

Genom-Analyse der Schweizer Honigbienen

Eine vom ZBF, Agroscope, und der Universität Bern durchgeführte Studie¹ untersuchte mithilfe der Genomsequenzierung die Populationsstruktur und genetische Diversität (Vielfalt) der Schweizer Honigbienen. Die aktuell in der Schweiz vorkommenden Unterarten der Honigbiene (*Mellifera*, *Carnica*, *Ligustica* und *Buckfast*) konnten auf der Basis von genomweiten DNS-Informationen (Single Nucleotide Polymorphisms [SNPs], sprich Snips) gut voneinander unterschieden werden. Die Schweizer Populationen zeigten zudem eine hohe genetische Diversität, was für die erfolgreiche Anpassung an eine sich verändernde Umgebung wichtig ist.

MELANIE PAREJO^{1,2} UND MARKUS NEUDITSCHKO¹

¹ AGROSCOPE, ZENTRUM FÜR BIENENFORSCHUNG; ² INSTITUT FÜR BIENENGESUNDHEIT, UNIVERSITÄT BERN

Der Ursprung unserer Honigbiene liegt sehr wahrscheinlich in Asien, wo sie neben anderen *Apis*-Arten vor rund 6 bis 9 Millionen Jahren entstanden ist.² Vor ca. einer Million Jahre hat sich die Honigbiene (*Apis mellifera*) schliesslich von Asien aus nach Afrika und Europa ausgebreitet und musste sich an die neuen Umweltbedingungen anpassen.

Verbreitung, Diversität und lokale Honigbienen-Unterarten

Durch diesen Anpassungsprozess entstanden vier grosse Evolutionslinien der westlichen Honigbiene (*Apis mellifera*): die M-Linie (West- und Nordeuropa), die C-Linie (Osteuropa), die O-Linie (Naher Osten und Zentralasien) und die A-Linie (Afrika).³ Der natürliche Lebensraum der Honigbiene erstreckt sich also von der Südspitze Afrikas über Savanne, Regenwald, Wüste, Mittelmeer bis nach Südsandinavien. Mit einer solchen Vielfalt von Lebensräumen, klimatischen Bedingungen, Flora und Fauna ist es nicht verwunderlich, dass zahlreiche Unterarten entstanden sind, welche jeweils mit besonderen Eigenschaften optimal an ihren Lebensraum angepasst sind. Heute sind mehr als 28 Honigbienenunterarten beschrieben.⁴

In der Schweiz gibt es aktuell vier Unterarten oder Rassen der Honigbiene: die ursprünglich einheimische Dunkle Honigbiene (*Apis mellifera mellifera*, kurz: *Mellifera*), die Kärntnerbiene (*Apis mellifera carnica*, kurz: *Carnica*), die Italienische Biene (*Apis mellifera ligustica*, kurz: *Ligustica*) und die Buckfast-Biene (Hybrid-Züchtung). Die *Mellifera* gehört zur Evolutionslinie M, während *Carnica*, *Ligustica* und *Buckfast* der C-Linie zuzuordnen sind.

Das Ziel dieser Studie war die Erfassung der aktuellen Populationsstruktur und Diversität der Schweizer Honigbienen sowie die Bestimmung

der Hybridisierung zwischen den verschiedenen Unterarten. In weiteren Folgen wurden neue genetische Marker analysiert, welche für die Selektion von Schweizer Honigbienen genutzt werden können.

Drohnen-Genom Sequenzierung

In Zusammenarbeit mit den Imkerverbänden wurden bereits im Jahr 2014 Drohnenbrut-Proben von verschiedenen Honigbienenunterarten aus der ganzen Schweiz gesammelt. Dank der Entschlüsselung des Honigbienen-genoms im Jahr 2006 und der raschen Weiterentwicklung neuer DNS-Sequenzierungstechnologien ist es heute möglich, ganze Genome kostengünstig zu sequenzieren. Das Genom von 120 Drohnen aus der Schweiz wurde mittels der neuen Technologie sequenziert. Weitere Sequenzdaten von 31 Drohnen aus Savoyen, nahe der Schweizergrenze, haben wir von unseren wissenschaftlichen Partnern in Frankreich (INRA Toulouse) erhalten. Insgesamt konnten wir somit einen Datensatz von 151 Drohnen-Genomen analysieren. Nach der bioinformatischen Aufbereitung der Sequenzdaten konnten wir über 3,3 Millionen genetische Marker, sogenannte SNPs, auf dem Bienen-genom kartieren und für die Erfassung der Populationsstruktur und Diversitätsberechnung verwenden.

