

# Mögliche genetische Ursachen für die Fruchtbarkeit von Bienenarbeiterinnen

Kollaboration aus Studierenden der Fakultät für Biologie und Psychologie und der Universitätsmedizin Göttingen

Anastasia Andrews (B. Sc. Biologische Diversität und Ökologie), Martin Draband (B. Sc. Molekulare Medizin), Marina Elferink (B. Sc. Biologie), Evelin Krol (B. Sc. Biologie), Elias Künkel (B. Sc. Molekulare Medizin), David Rasche (B. Sc. Molekulare Medizin), Mohammed Saif (B. Sc. Molekulare Medizin), Tillmann Weber (B. Sc. Biologie)

## Fragestellung und Hintergrund

Typischerweise legen in Bienenvölkern (*Apis mellifera*) nur die Königinnen Eier, während das Eierlegen durch Arbeiterinnen weitgehend (u.a.) in Form von funktionsunfähigen Ovarien unterdrückt wird. Dennoch kommt es vor, dass Arbeiterinnen unbefruchtete, und somit stets männliche Nachkommen zeugen. Wir möchten untersuchen, wie es hierzu kommt, ob es eine genetische Ursache hat und ob diese eine ungewöhnliche Art der Weitergabe zur Verbreitung nutzt.

**Unsere Hypothese:** Es gibt eine genetische Ursache, die für die Fertilität von Arbeiterbienen verantwortlich ist und an ihre Söhne vererbt werden kann. Auf diese Weise kann das Gen oder die Gene über eine Königin erneut an Arbeiterbienen sowie an andere Nachkommen weitergegeben werden. Das entsprechende Allel (Genvariante) könnte die von ihm ausgelöste Fertilität der Arbeiterinnen folglich zur eigenen Verbreitung nutzen, da zu den von Königinnen mit solch einem Gen abstammenden Drohnen zusätzlich solche, die von Arbeiterinnen abstammen, hinzukommen. Damit hätte es in seiner Verbreitung einen Vorsprung gegenüber anderen Allelen, die keine Fertilität verursachen.

Weiterhin wäre es interessant, inwiefern es für ein Volk einen Unterschied macht, ob die Königin selbst hinsichtlich dieser Gen-Loki homo- oder heterozygot ist.

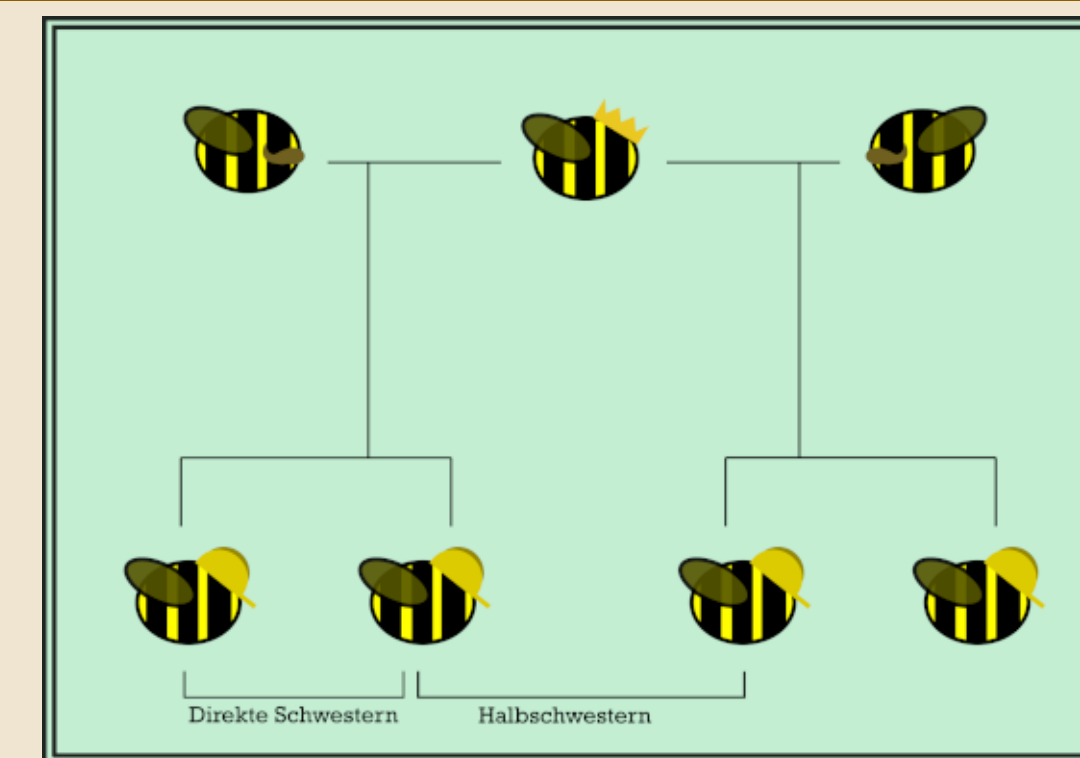
**Experiment:** Zunächst untersuchen wir, ob die Arbeiterinnen näher mit einander verwandt sind, also ob die eierlegenden Arbeiterinnen alle denselben Vater (oder zwei) haben, um somit zu ermitteln, ob solch ein Weg der Weitergabe von dem Gen genutzt werden könnte. Da es bereits Hinweise dafür gibt, dass die (Un-)Fähigkeit Eier zu legen mitunter eine genetische Ursache hat, möchten wir des Weiteren nach diesen Genen suchen, indem wir das Vorhandensein auffälliger Gene bei fertilen und infertilen vergleichen.

