

Mogelijkheden die anders niet of moeilijk te realiseren zijn

Kunstmatige inseminatie in de moderne bijenteelt

door Prof. dr. O. Van Laere en dr. L. de Waele, Rijksstation voor Nematologie en Entomologie, Merelbeke, België.

In elke tak van de planteteelt, veeteelt of kleinveeteelt wordt een hoogst mogelijk rendement nagestreefd, terwijl men een aantal eigenschappen tracht te optimaliseren om dit algemeen gestelde doel gemakkelijker te bereiken. Zo ook in de bijenteelt wordt er gestreefd naar een hoge produktie aan honing en andere producten, terwijl eigenschappen zoals zachtaardigheid, raamvastheid en weerstand tegen ziekten als belangrijke selectiekenmerken in aanmerking komen.

Doel

Om het gestelde doel te bereiken gaat men aan selectie doen: het selecteren van kolonies met de meest gunstige combinatie van goede eigenschappen, om deze in een beredeneerd teeltplan zoveel mogelijk te bestendigen. Een essentieel onderdeel van een dergelijk teeltplan is de gecontroleerde paring. De paringsbiologie van de honingbij werd in de jongste decennia in zulke mate bestudeerd en opgehelderd, dat men zich in de selectiepraktijk ten volle rekenschap geeft van de beperkte efficiëntie van een paringscontrole op bevruchtungsstations in gebieden met een hoge bevolkingsdichtheid. Begrijpelijkerwijze ging men dus op zoek naar technieken om de paring op artificiële wijze tot stand te brengen. Na vallen en opstaan kennen we vandaag de dag bedrijfsklare apparatuur voor kunstmatige inseminatie (K.I.), die bruikbaar is voor routinebevruchtungen van bijenkoninginnen in de praktijk.

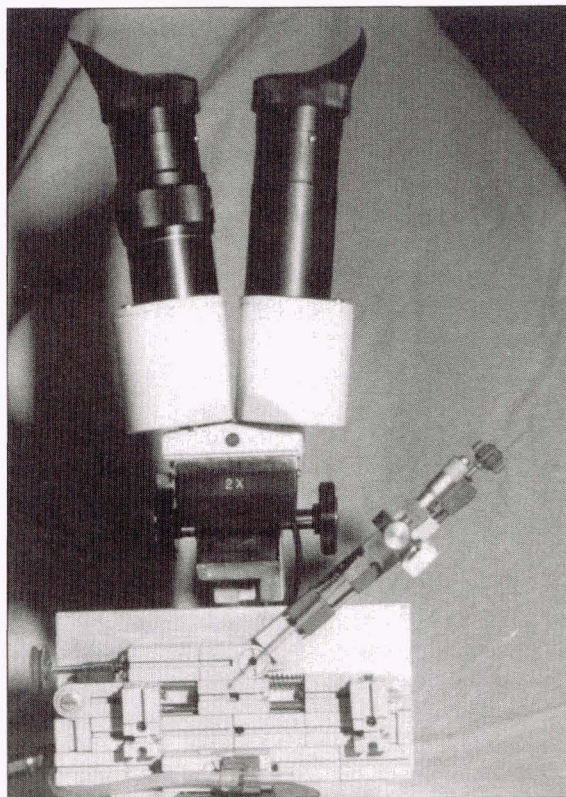
Mogelijkheden

De mogelijkheden van de kunstmatige inseminatie zijn van velerlei aard en liggen op het gebied van wetenschap en praktijk. Op het gebied van het wetenschappelijk onderzoek is de K.I. een uitgelezen instrument voor het bestuderen van genenconfiguraties bij de overerving van allerlei zichtbare en meetbare eigenschappen. Op dit punt gaan we hier evenwel niet verder in. We brengen voornamelijk de praktijkgerichte mogelijkheden onder de aandacht. Een eerste vaststelling is dat de K.I.-bevruchting van de koningin, onafhankelijk van weersomstandigheden, plaats en uur van de dag tot stand kan komen, terwijl de soms omslachi-

