

Abschlussbericht OPG SETBie in Baden-Württemberg

Text: Birgit Gessler und Gerhard Kottek

A Kurzdarstellung

I. Ausgangssituation

Die Varroamilbe (*Varroa destructor*) ist ein Parasit von heimischen Bienenvölkern der westlichen Honigbiene *Apis mellifera*. Die Milbe vermehrt sich in der Brut in einem Bienenvolk und kann Krankheiten übertragen. Eine sehr hohe Anzahl an Milben in einem Bienenvolk verursacht enorme Schäden und periodisch auftretende hohe Völkerverluste. Der Imker versucht die Anzahl an Milben durch regelmäßige chemische Bekämpfungen oder aufwendige biotechnische Verfahren zu reduzieren. Um diesen wiederkehrenden Kreislauf nachhaltig zu durchbrechen, muss eine züchterische Lösung durch die Selektion varroatoleranter Bienenvölker etabliert werden.

II: Projektziel und Aufgabenstellung

Die Ziele des Projektes waren:

- Varroatolerante Bienenvölker in Baden-Württemberg zu finden.
- Die Etablierung der klassischen Zuchtmethodik.
- Die varroatoleranten Linien in die Landesbienenzucht einzuführen.
- Durch genetische Analysen die Grundlagen für eine auf genetische Marker gestützte Selektion zu legen um die aufwändige klassische Selektion zu unterstützen.

III. Mitglieder der OPG

Die OPG SETBie besteht zuletzt aus 32 praktischen Imkern (davon 23 züchterisch aktiv), den Imkerverbänden Württemberg, Baden und Buckfast Süd, der Universität Hohenheim mit dem Fachgebiet Populationsgenomik bei Nutztieren am Institut für Nutztierwissenschaften sowie der Landesanstalt für Bienenkunde, der Universität Tübingen mit dem Zentrum für quantitative Biologie (QBiC) und der Arista Bee Research-Stiftung aus Beers (Niederlande).

IV. Projektgebiet

Projektgebiet war ganz Baden-Württemberg.

V. Projektlaufzeit und -dauer

Das Projekt SETBie in Baden-Württemberg lief vom 1.1.2019 bis zum 31.12.2022.

VI: Budget

Als Gesamtkosten wurden 678.580 € veranschlagt. Davon Kosten der Zusammenarbeit 66.878 €, allgemeine Betriebskosten 7.446 €, Kosten der Durchführung 538.664, Investitionen 35.941 €, nicht zuwendungsfähige Kosten (Umsatzsteuer) 29.649 €.

Finanzierung: Zuschüsse 634.551 €, Eigenmittel von Akteuren 43.900 €, Finanzierung durch Dritte 900 €.

VII. Ablauf des Vorhabens

Jedes Frühjahr wurden Prüfköniginnen gezogen, die mehrheitlich Ende Mai / Anfang Juni instrumentell besamt wurden. In den Zuchtplan dafür flossen die Informationen der Auswertungen der Uni Hohenheim und der Aristastiftung ein. Ziel war es jeweils Wunschkombinationen für die Genomanalyse als auch möglichst viele hochprozentige Königinnen auf genetischer Breite zu erhalten.

Die verwendeten Drohnen bei der Besamung wurden als Proben für genetische Analysen gesichert. Die Begattung weiterer Königinnen erfolgte auf Belegstellen. Die Haltung der Prüfköniginnen erfolgte in kleinen Völkchen (Miniplusbeuten). Diese Völkchen wurden etwa Mitte Juli mit je 180 Varroamilben infiziert und Ende Juli Anfang August zentral im Hofgut Tachenhausen ausgewertet. Bei der Auswertung wurden die verdeckelten Brutzellen geöffnet und nachgesehen, wie hoch der Milbenbefall ist und ermittelt wie hoch der Anteil der sich nicht vermehrenden Milben ist. Völkchen mit einem hohen Anteil an sich nicht vermehrenden Milben wurden als varroatolerant selektiert. Mit dieser Analyse der nicht reproduzierenden Milben in einem Bienenvolk wird der SMR- Wert (Suppressed Mite Reproduction) ermittelt. Ca. 40 der Prüfvölker wurden zur weiteren Überprüfung durch Direktinfektion von einer Milbe in eine Zelle und zur Probennahme für die genetischen Analysen an der Universität Hohenheim weiterbearbeitet. Bei der Direktinfektion wird die Varroa Sensitive Hygiene (VSH) des Bienenvolks beurteilt. Hierbei wurden pro Volk in 30 Brutzellen eine Milbe in die Zelle eingesetzt und 30 Brutzellen geöffnet und wiederverschlossen (Kontrolle). Die Zellen wurden markiert und die Wabe zurück ins Volk gehängt. Nach 8 Tagen konnte das Ausräumverhalten (Hygieneverhalten) der Zellen betrachtet werden. Die Methode der Direktinfektion ermöglichte eine Analyse der direkten Reaktion der erwachsenen Bienen auf diese infizierten. Im optimalen Fall sollten alle 30 mit milbeninfizierten Zellen ausgeräumt worden sein und alle 30 Kontrollzellen sollten noch vorhanden sein.

Am Ende der Brutauszählung im Hofgut Tachenhausen wurden auf Basis der Empfehlungen der Aristastiftung die Selektionsentscheidungen getroffen welche Königinnen verworfen und mit welchen weiter gezüchtet wurden.

Von den positiv selektierten Königinnen wurden, wenn möglich, noch Nachzuchten gemacht, um von diesen die Drohnen im nächsten Jahr zur Besamung verwenden zu können. Die positiv selektierten Völkchen und deren Nachzuchten wurden von den Imkern eingewintert, um für die nächste Zuchtsaison als Ausgangsmaterial verwendet werden zu können.

Die Proben für die genetischen Analysen wurden bei der Besamung und im August gesammelt. Für die genetischen Analysen wurden Proben von Bienenvölkern, die ein stark ausgeprägtes Merkmal der Varroa Sensitiven Hygiene (VSH) zeigten mit Bienenvölkern verglichen, bei denen die Ausprägung nur sehr gering ausfiel. Nach der Extraktion der DNA und RNA an der Universität Hohenheim, wurden das Material in Tübingen bei der Firma CeGaT GmbH sequenziert und die ersten bioinformatischen Analysen am Zentrum für quantitative Bioinformatik (QBiC) in Tübingen durchgeführt.

Der Ablauf der Nachzuchten, der Prüfköniginnen, die Bereitstellung von Drohnenvölkern, die Milbeninfektion der kleinen Bienenvölker sowie der Nachkontrolle mittels der Direktinfektion an der Universität einschließlich der Probennahme erfolgte jährlich während der Projektlaufzeit. Weiterhin wurden Nachzuchten von vielversprechenden Völkern gezüchtet und diese zum Vergleich mit Wirtschaftsvölkern auf Vitalitätsstandorten aufgestellt und begutachtet.

VIII. Zusammenfassung der Ergebnisse der Universität Hohenheim

Insgesamt wurden 1438 besamte oder belegstellenbegattete Königinnen in Prüfvölkern gehalten. Von diesen kam insgesamt 798 Völker zur SMR Auswertung auf das Hofgut in Tachenhausen. Der SMR-Wert sagt aus wieviel Prozent nicht reproduktive Milben in den auswertbaren Zellen gefunden wurden. Auswertbare Zellen sind Zellen mit den Puppenstadien mit pinken, violetten oder schwarzen Augen und mit Milbenbefall. Zellen mit weißäugigen Puppen sind nicht zu werten. Von den 798 Völkern wurden jedes Jahr 37 bis 47 Völker ausgewählt (insgesamt 124 Völker), die per Direktinfektion an der Universität Hohenheim auf ihre VSH Werte geprüft wurden.

Bei der SMR Auswertung ist zu beachten, dass erst eine Anzahl von 10 gefundenen Milben eine statistisch aussagekräftige Bewertung zulässt, deshalb konnten nur in 299 Völkern ein klarer SMR Wert bestimmt werden, die verbliebenen 499 Völker zeigen nur Tendenzen bezüglich des SMR Wertes auf. Das bedeutet jedoch nicht, dass diese Völker nicht gut in ihrem VSH Verhalten bewertet werden können. VSH ist eines von mehreren Merkmalen, die zu SMR führen können. Deshalb ist der SMR-Wert nicht direkt übersetzbar in einen VSH-Wert. Aus dem 299 Völkern konnten 116 Völker identifiziert werden die einen höheren SMR Wert als 40% zeigten (Abb. 1). 40% SMR wurde auch in natürlich überlebenden Völkern gemessen (Locke et al. 2012) und kann somit als Referenz bzw. Schwellenwert angenommen werden.

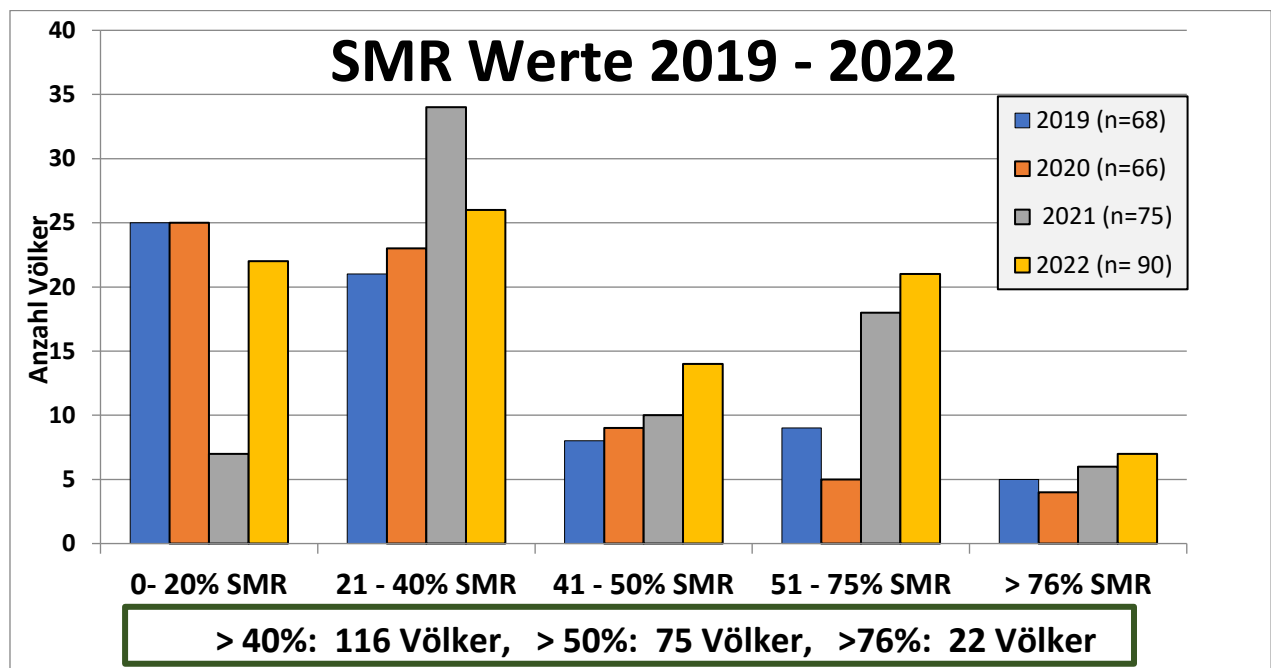


Abbildung 1: Darstellung der SMR Werte der Völker aufgetrennt pro Jahr

Anteile der Unterarten mit SMR-Wert über 40%:

Buckfast.	80,87%	(93 von 228 wertbaren Völkern – 41%)
Carnica:	10,43%	(12 von 40 wertbaren Völkern – 30%)
Mellifera:	8,7%	(10 von 29 wertbaren Völkern – 34%)

In 71 Völker der 124 auf VSH getesteten Völkern konnten gute Werte über 50% verzeichnet werden (Abb. 2). Hierbei muss jedoch zusätzlich erwähnt werden, dass bewusst auch Kontrollvölker mit zu erwarteten schlechten Werten mitgenommen und geprüft wurden, da diese für die genetischen Analysen sehr wichtig sind, um einen vergleichenden Wert zu erhalten.