## Forschungsfrage und Methoden

**Besteht eine genetische Ursache für das Vorhandensein (oder das Fehlen) funktionierender Ovarien bei Bienenarbeiterinnen, wie wird diese vererbt und kommen die betrachteten Gene hierfür infrage?**

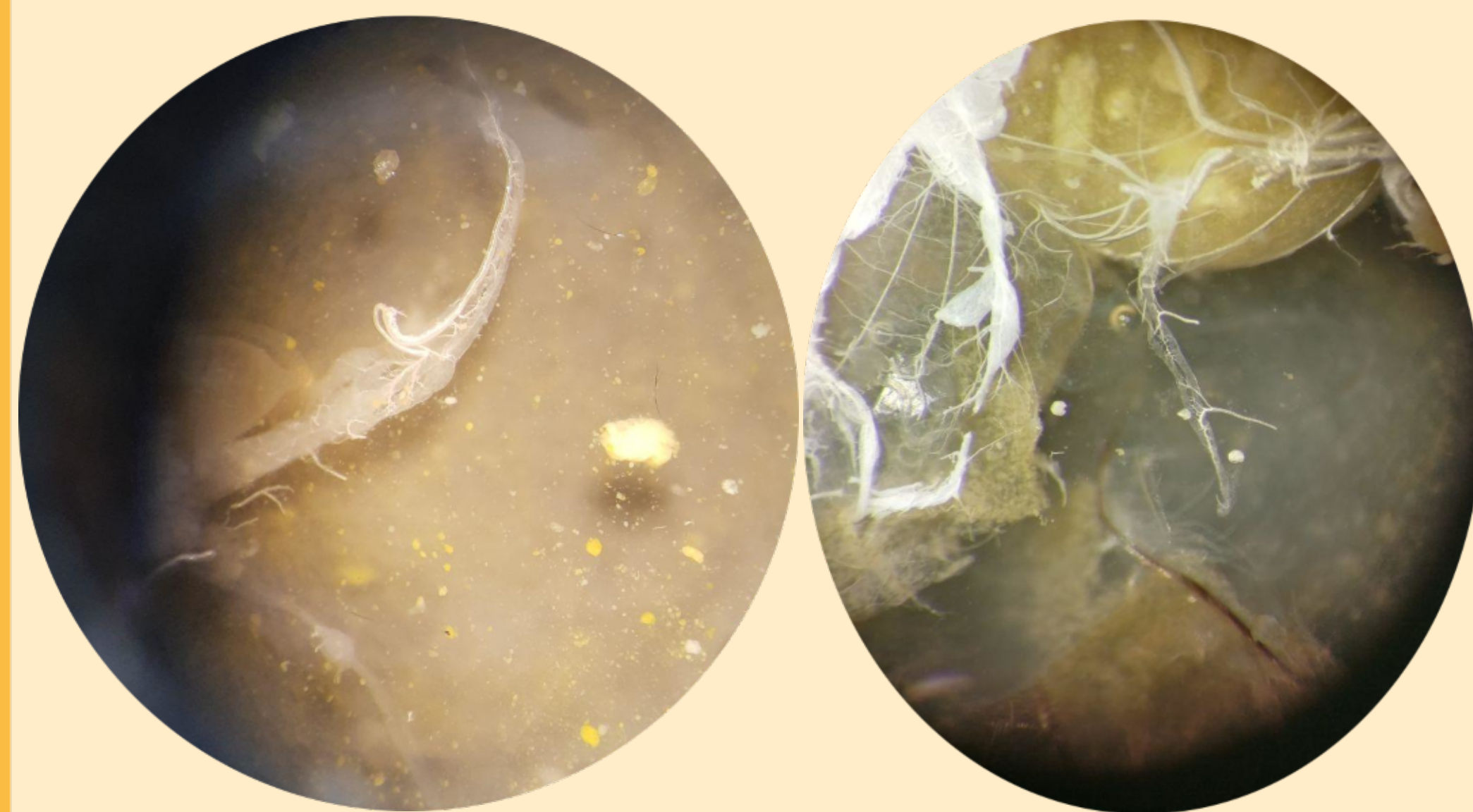
Um diese Frage zu beantworten, müssen Bienenarbeiterinnen gefunden werden, welche über intakte Ovarien verfügen. Anschließend werden die Verwandtschaftsverhältnisse solcher fertilen Arbeiterbienen untersucht, um Hinweise darüber zu bekommen, ob es für die Fertilität eine erbliche, also genetische Ursache gibt.