ge transporten naar bevruchtungsstations hierbij uiteraard geen probleem vormen. Het percentage goed gevallen bevruchtungen ligt bij een ervaren practicus boven de 90%, wat men zelden bereikt bij standbevruchtungen. Bovendien is het resultaat van de individuele inseminaties volwaardig, vergeleken met dat van natuurlijke bevruchting. De kunstmatige inseminatie biedt een aantal mogelijkheden, die anders moeilijk of niet te realiseren zijn. Zo kan men het sperma van slechts één dar verdelen over enkele zusterkoninginnen. De gebruikte zaadcellen, die praktisch identiek zijn, geven aldus aanleiding tot een grote homogeniteit in de nakomelingschap.

Een speciale techniek bestaat hierin dat men bij een oudere leggende koningin (3-5 j.) het sperma uit het zaadblaasje (spermatheca) wegneemt en hiermee een

K.I.-apparaat door Harry Dijkema gebouwd met onderdelen van Fischer techniek. Foto M.L. Boerjan.



jonge koningin insemineert. Technisch biedt deze bewerking geen bijzondere problemen. Het komt hierop neer dat men sperma van een waardevolle stam met het oog op "terugkruisingen" op deze wijze lange tijd kan bewaren. Met K.I. kan men ook een moederzoon paring uitvoeren: een jonge onbevuchte koningin wordt met een koolzuurgasnarcose darrenbroedig gemaakt en later met het sperma van de hieruit voortkomende darren kunstmatig bevrucht.

Laatstgenoemde technieken behoren natuurlijk niet tot de courante veredelingspraktijk. Het zijn mogelijkheden die af en toe, in speciale omstandigheden, van bijzonder nut kunnen zijn.

Beperkingen

Wie in de bijenteelt een goed gestructureerd teeltplan uitwerkt, zal inzien dat het toepassen van de kunstmatige inseminatie ook een aantal beperkingen inhoudt. Vooreerst dient men te overwegen dat bij de natuurlijke paring de sterkst ontwikkelde darren de grootste kans maken om de koningin te bevruchten. Er treedt dus een natuurlijke selectie op, die telkens weer gericht is op de overleving van de meest levenskrachtige individuen. In geval van K.I. valt deze factor weg, althans gedeeltelijk: het uitkiezen van sterk gebouwde, uiterlijk levenskrachtige darren kan toch niet helemaal beletten dat verborgen gebreken over het hoofd gezien worden. Daarom is het belangrijk dat na praktijkvermeerdering met natuurlijke paring steeds weer produktie- en gedragstesten uitgevoerd worden. Bij een streng doorgevoerd teeltplan met gebruik van kunstmatige inseminatie is het gevaar niet denkbeeldig dat door een te enge verwantschap "inteeltshade" optreedt: een algemene vermindering van de vitaliteit, die gepaard gaat met een verarming van het erfelijk materiaal. Het verbreden van het genetisch spectrum blijft hier een noodzaak. De honingbij is op dit gebied zeer gevoelig. Een typische aanwijzing voor inteeltshade is een slecht aaneengesloten broednest.

Het mechanisme van de overerving

Bij het beoordelen van de K.I. als onderdeel van een selectieplan is een goede basiskennis vereist inzake het mechanisme van de overerving van de beoogde eigenschappen. Zo is het belangrijk te weten dat de koningin, wegens de meervoudige paring en het hercombineren van de erfactoren bij de reductiedeling en de eivorming een aantal darren produceert die onderling sterk verschillend kunnen zijn in hun genetische aanleg. Een dar daarentegen zal, wegens zijn opbouw uit genetisch gelijkvormige haploïde cellen, zaadcellen produceren met slechts één combinatie van erfactoren.

