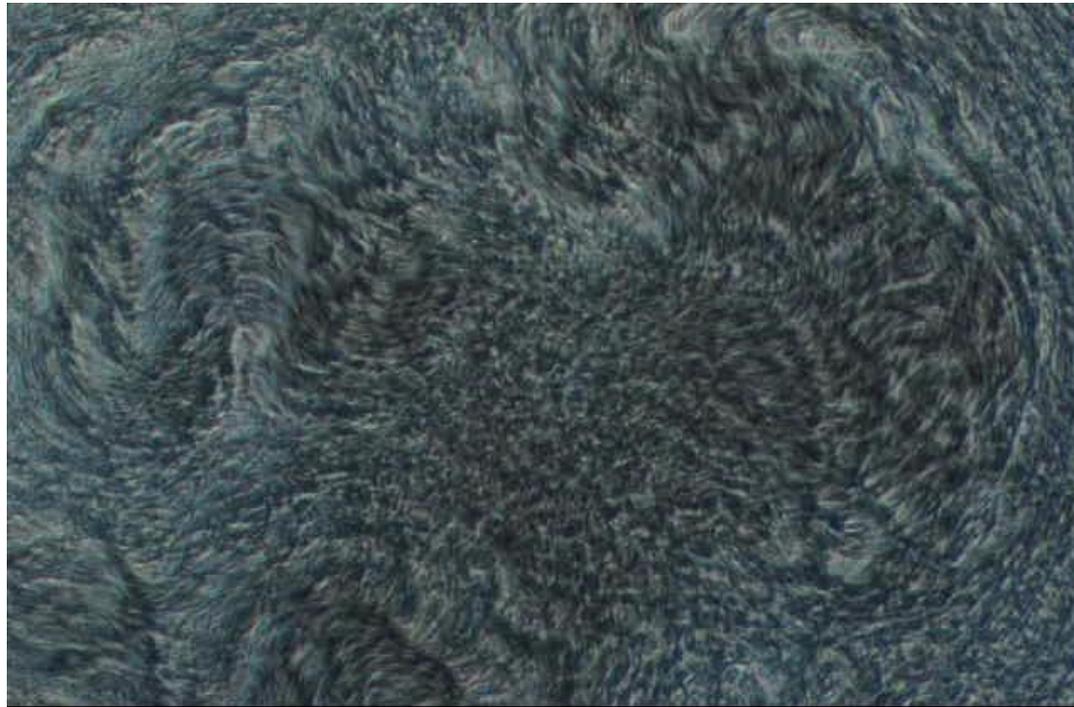


LIB/Wegener

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Erinnerung:

In den letzten Jahren wurden die Methoden zur Kryokonservierung von Drohnensperma stark verbessert



LIB/Wegener

Aufgetautes Sperma; natürliche „Bündelung“ bleibt erhalten

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

- Ergebnisse mit dem neuen Protokoll
 - 5 – 98% weiblicher Brut (Mittel ca. 60%)
 - Im Mittel ca. 1 Million Spermien in der Spermatheka



LIB/Wegener

Brutnest nach Besamung mit aufgetautem Sperma

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

- Auswahlkriterien der eingelagerten Ressourcen:
 - „einheimisch“
 - Gefährdet
 - Breite Abdeckung des derzeit vorhandenen
Genpools

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

- „einheimisch“....

Definition lt. Tierzuchtgesetz:

UND/ODER

Zuchtgründung aufgrund „in Deutschland vorhandener Tierbestände“



LIB

A. m. mellifera

Deutsches Zuchtbuch seit spätestens 1949



LIB

A. m. carnica

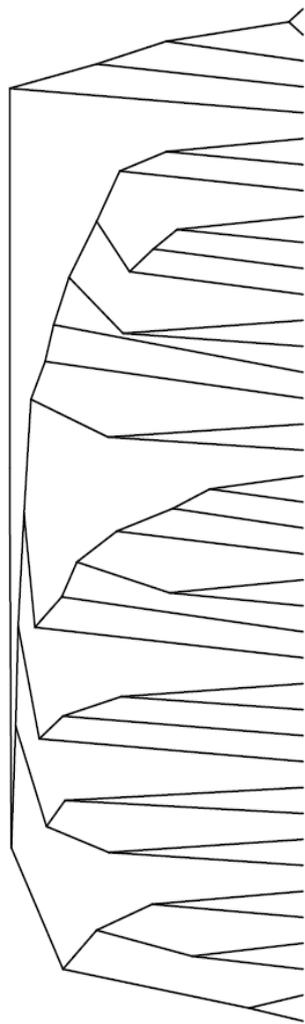
Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Auswahl der Ressourcen:

- Regional ausgewogenes Gremium
- Mitglieder vorgeschlagen von DIB und Mellifera-Zuchtverband (Zuchtgemeinschaft dunkle Biene Deutschland e.V.)
- „konstituierende Sitzung“ 06.04.2019 (DIB-Züchtertagung in Wenden)



Teil 3: Samenbank für Drohnensperma



Sklenar-Süd-Cluster (27)
Sklenar-Cluster (35)
Uhlenbruck-Rheinland-Cluster (11)
Sklenar-Holstein-Cluster (14)
Schweiz-Cluster (27)
Rheinland-AGT-Cluster (131)
Mali-Drvenik-AGT-ACA-Cluster (50)
Mayen-Weser-Ems-Cluster (68)
Deutschland-AGT-Cluster (87)
Holland-Weser-Ems-AGT-Cluster (33)
Internationaler-AGT-Cluster (100)
Weser-Ems-AGT-Cluster (42)
LIB-Cluster (11)
LIB-Selek-Cluster (68)
Holstein-Cluster (8)
Peschetz-Holstein-Cluster (22)
Petersen-Hessen-Cluster (4)
LeClaire-Westfalen-Cluster (16)
ACA-Haupt-Cluster (121)
ACA-AGT-Cluster (147)
Niederösterreich-Cluster (37)
Kärnten-Cluster (19)
Mayen-Belgien-Cluster (52)
Pözl-ACA-Cluster (21)
Jagersberger-ACA-Cluster (12)
Krauter-Mecklenburg-Cluster (3)
Macha-Niedersachsen-Cluster (4)
Brandenburg-Cluster (14)
Edelmann-Bayern-Cluster (4)
Rimmele-Württemberg-Cluster (2)
Schwarzer-Bayern-Cluster (5)
Perner-Bayern-Cluster (9)
Südtirol-Weser-Ems-Cluster (20)
Südtirol-Cluster (9)
Strobel-Bayern-Cluster (3)
Acheleschwaig-Bayern-Cluster (20)
Schwarzenau-Bayern-Cluster (16)
Oberbayern-Cluster (29)
Kroiß-Bayern-Cluster (9)
Reitberger-Bayern-Cluster (6)

- Entscheidungshilfe
Verwandtschaftsbaum
(Andreas Hoppe,
beebreed.eu):

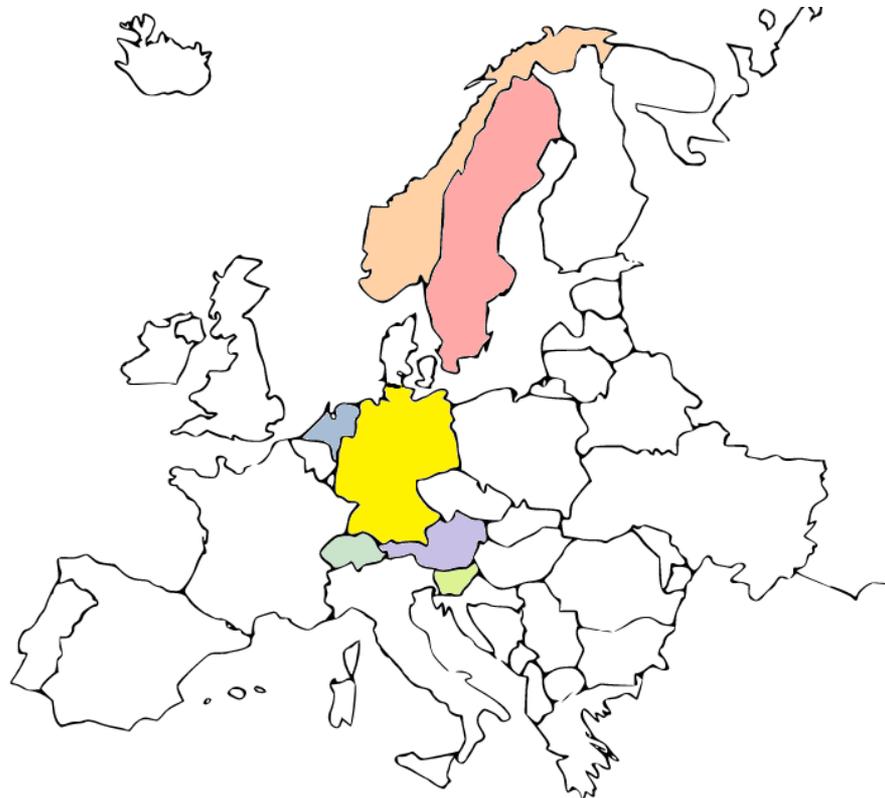
Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Umfang...