Signifikanter Unterschied zwischen M- und C-Linie

Die Hauptkomponenten-Analyse (Grafik nächste Seite oben), in welcher jeder Punkt eine sequenzierte Biene darstellt, zeigt einen klaren Unterschied zwischen den Bienen der C- und M-Linie. Die erste Hauptkomponente (x-Achse) zeigt, dass die genetische Variabilität innerhalb der Linien viel kleiner ist als zwischen der M- und der C-Linie. Diese erklärt mit >95 % den grössten Teil der Variation zwischen den untersuchten Honigbienen. Jedoch lassen sich auf der zweiten Hauptkomponente (y-Achse)

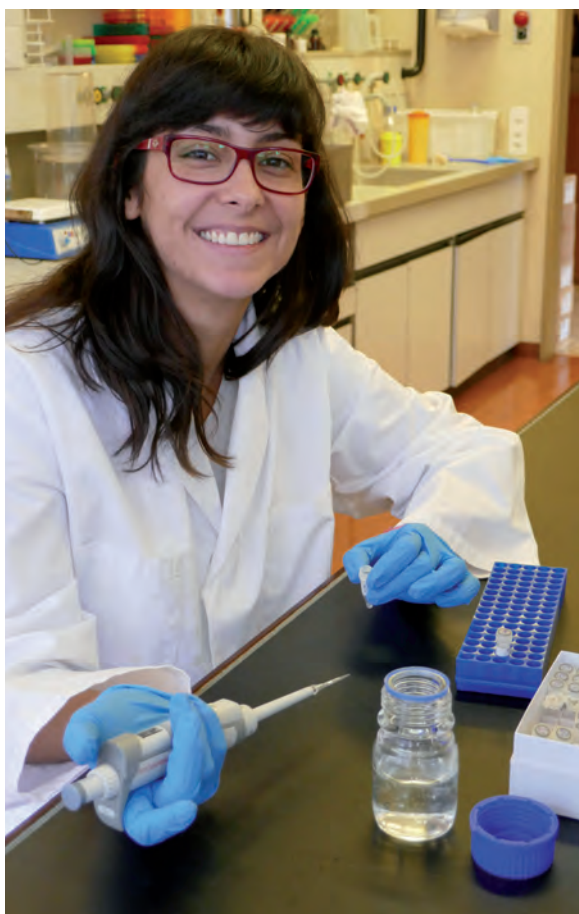
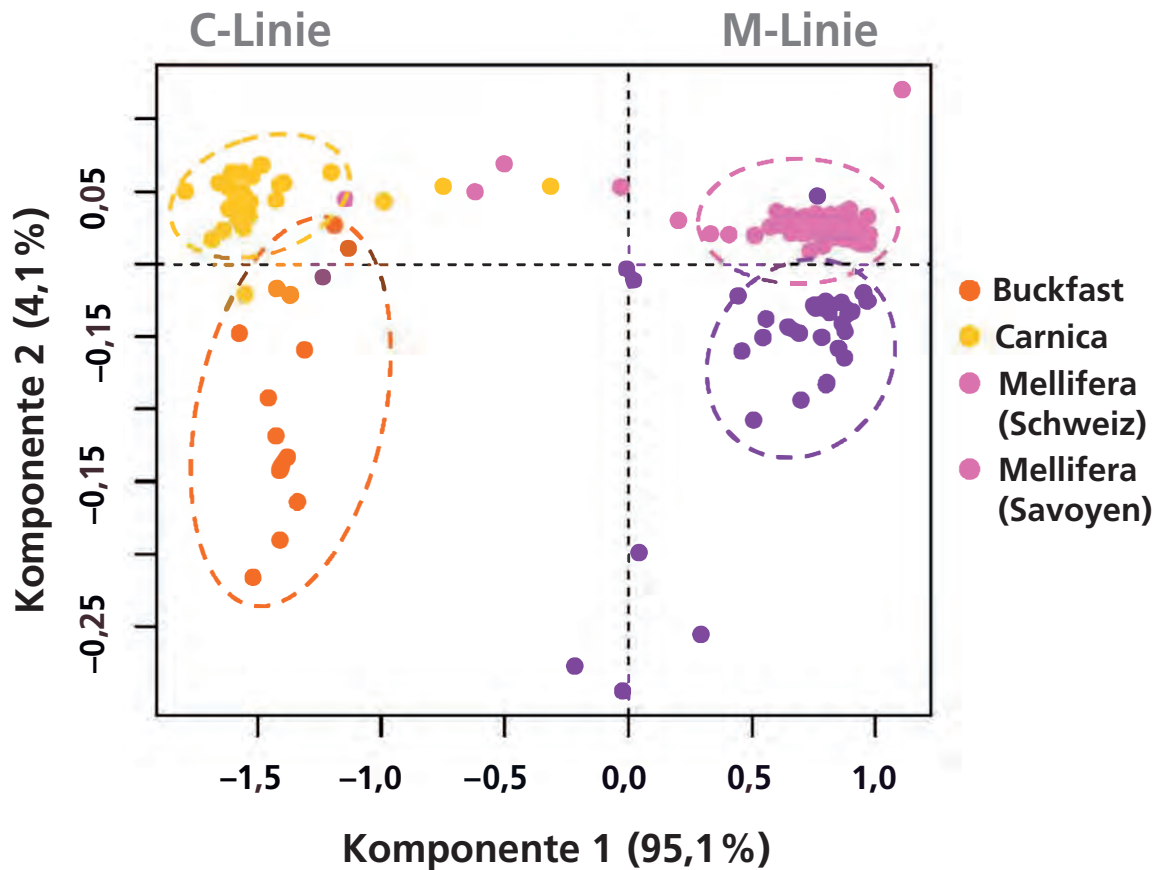
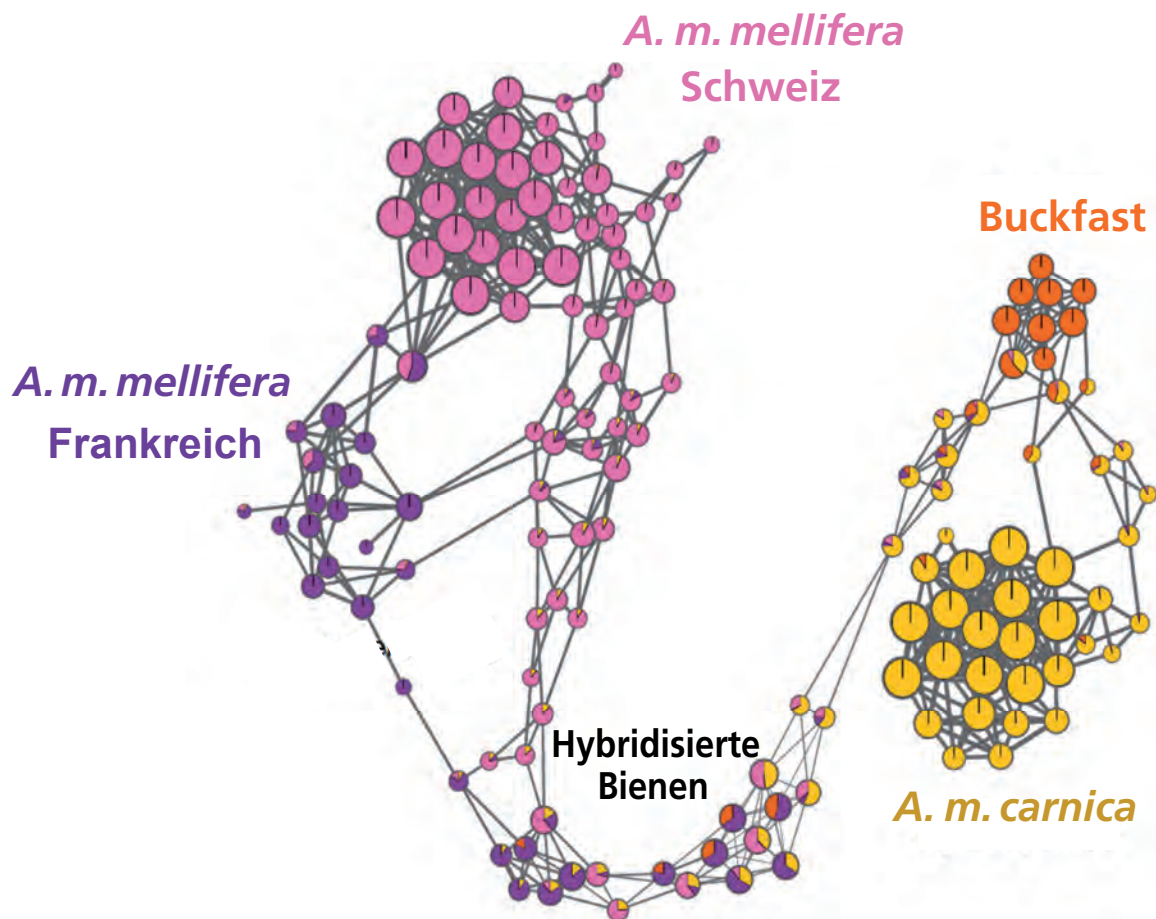