Bij de dar ligt elk waarneembaar kenmerk éénvormig vast in zijn erfelijk materiaal. Dit laatste is volledig afkomstig van de koningin, waarvan de dar afstamt, en dus een vermenging van de erfactoren van zijn grootouders. De geslachtsbepaling bij de honingbij gebeurt niet zoals bij veel andere diersoorten door middel van een speciaal geslachtschromosoom. Het is een bepaalde graad van heterozygotie in de DNA-sequentie van een van de chromosomen, die verantwoordelijk is voor het ontstaan van vrouwelijke individuen. Het realiseren van homozygote vormen is bij kunstmatige inseminatie veel groter dan bij natuurlijke paring. Dit is voornamelijk het geval wanneer alle darren uit dezelfde kolonie genomen worden. De koningin, waarvan alle darren afstammen, beschikt slechts over twee geslachtsallelenreeksen, die, aangezien ze een vrouwelijke bij geworden is, heterozygoot zijn. De helft van de darren (haploïd) krijgt de ene, de andere helft de andere reeks. Nemen we nu voor de inseminatie darren uit éénzelfde volk, dan kan het toeval zo samentreffen dat hun geslachtsfactoren met die van de te bevruchten koningin in hoge mate identiek zijn. Wanneer deze koningin dan bevruchte eitjes gaat leggen is de graad van homozygotie zo groot dat daaruit darren ontstaan (diploïde darren met dubbel chromosomenstel, maar identieke allelen). In het vroege larvestadium worden deze door de werkbijen aan de specifieke geur herkend en opgegeten. Vandaar de kenmerkende open plekken in het broednest (hagelschotbroed). De hierboven vermelde methode van spermavermenging is het probate middel om, met inschakeling van regelmatige controletesten van het broednest, een te hoge graad van homozygotie te vermijden.

Kruisingen of combinatieteelt?

Het spreekt vanzelf dat men in een teeltschema ook kruisingen met andere stammen of rassen tijdelijk kan inschakelen om bepaalde externe eigenschappen in de geselecteerde populatie in te voeren. Men spreekt dan van combinatieteelt, waarbij men zich terdege rekenschap dient te geven van het feit dat het kruisingsprodukt van twee verschillende rassen op korte termijn moeilijk of niet bestendig en homogeen te krijgen is. Steeds meer dient men voor ogen te houden dat een bepaalde eigenschap (bijvoorbeeld zachtaardigheid) de resultante is van het combineren van een aantal genen (erfactoren), die bij een bepaalde stam of lijn in gunstige zin tot expressie komen. Het is dus best mogelijk dat als afstammingsprodukt tussen twee zachtaardige lijnen een steeklustig volk te voorschijn komt. Het komt er dus op aan de selectie steeds verder door te zetten en door kunstmatige inseminatie de

geschikte partners te combineren.