Unser Vorgehen dazu lässt sich in drei große Arbeitsschritte gliedern: das Sezieren von Bienen und die Sortierung nach intakten und nicht intakten Ovarien, die Aufreinigung und Vervielfältigung der DNA mittels Polymerase-Kettenreaktion und die anschließende genetische Untersuchung der Verwandtschaftsverhältnisse mittels Mikrosatelliten-Analyse.



### 1. Sezieren

Die Ovarien von fruchtbaren und unfruchtbaren Bienen lassen sich an ihrer Größe unterscheiden. Um sie freizulegen, muss der Panzer von der Bauch- oder Rückenseite her geöffnet werden, indem die einzelnen Segmente mit spitzen Pinzetten abgezogen werden. Die Ovarien münden als paarige Schläuche zwischen dem 5. und 7. Segment auf der Bauchseite des Hinterleibs. Bei fruchtbaren Bienen sehen die Ovarien größer und dicker aus (*links*), bei den unfruchtbaren kleiner und unscheinbarer (*rechts*).



### 2. DNA-Amplifikation

Zuerst muss die DNA aufgereinigt werden, also von Zellresten, Proteinen und RNA befreit werden. Anschließend wird der benötigte Sequenzabschnitt mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert.

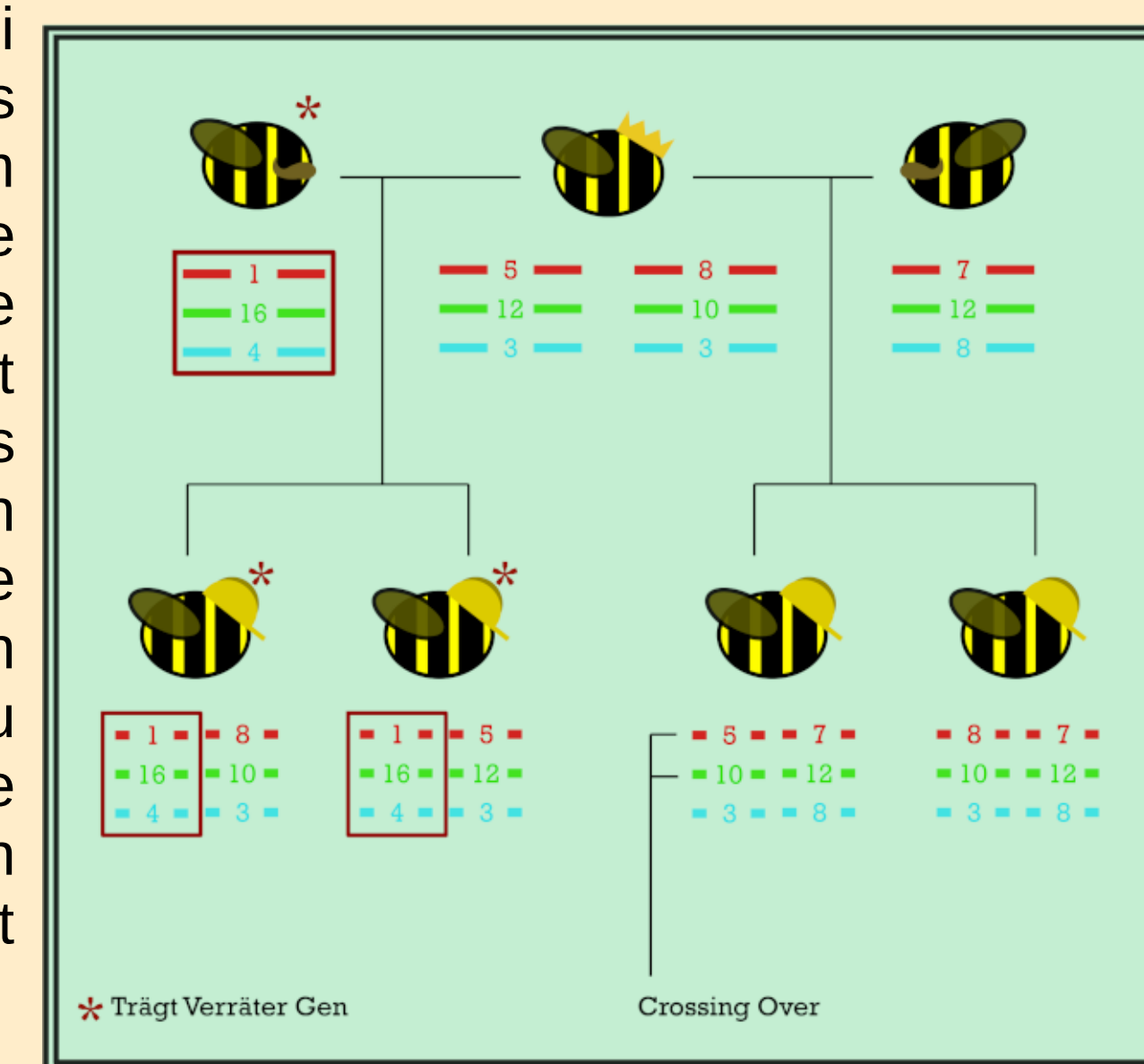
- 1. Denaturierung:** Die DNA wird erhitzt, sodass sich die Doppelstränge trennen.
- 2. Primerhybridisierung:** Die Lösung kühlt wieder ab, damit sich Primer, kurze Basenabfolgen, die den Startpunkt der DNA-Synthese angeben, an die Einzelstränge anlagern können.
- 3. Elongation:** Die Lösung wird auf dem Temperaturoptimum des Enzyms DNA-Polymerase gehalten, damit diese den komplementären Strang aus den in der Lösung befindlichen Basen synthetisieren kann.

Mit jedem Durchgang, der oft wiederholt wird, verdoppelt sich so die DNA-Menge. Die Menge wächst somit exponentiell.