FOTO: ZBF, AGROSCOPE

Melanie Parejo untersucht DNS (Träger der Erbinformation) der Schweizer Honigbienen.



In dieser Hauptkomponenten-Analyse ist jede Biene als Punkt dargestellt (die Farbe zeigt die Abstammung gemäss der Unterart/Zuchtform Buckfast). Die Distanz zeigt die genetische Verwandtschaft zwischen den einzelnen Honigbienen. Man kann klar den Unterschied zwischen den Bienen der M- und der C-Linie erkennen (Komponente 1 auf der x-Achse).



Die Netzwerk-Analyse zeigt detailliert die Populationsstruktur und den Hybridisierungsgrad. Jede Biene ist als Kuchendiagramm dargestellt und die Farben entsprechen der Abstammung.

Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP)-Analyse

Als Genom bezeichnet man die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus. Die Geninformation ist in der Abfolge von vier Nukleinsäurebasen A, T, G und C (Buchstaben des genetischen Codes) in der DNS (Desoxynukleinsäure) jeder Zelle codiert. Das Genom der Honigbiene besteht aus 247 Millionen Basenpaaren. Zum Vergleich: Das menschliche Genom besteht aus 3 Milliarden Basen. Genvarianten mit Unterschieden in einzelnen Basenpaaren in einer Population nennt man SNPs (engl.: Single Nucleotide Polymorphisms [SNPs], ausgesprochen als «Snips»). SNPs sind eine Variation in einem einzelnen Basenpaar (z. B. der Austausch der Base G von AG zu AA) und beschreiben somit die kleinste mögliche Abweichung im genetischen Code.

Mittels Voll-Sequenzierung von 151 Drohnen konnten wir insgesamt 3,3 Millionen SNPs im Genom lokalisieren, welche eine genetische Variation zwischen den analysierten Honigbienen kennzeichnen. Die meisten SNPs sind in allen Populationen zu finden. Es gibt aber auch SNPs, welche vermehrt oder ausschliesslich in einer Population zu finden sind. Wir haben solche populationspezifischen SNPs zwischen den Bienen der M- und C-Linie identifiziert. Diese können nun als genetische Marker verwendet werden, um die Abstammung einer Biene oder eines Volkes zu testen.

weitere Strukturen erkennen, welche die Carnica und Buckfast sowie die schweizerische von der savoyischen *Mellifera*-Population unterscheiden lassen.

Im Diagramm auf der vorhergehenden Seite unten ist die Populationsstruktur der Schweizer Honigbienen als Netzwerk dargestellt. Die Abstammung ist für jede Biene mittels eines Kuchendiagramms mit den Farben der entsprechenden Abstammung der Biene dargestellt. Die Verbindungslinien repräsentieren die genetische Verwandtschaft zwischen den einzelnen Bienen; je dicker die Linie, desto näher verwandt sind sie. Durch diese Netzwerkstruktur lassen sich die Populationen der einzelnen Bienenrassen gut erkennen. Die hybridisierten Bienen mit gemischter Abstammung (verschiedene Farben im Kuchendiagramm) befinden sich klar zwischen den Bienen der M- und der C-Linie. Die Analysen zeigten zudem, dass die Buckfast-Bienen genetisch eng mit den Carnica-Bienen verwandt sind. Des Weiteren konnte eine interessante Substruktur zwischen den französischen und schweizerischen *Mellifera* aufgezeigt werden.