- 10 Herkünfte aus Deutschland
- 5 Herkünfte aus dem Ausland (Slovenien, Österreich, Norwegen, X)
- Insgesamt Proben von ca. 300 Völkern

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Proben aus dem Ausland:



Zu beprobende Länder

- Anwendung des Nagoya-Protokolls
- Einbindung der Imkerverbände und Behörden vor Ort
- Eigentum liegt bei der Genbank, aber Duplikate werden angeboten

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Prüfung der genetischen Identität in Zusammenarbeit mit Bieneninstitut Kirchhain (Fr. Dr. Meixner):

- Morphometrische Merkmalsmessung
- Genotypisierung mithilfe des im SmartBees-Projekt entwickelten Unterscheidungswerkzeugs, in Zusammenarbeit mit Institut Kirchhain

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Ein kompletter Probensatz:



LIB/Viert



1. 5 Arbeiterinnen
2. 5 Drohnen
3. 40 Drohnenköpfe
4. 15 Drohnenköpfe f. Virusunters.

5. 5µl Sperma für Virusunters.
6. 3 x Spermaproben
7. 20 Arbeiterinnen in Ethanol (Merkmalsuntersuchungen)

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Einlagerung...

- In die Nationale Genbank Landwirtschaftlicher Nutztiere (Mariensee)
- Einlagerung von Sperma, DNA und Ganztieren



Abb. FLI

Teil 3: Samenbank für Drohnensperma

Finanzierung...

- Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung, im Auftrag des Bundesministeriums



Teil 4: Alternative Methoden der Paarungskontrolle

Unser Mondschein-Projekt am LIB:

- Seit Mai 2019 “Mondschein-Projekt” am LIB
- Partner Landesverband Brandenburgischer Imker e.V. und Zuchtverband dunkle Biene Deutschland e.V..
- gefördert durch das Bundesministerium für Landwirtschaft



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

- Das Ziel ist eine Methode, die auf (fast) jedem Bienenstand funktioniert.

Teil 4: Alternative Methoden der Paarungskontrolle

„Mondscheinpaarung“

- Um die Königin tagsüber ruhig zu halten, darf sie kein Licht sehen
- Arbeitsbienen gelangen deshalb tagsüber über ein Labyrinth nach draußen
- Nachmittags wird ein anderes Flugloch geöffnet, Licht strömt ein