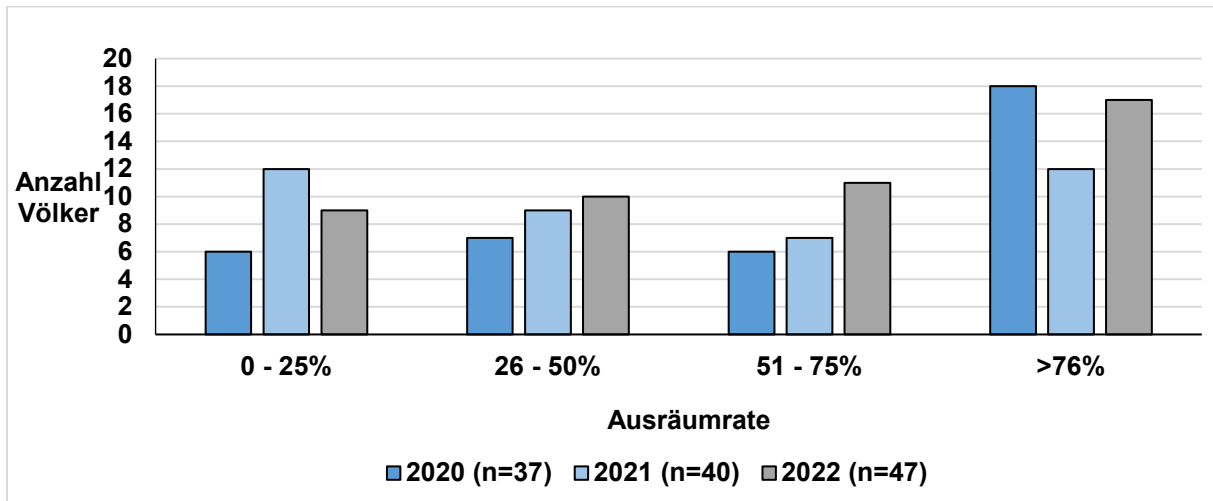


Abbildung 2: Darstellung der Ausräumraten der per Direktinfektion mit Milben infizierten Zellen der Völker aufgetrennt pro Jahr (VSH Auswertung).

Die Betrachtung der Kontrollzellen (Öffnen und Wiederverschließen der Zelle, ohne eine Milbe einzusetzen) innerhalb der VSH Bewertung (Abb. 3) zeigt zudem das die gezüchteten Völker eine spezifischeres auf Varroa bezogenes Verhalten gezeigt haben. 2022 wurde kein hypersensitives Volk (Wert über 75% in der Kontrolle) gemessen.

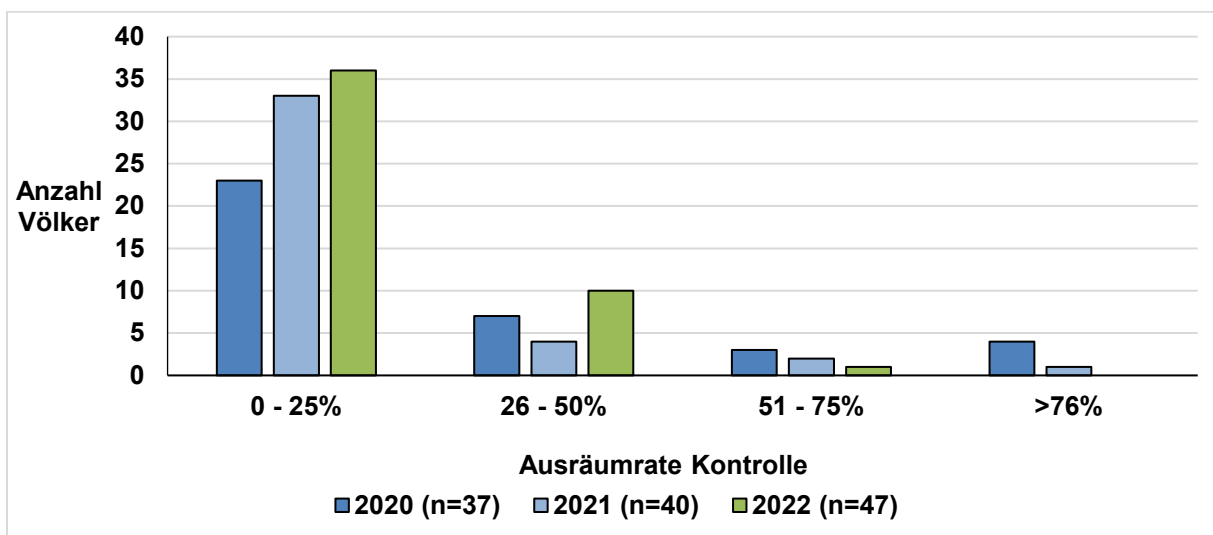


Abbildung 3: Darstellung der Ausräumraten der per Direktinfektion erstellten Kontrollzellen der Völker aufgetrennt pro Jahr (VSH Auswertung).

Eine weitere Untersuchung zu der Varianz der Völker innerhalb gleicher Anpaarungen hat gezeigt, dass jedes Jahr gute SMR sowie VSH Werte gefunden werden konnten. Jedoch

bedeutet eine Anpaarung von guten Königinnen mit guten Drohnen aufgrund der hohen Rekombinationsrate der Honigbiene nicht unbedingt, dass alle Nachzuchten wieder sehr gute SMR oder VSH Werte erhalten. Somit muss weiterhin jede Generation getestet werden, um die guten Völker zu identifizieren.

Bei dem innovativen Aspekt in diesem Projekt wurde genetischen Analysen durchgeführt, um Marker zu identifizieren, die mit VSH assoziiert sind sowie die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen im Zusammenhang mit VSH besser zu verstehen.

Dazu wurden Bienenproben (Arbeiterinnen) aus Völker mit einem stark ausgeprägtem VSH Merkmal mit den Proben aus einem Volk verglichen, welches dieses Merkmal kaum/ nicht zeigte (Unterscheidung von VSH hoch versus VSH niedrig). Dabei wurde jede Probe auf drei unterschiedliche Arten sequenziert. Die genomische DNA, um Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) zu detektieren, die gesamte mRNA, um die Genexpression zu messen sowie mittels der Bisulfit Sequenzierung mögliche Methylierungen der DNA zu detektieren. Weiterhin wurden die Analysen für die verschiedenen Unterarten *Apis mellifera* (*A.m.*) *carnica*, *A.m. mellifera* und Buckfast durchgeführt. Die umfangreiche Datenanalyse zeigte bei der Qualitätskontrolle sehr gute Ergebnisse.

Bei der Auswertung der genomischen Daten wurden je Volk vor dem Filtern der Daten zwischen 16.000.000 und 18.000.000 SNPs im Vergleich zum Referenzgenom von *Apis mellifera* gefunden. Bei der Auswertung der Kolonien, die mit einem stark ausgeprägtem VSH Merkmal kategorisiert waren und gefilterten SNPs, die zu einer genetischen Veränderung der dazugehörigen Gene im Genom führen, konnten übereinstimmende Gene für alle Unterarten identifiziert werden. Unter diesen übereinstimmenden Genen befinden sich Gene, die biologisch mit Entwicklungsprozessen und mit dem Zentralnervensystem assoziiert sind. Um die weitere Bedeutung für das Merkmal VSH und diesen speziellen Genen herauszuarbeiten, sind weitere Studien sinnvoll.

Die Analyse der Genexpressionsstudie ergab dagegen kaum signifikante Unterschiede zwischen der Kategorie VSH hoch und niedrig sowie den verschiedenen Unterarten. Zusammen mit den Ergebnissen der Bisulfit Sequenzierung (lagen beim Verfassen des Berichts noch nicht vor) kann nach genetischen Grundlagen für das Merkmal VSH gesucht werden. Durch die vorliegenden Analysen scheinen komplexe Zusammenhänge die Grundlagen für das komplexe Merkmal VSH zu sein.

B Eingehende Darstellung

I. Verwendung der Zuwendung

Die detaillierte Verwendung der Zuwendung ergibt sich aus den Beleglisten zu jedem Abruf. Nachfolgend der Kostenvergleich Plan – Ist zum Schlussabruf:

Nr.	Zuwendungsfähige Ausgaben	Gesamt	Plan Antrag	Gesamt-Plan Antrag
1.	Laufende Kosten der Zusammenarbeit			Planstand 26.11.20
1.1	Projektkoordinator	40.007,81	49.642,05	-9.634,24
1.2	Reisekosten der Akteurinnen und Akteure	25.291,39	17.236,45	8.054,94
	Summe Nr 1	65.299,20	66.878,50	-1.579,30

Abschlussbericht OPG SETBie in Baden-Württemberg (2019-2022)

2.	Allgemeine Betriebskosten			
2.1	15% der Personalausgaben Projektkoordinator	6.001,18	7.446,31	-1.445,13
	Summe Nr 2	6.001,18	7.446,31	-1.445,13
3.	Kosten für die Durchführung			
3.1	Personalkosten bei Imker	104.708,46	73.660,91	31.047,55
3.2	Personalkosten bei LAB	29.169,47	38.841,02	-9.671,55
3.3	Personalkosten bei Uni Hohenheim und Tübingen	267.766,89	243.502,40	24.264,49
3.4	Personalkosten Arista	64.062,00	62.552,00	1.510,00
3.5	Sachausgaben bei den Akteuren	45.528,90	105.472,57	-59.943,67
3.6	Projektbezogene Aufträge an Dritte	53.148,60	14.635,35	38.513,25
	Summe Nr. 3	564.384,32	538.664,25	25.720,07
4.	Investitionskosten			
4.1	Beuten, Geräte	18.370,08	35.941,62	-17.571,54
	Summe Nr. 4	18.370,08	35.941,62	-17.571,54
5.	Kosten von Studien	0,00	0,00	0,00
	Summe Nr. 5	0,00	0,00	0,00
6.	Gesamtsumme der zuwendungsfähigen Ausgaben	654.054,78	648.930,69	5.124,10
	maximal für Zuschuss	648.930,68	648.930,68	0,00
7.	Nicht zuwendungsfähige Kosten			
7.1	Umsatzsteuer	13.451,59	29.649,41	-16.197,82
	Summe Nr. 7	13.451,59	29.649,41	-16.197,82
	Gesamtausgaben	667.506,37	678.580,10	-11.073,72

Zuschüsse	Festsetzung 21.3.2022		630.223,02
Abruf 1		ausgezahlt	73.763,83
Abruf 2		ausgezahlt	113.723,60
Abruf 3		ausgezahlt	213.206,10
Abruf 4		abgerufen	91.148,34
Schlussabruf			130.289,70
Summe Abrufe			622.131,57
Saldo festgesetzt - Abrufe			8.091,45

Die Zuwendungen wurden zum weit überwiegenden Teil für die angefallenen Personalkosten verwendet. Die angeschafften Investitionsgüter wie Beuten und Mikroskope, sowie ein Besamungsgerät wurden im Projekt verwendet. Die Mikroskope und das Besamungsgerät (langlebige Investitionsgüter) wurden an folgende Akteure übertragen und können für weitere Arbeiten zur Verfügung gestellt werden.

Name, email	Anzahl Besamungs- gerät	Anzahl Binokular
Martin Rößner, info@biomasse-roessner.de	0	1
Faik Simsek, Asfaik@gmail.com	0	1
Alexander Macho, am@sonnen-zeit.de	0	1
Riko Schückmüller, imker-rottweil@gmx.de	0	1
Uwe Bitzenbauer, Ubitzenbauer@gmx.de	0	1
Imkerverband Württemberg Dr. Dr. Horn immehorn@gmx.de	0	5
Team Hoher Randen info@zimmermeister-mess.de	0	2
Buckfast Süd info@hohenzollernapotheke.de Standort Hauptstraße 7 72505 Krauchenwies	0	3
Uni Hohenheim LAB kirsten.traynor@uni-hohenheim.de	0	10
Summen	0	25
Verband badischer Imker H. Famulla leo.famulla@t-online.de	1	0

II. Erläuterung zur Situation bei Projektbeginn

a) Ausgangssituation

Bienenmaterial: Einzelne Imker hatten in Vorversuchen bereits Erfahrung mit der Methodik der künstlichen Besamung von Königinnen und der Milbeninfektion von Prüfvölkern gesammelt und vorselektiertes Zuchtmaterial eingebracht. In der Unterart *Carnica* wurde auf Zuchtlinien aus dem deutschlandweit agierenden AGT-Material zurückgegriffen, welches in Baden-Württemberg vorhanden war.

Genetik: Verschiedene frühere Studien anderer Arbeitsgruppen hatten Hinweise gezeigt, dass im Genom der Honigbiene mögliche Assoziationen zum Hygieneverhalten existieren. Dabei besteht jedoch die Herausforderung, dass nicht bekannt war, wie stabil auch über mehrere Generationen solche Assoziationen erhalten bleiben. Dabei spielen besonders die hohe genomweite Rekombinationsrate der Honigbiene und die Paarungsbiologie eine wichtige Rolle, die in jeder Generation in einem hohen Maße zur Durchmischung möglicher genetischer Marker führt.

b) Projektaufgabenstellung

Klassische Zucht: Aus dem vorhandenen Bienenherkünften sollten Linien mit hoher Varroatoleranz entwickelt werden. Es wurden eigene Herkünfte aber auch Herkünfte von anderen Zuchtgruppen verwendet und miteinander kombiniert.

Genetik: Ein vergleichender Ansatz, sowohl über verschiedene Unterarten als auch über mehrere Generationen unter Betrachtung erstmalig aller drei wesentlicher Regulationsebenen (genomische DNA, mRNA und Methylierung) war vor den oben aufgeführten Hintergründen angezeigt, mit dem Ziel potentielle Genomregionen und/oder genetische Varianten als Marker einzugrenzen.

III. Ergebnisse in Bezug auf

a) Zusammenarbeit: Die Abstimmung der Arbeiten erfolgte über den Koordinator. Im Frühjahr und Herbst wurden die nötigen Schritte besprochen und dazu Beschlüsse gefasst. Der Koordinator entwarf dem Zuchtplan und stimmte diesen mit den Imkern sowie mit den beteiligten Mitarbeitern der Universität Hohenheim ab. Der Koordinator gab jedes Jahr den Ablauf vor, weil termingenaues Arbeiten im Hinblick auf die gemeinsamen Aktionen wie Besamung oder Milbenausählung in Tachenhausen nötig war. Zu den einzelnen Arbeitsschritten wurden auch immer wieder Erinnerungsmails verschickt. Die Imker kooperierten mit Imkern in ihrer Nähe, es bildeten sich Zuchtgruppen in diesem Projekt. Eine weitere Vernetzung wurde durch eine WhatsApp-Gruppe erreicht. Die Schulungen von Seiten der Projektbeteiligten von der Universität Hohenheim und die neu entworfene Homepage des SETBie Projekts (<https://setbie.uni-hohenheim.de>) mit einem verschlüsselten internen Bereich boten weitere Informationen für die SETBie Imker/ Teilnehmer.

In den Jahren 2020 bis 2022 hat Arista, repräsentiert durch Dr. Guillaume Misslin, wertvolle praktische Unterstützung bei der Besamung in Kreßberg geleistet. Darüber hinaus war Dr. Misslin bei den Auszählaktionen auf dem Hofgut in Tachenhausen beteiligt und wertete die erhobenen Daten nach dem Arista Protokoll aus. Auf Basis der Auszählbögen wurde der Wert der Varroa Sensitiven Hygiene (VSH) geschätzt. Dies geschah in Übereinstimmung mit dem Arista-Protokoll.

b) Mehrwert OPG-Format: Die OPG erwies sich als nützlich beim Wissenstransfer von den Universität Hohenheim Mitarbeitern zu den Imkern, speziell bei Genetik Themen, zur Praxis und der Imker untereinander. Durch die Koordination konnten konkrete Arbeitsanweisungen in Abstimmung mit Imkern und der wissenschaftlichen Mitarbeiter entwickelt werden. Dadurch konnte auch die Methodik der Selektion in der klassischen Züchtung den Neueinsteigern vermittelt werden. Die Abgabe von Zuchtmaterial innerhalb der OPG führte zur weiteren Bearbeitung von Linien durch neue Imker, die sonst aus Kapazitätsgründen vom Ursprungszüchtern nicht hätten weitergeführt werden können. Dadurch wurde eine größere genetische Breite erreicht.

c) Weitere Zusammenarbeit: Einige Imker haben erklärt, die Arbeit zur Selektion auf Varroatoleranz weiter gemeinsam fortzuführen, um auch den Zuchtfortschritt dauerhaft weiter zu entwickeln und zu halten. Auch bei Anpaarungen von hochtoleranten Herkünften untereinander gab es aufgrund der Rekombinationen auch immer niedrigprozentige Prüfvölker. Das untermauert die Anforderung nach einer dauerhaften Selektion. Der Arbeits- und Materialaufwand dafür ist erheblich, weshalb eine dauerhafte Finanzierung dieser Zuchtarbeit geboten ist.

IV Ergebnisse des Innovationsprojektes

a) Folgende Innovationen wurden erreicht: Die Methodik der Selektion konnte Neueinsteigern in dem Projekt vermittelt werden. Es wurden viele hochtolerante Königinnen gefunden. Einige Völker aus den Jahren 2019 und 2020 haben bis Projektende ohne jegliche chemische oder biologische Varroabehandlung nicht nur überlebt, sondern brachten auch ansprechende Honigerträge, waren sanftmütig und gut zu führen.

b) Abweichungen zwischen Plan und Ergebnis: Es wurde mit einem Selektionserfolg von ca. 5% aus den erstellten Prüfvölkchen kalkuliert. Dieser Wert lag anfangs bei nur 3% stieg dann an und lag im Schnitt bei 7 –8%. Der Output an hochtoleranten Königinnen lag weit über Plan. Leider konnten die Vitalitätstests nur in geringerem Maß wie geplant erfolgen.

Die genetischen Analysen konnten zum Großteil während der Projektlaufzeit abgeschlossen werden. Auch wenn die echten, robusten genetischen Marker, die mit VSH assoziiert sind, nicht eindeutig verifiziert werden konnten, wurden in diesem Projekt die Grundlagen dazu gelegt. Die Ergebnisse der identifizierten, genomischen SNPs bzw. Gene sind vielversprechend und müssen in nachfolgenden Kreuzungen überprüft werden. Hierzu wären Genotypisierungsplattformen (Biomark), oder Genomsequenzierungen geeignet.

c) **Projektverlauf:** Der Ablauf war jährlich im Wesentlichen gleich.



Abbildung 5: In der Gemeinde Kreßberg standen jedes Jahr die Räumlichkeiten des Bieneninformationszentrum zur Verfügung, um hier die instrumentelle Besamung der nachgezüchteten Königinnen mit hochwertigen Drohnen (Drohnenvölker Bild D) durchzuführen. Aufgrund der sehr guten Organisation dieser mehrtätigen Veranstaltung und der hervorragenden Zusammenarbeit zwischen Imkern und den erfahrenen Besamern konnten innerhalb der vier Projektjahre 1438 Königinnen besamt werden. (Collage: B.Gessler)



Abbildung 6: Etwa zwei Monate nach der instrumentellen Besamung (Mitte Juli) wurden von den Imkern die kleinen Bienenvölker mit 180 Varroamilben infiziert. Auf dem Hofgut Tachenhausen (Oberboihingen) wurden Ende Juli die Brutzellen auf einer Wabe geöffnet und die Zellen auf das Vorhandensein von Varroamilben kontrolliert. Für diese aufwendige Arbeit bekamen die SETBie Imker von interessierten externen Imkern sowie Mitarbeitern und zahlreichen Studenten der Universität Hohenheim mit dem Fachgebiet für Populationsgenomik bei Nutztieren und der Landesanstalt für Bienenkunde Unterstützung. Viele der notwendigen Mikroskope und Lampen für die Auswertung wurden von Arista Bee Research zur Verfügung gestellt. Alle Interessierte wurden von dem Arista Projektmitarbeiter Dr.Guillaume Misslin über die praktische Durchführung der Auswertung informiert (Bild A). (Collage: B.Gessler)

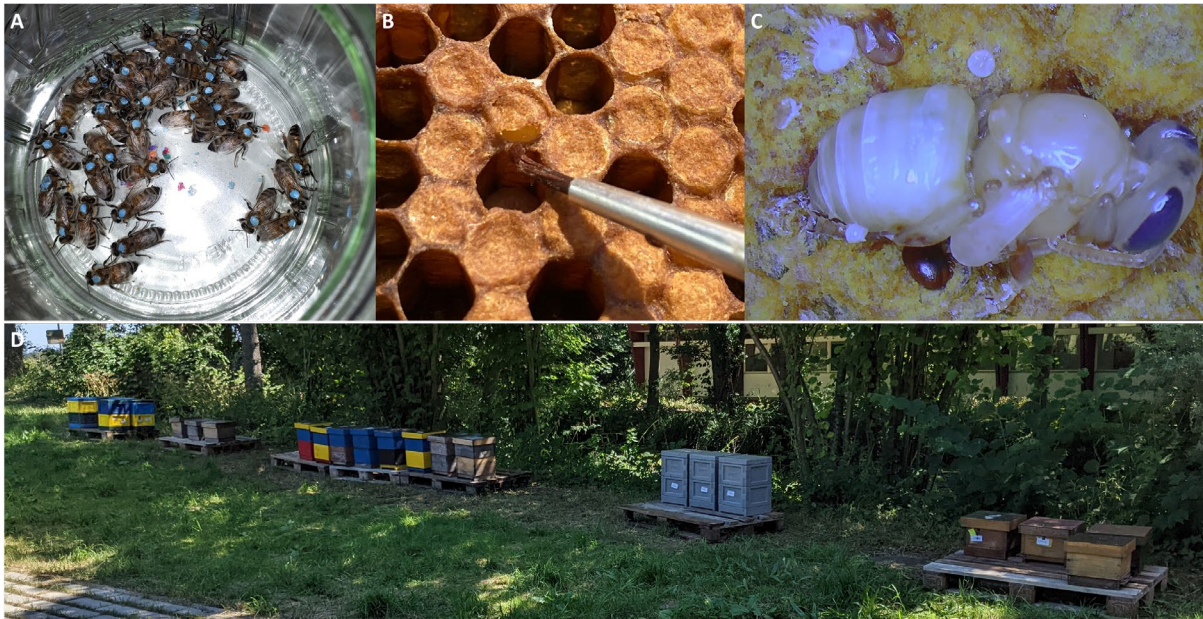


Abbildung 7: Etwa 35-40 interessante Völker und Kontrollvölker aus Tachenhausen wurde an der Universität Hohenheim im August nochmals auf VSH untersucht. Gleichzeitig erfolgte die Probennahme für die genetischen Analysen von altersstandartisierte Arbeiterinnen. Zur Identifikation der Arbeiterinnen wurden diese nach dem Schlupf volksspezifisch markiert (Bild a). Auch hier wurden bei der Auswertung die Nachkommen einer Varroamilbe in einer Zelle notiert (Bienenpuppe mit Varroamilben Familie- Bild C). (Collage: B.Gessler)



Abbildung 8: Bilder der Schulung der SETBie Imker von Theorie und Praxis zum Thema Varroamilbe im Sommer 2019. (Collage: B.Gessler)



Abbildung 9: Die SETBie Imker erlernten bei der Schulung die Methode der Direktinfektion zum Nachweis von VSH (2021). Dazu wurden die Schritte in Theorie und Praxis (Bilder A bis D) erklärt. Bei der Wiederholung der Schulung nahmen auch interessierte Imker aus Baden-Württemberg im Jahr 2022 (ohne Bilder) teil. (Collage: B.Gessler)

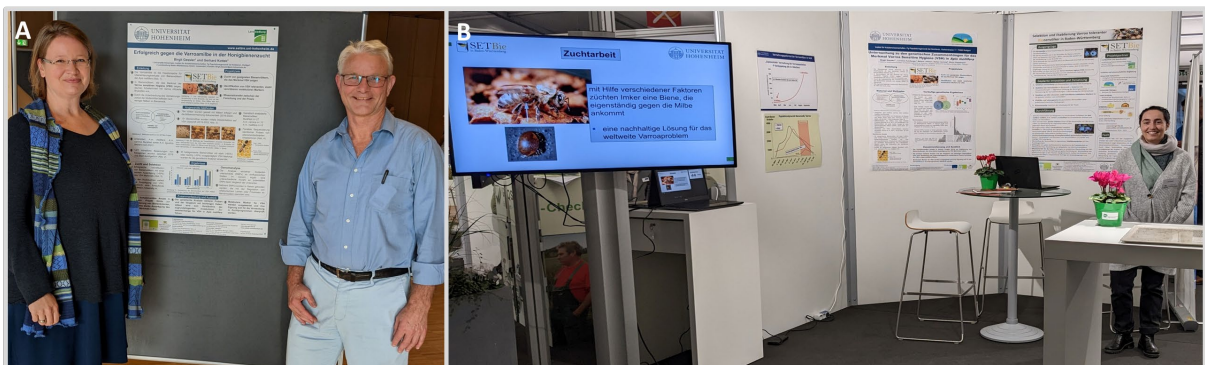


Abbildung 10: Das Projekt SETBie in Baden-Württemberg wurde Imkern mit Beiträgen auf nationalen und internationalen Fachzeitschriften vorgestellt. Weiterhin wurden Vorträge bei Imkervereinen in Deutschland sowie auf nationalen und internationalen wissenschaftlichen Konferenzen gehalten. Auf der Homepage des Projekts können sich Interessierte über das Projekt informieren. Birgit Gessler und Gerhard Kottek beim MLR Ergebnistransfer 2022 (Bild A); Lina Sprau beim Landwirtschaftlichen Hauptfest 2022 am Stand vom MLR (Bild B) (Bilder: Birgit Gessler).

d) **Beitrag zu förderpolitischen Zielen:** Das Projekt SETBie hatte den Fokus auf Tierwohl, tiergerechte wettbewerbsfähige gesellschaftlich akzeptierte Nutztierhaltung, Senkung der chemischen Behandlungen und damit der Vermeidung von Rückstandsproblematik sowie Erhalt der Biodiversität. Durch die Selektion von varroatoleranten Linien wurde bewiesen, dass diese Ziele bei entsprechendem Mitteleinsatz erreicht werden können. Die etablierte Methodik kann in die allgemeine Zuchtarbeit eingebaut werden. Die varroatoleranten Linien können zur weiteren Etablierung der Genetik genutzt werden.

e) **Nebenergebnisse:** Es haben sich Züchtergruppen gebildet, die erklärt haben weiter zusammenzuarbeiten.

f) **Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben:** Hier sind die Vitalitätstests zu nennen. Diese haben nicht zu den gewünschten Ergebnissen geführt. Es läuft noch ein Vitalitätstest über das Projekt hinaus. Dieser soll nicht nur das Überleben ohne Behandlung testen sondern auch Aussagen über die agronomischen Eigenschaften der Prüfvölker liefern. Das Ergebnis bleibt abzuwarten.

V. **Nutzen der Ergebnisse für die Praxis:** Die Methoden der Direktinfektion und der Auszählung der Milben in der Brut, wie auch die Eindrohnbesamung funktionieren in der Selektion von varroatoleranten Völkern. Es wurden Arbeitsanleitungen und Ablaufplanungen entwickelt, die jeder Züchter anwenden kann.

VI. **Verwertung und Nutzung der Ergebnisse:** Die Methoden können in der allgemeinen Zuchtarbeit eingesetzt werden. Die entwickelten Arbeitsanleitungen dienen den Imkern zur verbesserten Abschätzung der Varroatoleranz in ihren Völkern. Darüber hinaus sind die Ergebnisse relevant für eine präzisere Bestimmung des Zuchtmaterials.

Es wurden Grundlagen für weitere Forschungen erarbeitet. Die genetischen Daten zeigen deutlich eine Unterarten-spezifische Differenzierung in der Honigbiene in Bezug auf Hygieneverhalten, welches es besser zu verstehen gilt.

VII **Wirtschaftliche und wissenschaftliche Anschlussfähigkeit:**

Durch weiterführende Zuchtarbeit und stringente Prüfung des Zuchtmaterials, sowohl phänotypisch als auch genetisch kann es gelingen, die Varroatoleranz in der Bienenpopulation der Imkerschaft weiter zu verbreiten. Dabei sollten neueste Entwicklungen und Erkenntnisse, sowohl in der Bestimmung von Kennzahlen zum Hygieneverhalten, als auch der Genetik (genomische SNP-Chips, genomischen Selektion) und der Völkerführung (Dynamik von Honigbienen- und Varroaentwicklung) berücksichtigt werden.

VII **Nutzung Innovationsdienstleister:** ein Innovationsdienstleister wurde nicht installiert.

IX. Kommunikations- und Disseminationskonzept:

Versammlungen der OPG SETBie fanden jedes Frühjahr und im Herbst statt. Soweit möglich wurde diese in Präsenz, coronabedingt auch online abgehalten. Hierzu waren jeweils auch interessierte Menschen eingeladen. Zu jedem Treffen wurde ein Protokoll erstellt. Diese liegen als Anhang bei.

Beiträge (Vortrag oder Poster) an nationalen und internationalen Konferenzen:

Birgit Gessler

1. 10/2020 16th COLOSS eKonferenz; Tagungsbeitrag: ``Detecting molecular markers for Varroa sensitive Hygiene (VSH) trait in honeybees." (Blitzvortrag)
2. 03/2021 Teilnahme AG Bienentagung online Konferenz, Göttingen; Tagungsbeitrag: Vortrag mit dem Titel: SETBie: Innovative combination of classical breeding, genetic analysis and evaluation in the practice. (Vortrag)
3. 04/2021 CSHL- Cold Spring Harbor Laboratory, New York (USA)-Biology of Genomics & Social Insects, online Konferenz; Tagungsbeitrag: Eat me or not- insights into molecular underpinnings leading to the diploid drone discrimination in the western honey bee *Apis mellifera*. (Poster)
4. 03/2022 Frühjahrstagung Schloss Kirchberg; VSH- Zwischenergebnisse aus dem SETBie Projekt. (Vortrag)
5. 03/2022 SICAMM- International Association for the Protection of the European Dark Bee; SICAMM Online Conference 2021/22; A comprehensive approach for detecting molecular marker linked to VSH trait in honeybees. (Vortrag)
6. 04/2022 AG Bienentagung Hohenheim; The fight against the mite using artificial insemination, infestation and high-throughput sequencing (Poster)
7. 07/2022 IUSSI- International Union for the Study of Social Insects, San Diego (USA); Deciphering the genetic mechanisms for Varroa sensitive hygiene (VSH) in *Apis mellifera*. (Poster, Online Teilnahme)
8. 2022 Gessler, Birgit; Gemeinsam und innovativ gegen die Varroamilbe in der Honigbienenzucht; MLR Ergebnisblatt für das Stuttgarter Hauptfest 2022 (Poster)
9. 2022 Gessler, Birgit und Kottek, Gerhard: Erfolgreich gegen die Varroamilbe in der Honigbienenzucht. MLR EIP Ergebnistranser 2022 (Poster)

Lina Sprau

1. 10/2020 16th COLOSS eKonferenz; Tagungsbeitrag: ``Artificial infestation method to validate VSH trait in honey bees." (Blitzvortrag)
2. 03/2021 Teilnahme AG Bienentagung online Konferenz, Göttingen; Tagungsbeitrag: Die Reproduktion der Varroamilbe (*Varroa destructor*) ist **kein** Auslöser für Varroa Sensitive Hygiene (VSH) oder für das Recapping Verhalten. (Vortrag)
3. 10/2021 DBIB Berufs- und Erwerbssimkertage in Friedrichshafen: Suppressed mite reproduction (SMR), Varroa Sensitive Hygiene (VSH), Recapping (REC) (Vortrag)
4. 04/2022 Teilnahme AG Bienentagung Konferenz, Hohenheim; Tagungsbeitrag: Sind VSH und/oder SMR die Lösung für das Varroa-Problem? Die Zwischenbilanz des Kooperationsprojektes SETBie nach drei Jahren selektiver Züchtung (Vortrag)
5. 09/2022 Congress of Apidology EurBee 2022, Belgrad; Serbien: Reproduction of *Varroa destructor* and its impact on varroa sensitive hygiene (VSH) and recapping behaviour in honey bee colonies (*Apis mellifera*) (Vortrag)

6. 10/2022 Hohenheimer Tag der Landesanstalt für Bienenkunde: Hinter den Kulissen der Varroa Resistenzzucht – SETBie Projekt (Vortrag)