Geringe Hybridisierung und hohe genetische Diversität

Der Hybridisierungsgrad zwischen der einheimischen *Mellifera* und den Bienen der C-Linie (Buckfast und Carnica) ist generell gering und die meisten Proben konnten eindeutig einer Unterart zugeordnet werden. Zusätzlich wurde die genetische Diversität der

verschiedenen Populationen berechnet. Sie ist für alle untersuchten Unterarten hoch und vergleichbar mit anderen bereits publizierten Studien zur Diversität der Populationen der M- und C-Linien. Erfreulicherweise ist daher in der Schweiz kein Anzeichen von Inzucht zu finden. Die höchste genetische Vielfalt zeigt die Buckfast-Population. Da Buckfast durch Rassenkreuzung entstanden ist, war dies nicht anders zu erwarten.

Genetische Marker für die Anwendung in Rassenzucht

Des Weiteren konnten wir zeigen, dass es möglich ist, mit einer Auswahl von nur 50 informativen genetischen Markern (SNPs) die Bienen der C-Linie (Carnica und Buckfast) von der einheimischen *Mellifera* zu unterscheiden. Mit diesen genetischen Markern lässt sich zudem der Hybridisierungsgrad sehr genau berechnen. Sie bilden daher ein kostengünstiges und präzises Werkzeug für die Selektion in der Bienenzucht. In Zukunft wird es möglich sein, geeignete genetische Marker für wichtige Zuchtziele zu entwickeln und damit gezielter zu selektionieren. Allerdings braucht es dazu noch viele, sehr genaue Daten zu den wichtigen erwünschten Merkmalen im Zuchtprogramm. Diese Untersuchungen werden jedoch durch die komplexe Paarungsbiologie und Genetik der Honigbiene erschwert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich mittels Genomsequenzierung die verschiedenen Honigbienen-

unterarten klar unterscheiden lassen und der Hybridisierungsgrad zwischen C- und M-Linie genau berechnet werden kann. Die Erkenntnisse aus dieser Studie und der generierte Datensatz von über 3 Millionen SNPs pro Biene bilden die Grundlagen für zukünftige genetische Studien am Zentrum für Bienenforschung. Erfreulicherweise ist in allen Populationen eine grosse genetische Diversität vorhanden. Der Erhalt dieser Vielfalt ist wichtig, um für zukünftige Umweltveränderungen und neue Krankheiten und Parasiten gewappnet zu sein.

Dank

Wir möchten hiermit nochmals die Gelegenheit nutzen, uns bei allen Imkern, welche an dieser Studie teilgenommen und uns Proben zugesandt haben, ganz herzlich zu bedanken. Vielen Dank gebührt auch den zahlreichen Zuchtverbänden VSMB, SCIV, SAR, BIVS und CETA (Savoyen). Für die finanzielle Unterstützung des Projekts möchten wir uns beim Bundesamt für Landwirtschaft und der Stiftung Sur-la-Croix bedanken.

Literatur

1. Parejo, M.; Wragg, D.; Gauthier, L.; Vignal, A.; Neumann, P.; Neuditschko, M. (2016) Using whole-genome sequence information to foster conservation efforts for the European dark honey bee, *Apis mellifera mellifera*. *Front. Ecol. Evol.* 4:140. DOI: 10.3389/fevo.2016.00140
2. Han, F.; Wallberg, A.; Webster, M. T. (2012). From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecology and Evolution* 2:1949–1957.
3. Ruttner, F. (1988). Biogeography and taxonomy of honeybees. Berlin, Springer Verlag.
4. Meixner, M. D.; Pinto, M. A.; Bouga, M.; Kryger, P.; Ivanova, E.; Fuchs, S. (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52(4): 1. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.05