### 3. Mikrosatelliten-Analyse

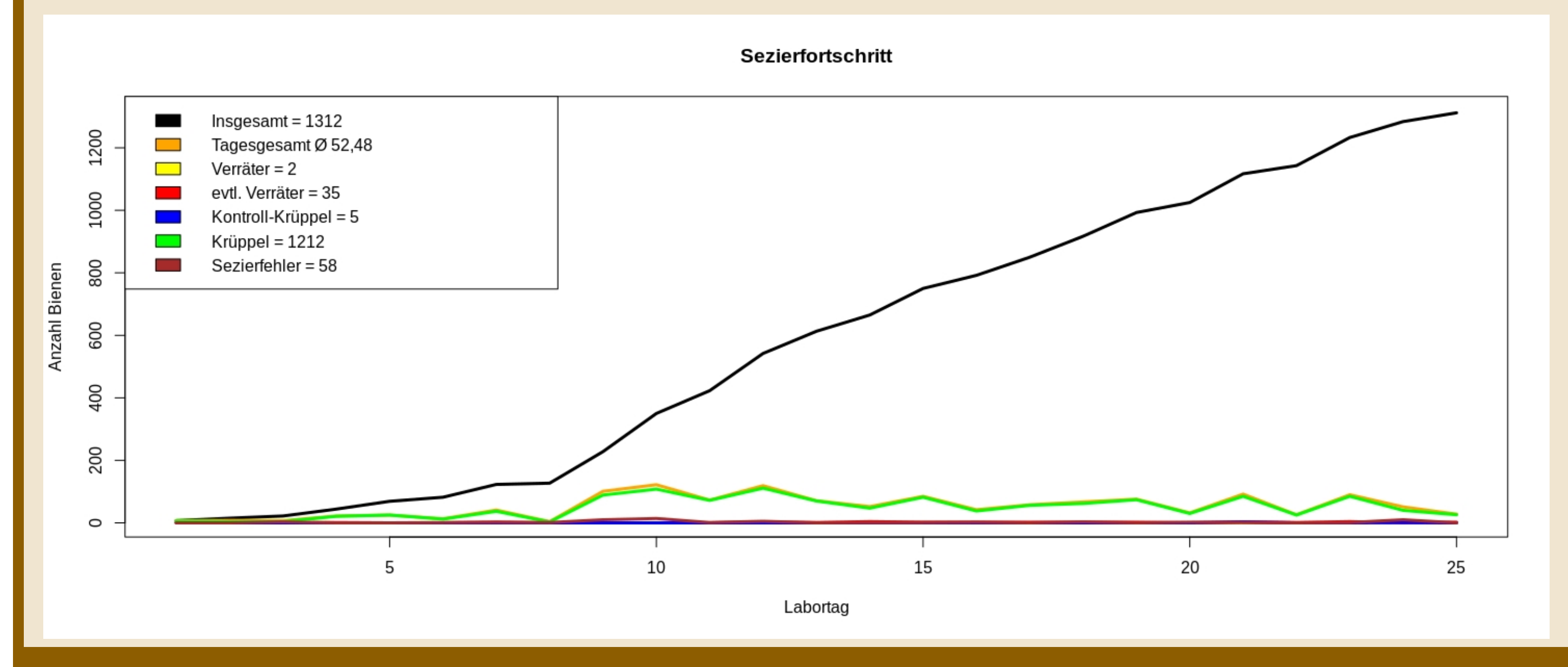
Mikrosatelliten sind kurze, repetitive DNA-Sequenzabschnitte und weisen eine relativ hohe Mutationsrate auf. Sie variieren so nicht nur interspezifisch, sondern auch intraspezifisch und eignen sich somit zur Analyse von Verwandtschaftsverhältnissen.

Bei einem diploiden Chromosomensatz, wie bei der Biene, gibt es für jedes Gen zwei Genvarianten, Allele, an einem Locus. Je ein Allel wird von je einem Elter vererbt. Da die Drohnen nur über einen haploiden, also einen einfachen Chromosomensatz verfügen, können sie nur ein Allel an ihre Nachkommen vererben. Haben also zwei Arbeiterinnen das gleiche Allel an einem Locus, stammen diese von derselben Drohne ab und sind somit Vollschwwestern. Des Weiteren können durch Ähnlichkeitsvergleiche der DNA-Sequenzen Aussagen dazu getroffen werden, wie eng Individuen miteinander verwandt sind.



## Zwischenergebnisse und Ausblick

Insgesamt haben wir ca. 1300 Bienen seziiert. Hiervon hatten 37 Ovarien, die deutlich weiter entwickelt waren, als die der anderen Arbeiterinnen. Aus dieser Gruppe haben wir die 6 mit den am deutlichsten entwickelten Ovarien ausgewählt, um ihre DNA zu extrahieren und eine Mikrosatellitenanalyse durchzuführen. Anhand dieser wird erkennbar sein, ob es sich bei den möglicherweise fertilen Bienen um Vollschwwestern handelt. Dies würde auf eine genetische Ursache hindeuten. Sollte dies der Fall sein, werden wir eine Analyse der Gene CSD, Krh1 und Notch Receptor durchführen, um zu sehen, ob sich deren Sequenz von der unfertilen Bienen unterscheidet.



## Danksagung

Ganz herzlich bedanken wir uns bei:

Unserem Betreuer und Mentor **Prof. Dr. Christoph Bleidorn!**

Den **Mitarbeitern der Abteilung Evolution und Biodiversität der Tiere**, insbesondere **Katharina Henze!**

**Susanne Jahn** aus der Agrarökologie, **Felix Kirsch** aus der Funktionellen Agrobiodiversität und **Gunter Künkel**, die uns Bienenvölker gespendet haben!

Den **OrganisatorInnen von FoLL**, insbesondere **Susanne Wimmelmann!**