Prof. Dr. Martin Hasselmann

1. 07/2022 IUSSI- International Union for the Study of Social Insects, San Diego (USA); Deciphering the genetic mechanisms for Varroa sensitive hygiene (VSH) in *Apis mellifera*. (Poster, Präsenz)

Gerhard Kottek

1. Landwirtschaftliches Hauptfest 2019: EIP-Projekt „SEtBie“
2. Landwirtschaftliches Hauptfest 2022: EIP-Projekt „SEtBie“

Beiträge in nationalen und internationalen Fachzeitschriften sowie Webseiten:

Birgit Gessler

1. 2021 Gessler, Birgit; SETBie: Innovative Kombination von klassischer Züchtung, genetischer Analyse und Evaluation in der Praxis; Bienenpflege; 05/2021, Seite 260-262.
2. 2021 Gessler, Birgit; Varroatolerante Bienen durch Praxis und Wissenschaft. Deutsches Bienenjournal (2021). 7/2021, Seite 20-21.
3. 2021 Gessler, Birgit; Gemeinsam und innovativ gegen die Varroamilbe. Ökologie und Landbau 03/2021; Seite 36.
4. 2021 Birgit Gessler und Gerhard Kottek; EIP-Projekt: SETBie in Baden-Württemberg. Landentwicklung Aktuell. Ausgabe 2021, Seite 77-78.
5. 2021 Gessler, Birgit (2021) Praxisblatt; Projekt: SETBie in Baden-Württemberg, einsehbar unter <https://foerderung.landwirtschaft-bw.de/pb/Lde/Startseite/Foerderungswegweiser/EIP-Tier?QUERYSTRING=setbie>
6. 2021 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]
7. 2022 Gessler, Birgit; Jahresbericht EIP-Projekt SETBie in Baden-Württemberg 2021; Bienenpflege; 03/2022, Seite 134-137.
8. 2022 Gessler, Birgit; Varroatolerante Bienen züchten; Bienen und Natur; 04/2022; Seite 32-33.
9. 2022 Gessler, Birgit; Jahresbericht EIP-Projekt SETBie in Baden-Württemberg 2021; Der Buckfastimker; Ausgabe 2/2022, Seite 92-95.

Lina Sprau

1. Lina Sprau, 2021 Lina Sprau, Martin Hasselmann, Peter Rosenkranz; Apidologie: Reproduction of Varroa destructor does not elicit varroa sensitive hygiene (VSH) or recapping behaviour in honey bee colonies (*Apis mellifera*); <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00886-2>
2. 2022 Sprau, Lina; Was löst Varroa Hygieneverhalten aus?; Bienen und Natur; 04/2022; Seite 34-35.

Gerhard Kottek

1. Landwirtschaftliches Wochenblatt 2019: EIP-Projekt „SEtBie“
2. Obst&Garten 3/2020: EIP-Projekt „SEtBie“

Vorträge bei Imkervereinen

Birgit Gessler

1. 07/2021 Vortrag im Imkerverein Vaihingen/Enz: Gemeinsam & innovativ gegen die Varroamilbe in der Honigbienezucht das EIP Projekt SETBie in Baden-Württemberg

Lina Sprau

1. 03/2021 Online Vortrag im Imkerverein Aalen: Suppressed mite reproduction (SMR), Varroa sensitive Hygiene (VSH), Recapping (REC)
2. 10/2022 Vortrag im Bienezuchtverein Böblingen e.V.: Varroaresistenzzucht - Stand der Forschung
3. 10/2022 Vortrag im Imkerverein Waiblingen e.V.: Varroa Resistenzzucht - Stand der Forschung
4. Schulung an der Landesanstalt für Bienenkunde:
 - a. Direktinfektionsschulung 2021 und 2022
 - b. 09/2021 Online Vortrag zur Varroamilbe (in Zusammenarbeit mit Carolin Rein)
 - c. 05/2022 Schulung der Multiplikatoren zum Thema Varroa – und Varroaresistenz (in Zusammenarbeit mit Carolin Rein)

Prof. Dr. Martin Hasselmann

1. 04/2021 Landesverband Buckfast Bayern e.V.: Das Projekt SETBie: Innovative Kombination von klassischer Züchtung, genetischer Analyse und Evaluation in der Praxis (Vortrag)
2. 05/2022 Bezirksimkerverein Heilbronn e.V.: Die Grundlagen der genetischen Vielfalt in der Honigbiene – Erkenntnisse und Möglichkeiten für den Alltag (Vortrag)
3. 11/2022 Referententagung Landesverband Württembergische Imker e.V.: Das Genom der Honigbiene – Möglichkeiten für eine Varroa-Resistenz (Vortrag)

Gerhard Kottek

1. Züchterttag Grißheim 2019: EIP-Projekt „SEtBie“
2. Imkerverein Memmingen 2019: EIP-Projekt „SEtBie“
3. Imkerverein Ravensburg 2020: EIP-Projekt „SEtBie“
4. Buckfast Süd e.V. 2020: EIP-Projekt „SEtBie“
5. Imkerverein Bad Wurzach 2021: EIP-Projekt „SEtBie“

PD. Dr. Peter Rosenkranz

06. März 2021 – Züchtertagung LV Württembergischer Imker „Varroaresistenz und VSH Zwischenergebnisse zum SetBie-Projekt“, Vortrag digital.
23. April 2021 – Weissacher Imkertag „Aktuelle Projekte an der Landesanstalt für Bienenkunde“, Vortrag digital.
09. Juni 2021 - Bezirksimkerverein Ettlingen „Neues von der Hohenheimer Varroaforschung“, Vortrag digital.
01. Oktober 2021 - Bezirksimkerverein Leutkirch „Neues von der Hohenheimer Bienenforschung“, Vortrag Präsenz.
12. Oktober 2021 - Bezirksimkerverein Biberach „Neues von der Hohenheimer Bienenforschung“, Vortrag digital.
21. Mai 2022 - Bezirksimkerverein Nagold „Neues aus der Varroaforschung“, Vortrag Präsenz.
06. Oktober 2022 - Bezirksimkerverein Pfinzgau „Aktueller Stand der Varroa-Forschung: Biologie - Bekämpfung – Resistenzzucht“, Vortrag Präsenz.

Fazit: Die EIP-Förderung kann die Kooperation zwischen Wissenschaft und Praxis fördern. Die Anforderung an die Innovation war etwas zu hoch. In diesem Zuchtprojekt und auch für die genetische Fragestellung war die Projektlaufzeit zu kurz. Dazu wäre eine Laufzeit von 10 Jahren nötig. Für solche langfristigen Aufgaben sollte eine langfristige Finanzierung über Förderung möglich sein.