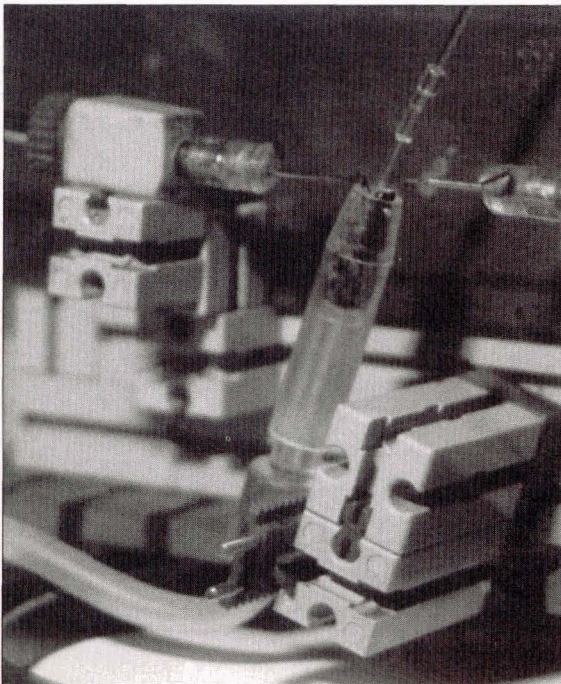
Rotatieparingen

Minder avontuurlijk dan een combinatieteelt met kruisingen zijn de zogenoemde rotatieparingen. In vier verschillende bijenstanden (A, B, C en D) van hetzelfde ras, maar met verschillende herkomst, voert men onafhankelijk van elkaar, een selectie uit, waarbij uit de meest gunstig gewaardeerde kolonie op elke stand 10 zusterkoninginnen gekweekt worden. De inseminatie van deze 40 koninginnen gebeurt in de jaren X, X + 1, X + 2, X + 3 respectievelijk met darren van de standen A, B, C en D. Deze rotatie kan onbeperkt worden voortgezet. Het spreekt vanzelf dat elk jaar opnieuw alle kolonies getest worden.

Homogeen mengen van darrensperma

Bij de kunstmatige inseminatie moet een hoeveelheid van 8 microliter darrensperma in de inseminatiespuit opgenomen en vervolgens in de vagina van de koningin geïnjecteerd worden. Dit komt overeen met de hoeveelheid sperma die de koningin op haar natuurlijke paringsvlucht bij de opeenvolgende copulaties met 8 - 12 darren opneemt. Het opnemen van sperma in de inseminatiespuit kan rechtstreeks gebeuren nadat men de dar kunstmatig tot ejaculatie gebracht heeft (chloroformdamp, gevolgd door gepaste druk op het achter-

De koningin wordt in dit buisje met behulp van koolzuurgas onder narcose gebracht. Foto M.L. Boerjan.



lijf). Dit is de gangbare methode sedert een vijftigtal jaren. In het begin van de jaren tachtig werd door Kaftanoglu en Peng een niet-rechtstreekse methode gepubliceerd om sperma te verzamelen door het afspoelen van de uitgestulpte endophallus (geslachtsorgaan van de dar) in een fysiologische zoutoplossing. Door centrifugeren wordt het in de gewenste concentratie weer gescheiden van deze oplossing. Van essentieel belang bij deze methode is het feit dat het sperma van alle gebruikte darren homogeen vermengd wordt.

Biologische betekenis van de homogene vermenging

We waarschuwd reeds eerder voor het nadelig effect van een selectie die zo streng en eng doorgevoerd wordt, dat er een "genverarming" en eventueel "inteeltschade" optreedt. Het invoeren van kruisingen, een techniek waarvan in de veeteelt steeds gebruik wordt gemaakt, betekent een tijdelijke verbreding van het genespectrum. Het nadeel hierbij ligt in de onzekerheid om het erfelijk materiaal in de nakomelingschap voldoende homogeen en bestendig te krijgen. Wegens hun haploïd karakter levert elke individuele dar zaadcellen die alle aan elkaar identiek zijn. Dit heeft tot gevolg dat, wanneer een koningin met acht darren paart of door gewone K.I. het sperma van een achttal darren krijgt, er van vaderszijde slechts een zeer beperkte inbreng van genetische verscheidenheid is. Wanneer men daarentegen uit dezelfde populatie het sperma van een honderdtal (of meer) darren neemt en, na homogene vermenging, hiermee koninginnen insemineert, wordt, met behoud van gunstige kenmerken, het genenpotentieel voor verdere selectie veel groter en de populatie voor inteeltschade beveiligd.

Het aantonen van de homogene vermenging

Een inseminatie met mengsperma kan slechts het theoretisch verwachte resultaat opleveren, indien de vermenging volledig homogeen is. Van elk der gebruikte darren moet een evenredig deel van het sperma in het zaadblaasje van de koningin terecht komen. Om te onderzoeken of een homogene vermenging inderdaad het verwachte resultaat oplevert, werd door Kühnert in 1989 volgend experiment uitgevoerd. Koninginnen, die voor drie dubbelrecessieve mutaties homozygoot zijn, met name: "Cordovaan" (bruin skelet), "Pearl" (roze ogen) en "Diminutive" (verkorte vleugels), werden geïnsemineerd met een evenredig mengsperma van acht darren, die respectievelijk voor deze mutaties een andere combinatie vertonen. In geval van perfect

homogene vermenging zal van elke dar een gelijk percentage nakomelingen voortkomen.

De drie genoemde kenmerken zijn dubbelrecessief. Dit heeft tot gevolg dat ze slechts uitwendig optreden, wanneer ze van beide ouders meegegeven werden. Aangezien de geïnsemineerde koninginnen de drie mutaties vertoonden, zijn het de mutatiecombinaties van de darren die het uiterlijk voorkomen van de dochterkoninginnen bepalen.

De door Kühnert achteraf uitgevoerde tellingen in de nakomelingschap hebben aangetoond dat het percentage van de verschillende mutanten volledig overeenstemde met de tevoren berekende waarden.

Men kan dus stellen dat de toegepaste techniek voor de vermenging van het sperma een volledige homogeniteit waarborgt.

Naar de praktijk

Het spreekt vanzelf dat, wanneer men ertoe besluit de homogene spermavermenging toe te passen, een nauwkeurig vastgesteld tijdschema in acht genomen

moet worden. Het coördineren van de planning tussen verschillende bijenstanden is een absolute noodzaak, voornamelijk omwille van de darrenteelt uit verschillende lijnen. Wanneer alle schakels van het werkschema goed worden uitgevoerd, levert deze methode uitstekende resultaten in de selectie binnen een bijenras.

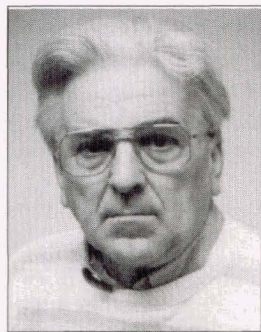
English summary: Artificial insemination and advanced beekeeping.

Advantages and restrictions of artificial insemination versus mating of queens in a mating station are discussed. Techniques such as: the use of sperm collected from one drone to inseminate several queens, the collection of high quality sperm from the spermatheca of an older queen to inseminate a young queen and making mother-son breeding combinations are described. The characteristics of artificially inseminated queens have to be tested in colonies headed by naturally mated daughters. General information concerning the genetics of the honey bee is given and a breeding system is described.



Wie is wie in de redactie? (2)

Marga Canters. *Is een geboren en getogen Wageningse met een Noordhollandse moeder en een Limburgse vader. Een van haar grootste hobby's is badminton, een sport die zij zo'n drie à vier maal per week beoefent. In de resterende vrije tijd probeert zij de twee laatste certificaten te behalen om zodoende in het bezit te komen van het MEAO-diploma. Na vijf jaren horeca-ervaring is zij terechtgekomen op het secretariaat van de VBBN, waar zij sinds 1985 werkzaam is. Met ingang van 1 januari 1992 treedt ze op als redactiesecretaris van BIJEN. Is tot op heden niet in de ban geraakt van het bijenhouden en wil dit eigenlijk ook zo houden.*



Otto de Kat. *Woont te Amstelveen en imkert, met een onderbreking van een jaar of tien, sinds 1948. Verkocht in dat jaar zijn postzegelverzameling voor vijftien gulden en kon het zich toen veroorloven "Bijen en bijenhouden" van J.G. de Roever aan te schaffen. Heeft daar nog steeds geen spijt van. Was tot voor kort leraar Nederlands en conrector aan een scholengemeenschap, maar nu 'met de vut'. Heeft meestal zo'n zes à tien volken en neemt zich al sinds jaren voor dat aantal te verkleinen. Is bestuurslid van de Imkersvereniging "Amstelland" en sinds ongeveer 1980 vaste medewerker en later redactielid van het "Groentje". Houdt erg van bijen, begrijpt nog steeds weinig van ze en moet tot zijn schande bekennen dat hij gemiddeld niet meer dan een half potje honing per jaar eet...*