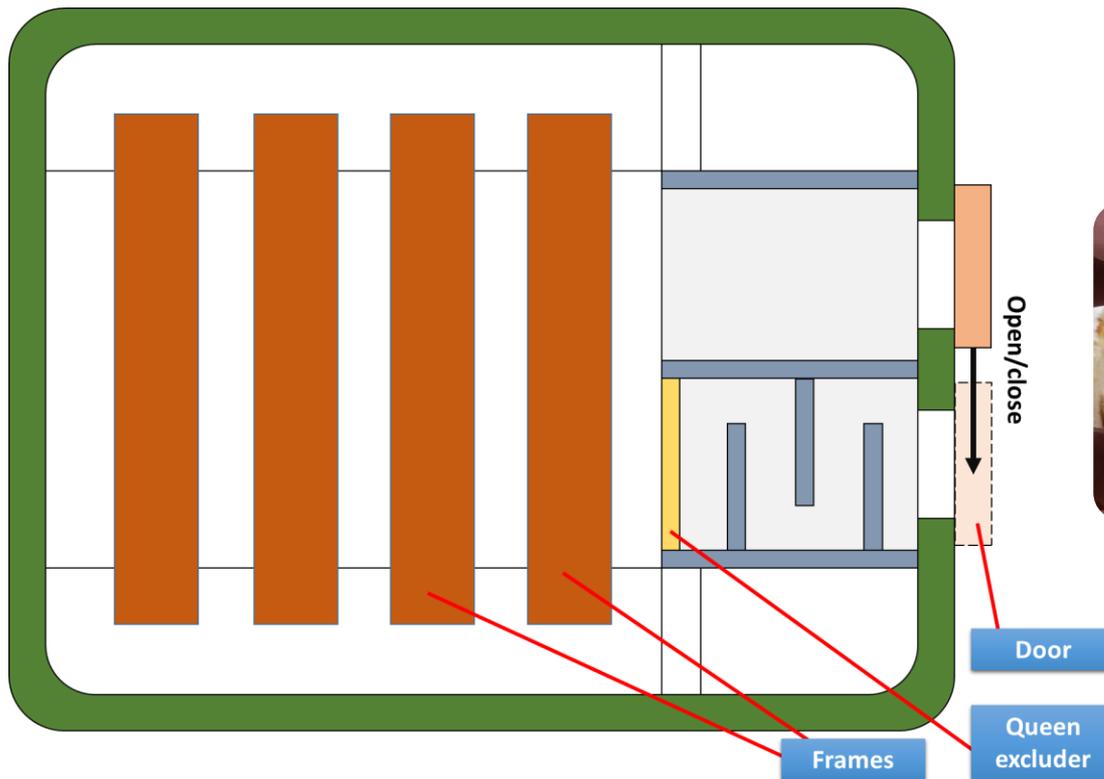


LIB/Musin



„Mondscheinpaarung“

- Aufbau der Vorrichtung zur Regulierung der Flugzeiten



LIB/Musin



Teil 4: Alternative Methoden der Paarungskontrolle

„Mondscheinpaarung“:
Alternative Umsetzung als „Klimabox“



LIB/Musin



„Mondscheinpaarung“



LIB/Musin

Fernsteuerung:

- **Öffnung**
- **Schließung**
- **Temperatur**

„Mondscheinpaarung“: Regulierung des Drohnenflugs

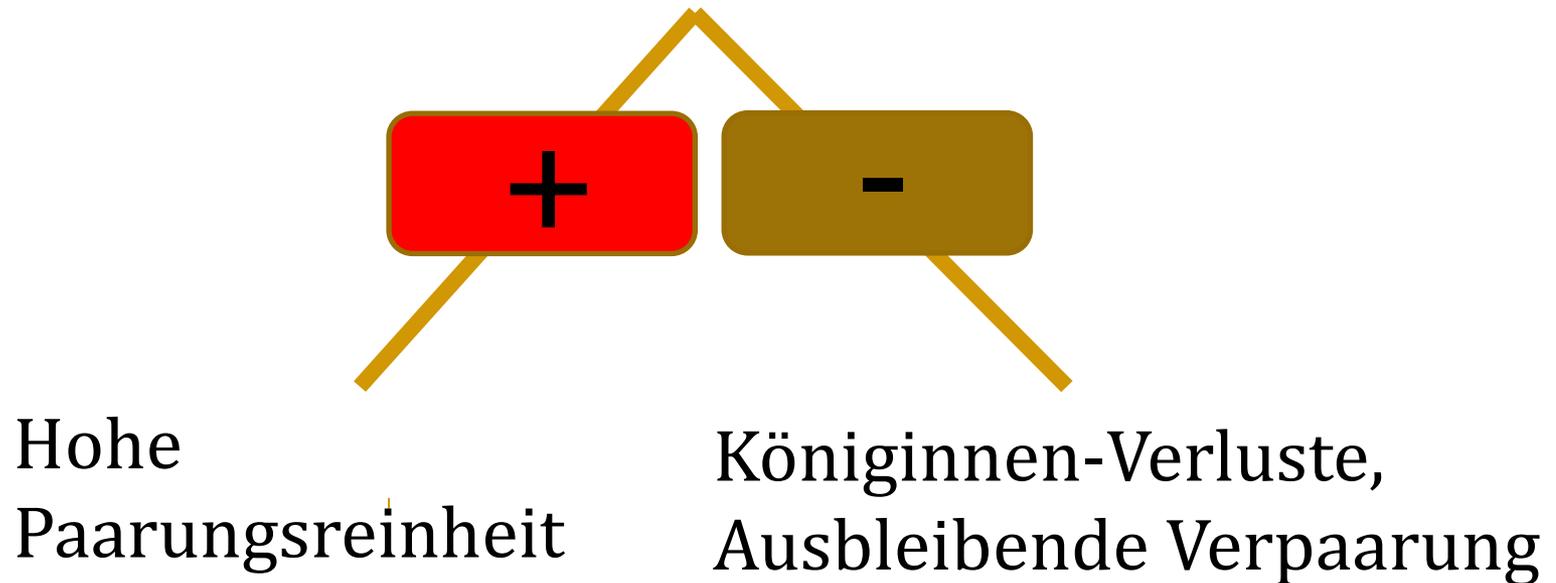


LIB/Musin

Teil 4: Alternative Methoden der Paarungskontrolle

„Mondscheinpaarung“: Ergebnisse

- Die **Ergebnisse aus 2019** sind durchwachsen:



.. Danke fürs Zuhören!!



Danke!

- Für finanzielle Unterstützung::
- Für Mitwirkung an Forschungen: Kaspar Bienefeld, Günter Kamp, Tanja May, Karin Müller, Eduard Musin, Victoria Viert, ...
- Für die Mitwirkung in vielen Experimenten:

