



HAL
open science

37. Microsatelliten PCR mit einzelnen Bieneneiern

M Haberl

► **To cite this version:**

M Haberl. 37. Microsatelliten PCR mit einzelnen Bieneneiern. *Apidologie*, 1995, 26 (4), pp.341-342.
hal-00891287

HAL Id: hal-00891287

<https://hal.science/hal-00891287v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

i) *Cornual gland*: Frozen sections under light microscopy show that epithelial gland cells extend from the tip of the cornua, along the lateral sides and end at the basal humps (dorsal cornua). They form a columnar epithel which is 20–30 μm thick. The non-sclerotized cuticular surface of the gland cells is folded and papillated. The basal membrane often is subtended by a layer of fatty tissue. Electron microscopy shows a functional and morphological polarity of the gland cells. They contain mainly rough ER and numerous mitochondria; no Golgi apparatus was found. The nuclei are situated at the apical part. The apical cell membrane has microvilli and folds which intrude into the chitin layer. The secretion forms osmiophil granula of different size, often accumulated in groups within the cuticula, where no pores were found. In 5 d old drones the biggest granula and their highest concentration occur near the surface.

ii) *Bulbus gland*: Studies with the light microscope revealed that the epidermal gland cells of the bulb which lay dorsally of the chitin plates are about 200–300 μm thick, the cranial ones only 30–50 μm . The nuclei are situated at the basal part. Between the epithel and the chitin plates there is a non-structured layer. It contains granula, which protrude into the chitin plate and form a well-defined thick layer underneath. Studies of the bulbus gland with electron microscopy are not yet available.

Deux glandes épidermiques sur l'endophallus du mâle (*Apis mellifera* L)

Le signe de fécondation qu'un mâle abandonne après l'accouplement dans la chambre de l'aiguillon de la reine se compose de 3 éléments : le mucus, les plaques chitineuses avec le bulbe et une fine couche chitineuse de couleur orange. Ces 3 composants se forment dans les glandes à mucus ou le bulbe et les cornules. Alors que l'on connaît depuis longtemps la glande

à mucus, il n'existe pas de descriptions des 2 autres glandes jusqu'à nos jours.

i) *Les cornules* : des coupes congelées montrent au microscope optique que les cellules de la glande épithéliale s'étendent de la pointe des cornules jusqu'aux protubérances (cornules dorsales) de la base. Elles sont particulièrement concentrées à la pointe, sur les côtés et sur les cornules dorsales et forment là un épithélium à colonnes d'une épaisseur de 20 à 30 μm . La cuticule non sclérotisée au-dessus des cellules est souvent plissée. Du tissu lipidique s'accumule souvent sur la membrane basale. Au microscope électronique, on observe que les cellules glandulaires présentent une nette polarité morphologique et fonctionnelle. Les noyaux sont en position apicale. Les mitochondries sont nombreuses. Il n'y a pratiquement que des réticulum endoplasmiques rugueux, on n'a pas trouvé d'appareils de Golgi. La membrane cellulaire apicale a des microvillosités et des plis qui rentrent dans la couche chitineuse où il n'y a pas de pores, la sécrétion passe directement dans la chitine. Elle s'accumule en petites gouttelettes qui parviennent à la surface.

ii) *Le bulbe* : dorsalement par rapport aux plaques chitineuses, on note un épithélium à colonnes unicellulaire d'une épaisseur de 200–300 μm ; en position apicale se trouvent des cellules de seulement 30 à 50 μm de long. Les noyaux sont en position basale. Entre l'épithélium et les plaques chitineuses se trouve une couche non structurée. Chez des mâles âgés de 3 à 5 j, elle contient des gouttelettes de sécrétion qui migrent à travers les grands pores des plaques chitineuses, et forment au-dessous une couche nettement délimitée. L'étude au microscope électronique n'a pas encore été effectuée jusqu'à présent.

37. Microsatelliten PCR mit einzelnen Bieneneiern. M Haberl (*Zoologisches Insti-*

tut, Luisenstr 14, D-80333 München, Deutschland)

Mittels PCR Amplifizierung längenvariabler simpler Sequenzen (Microsatelliten) wurde untersucht, ob die Eier, die von legenden Arbeiterinnen in weisellosen Bienenvölkern zu mehreren in eine Wabenzelle gelegt werden, von i) einer einzelnen Arbeiterin, ii) mehreren Arbeiterinnen einer Subfamilie, oder iii) Arbeiterinnen mehrerer Subfamilien stammen (*Apis mellifera carnica*).

Microsatellitenklone wurden aus einer partiellen genomischen *A m carnica* Bibliothek isoliert, sequenziert und geeignete Primer synthetisiert. Zur Präparation der DNA für die PCR Reaktionen wurden einzelne Eier in Puffer homogenisiert, mit Proteinase K behandelt und letztere durch Hitze denaturiert. Für 2 Loci wurden je PCRs nach Standardprotokollen mit einem ³³P endmarkierten Primer durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden auf Polyacrylamidgelen aufgetrennt und durch Film detektiert.

In den Eiern innerhalb einzelner Wabenzellen finden sich pro Locus bis zu drei bzw fünf Allele. In einzelne, untersuchte Wabenzellen haben somit bis zu mindestens vier Arbeiterinnen mindestens dreier Subfamilien Eier abgelegt.

Eine strikte räumliche Trennung der Eilage durch einzelne Arbeiterinnen oder Arbeiterinnen einzelner Subfamilien kann aufgrund dieser Daten ausgeschlossen werden.

Microsatellite PCR with single bee eggs

Using PCR amplification of variable length simple sequences (microsatellites), I have investigated whether the eggs in queenless colonies laid by laying workers in a single comb cell descend from: i) a single worker; ii) several workers of one subfamily; or iii) several workers of different subfamilies (*Apis mellifera carnica*).

Clones containing microsatellites were isolated from a partial genomic *A m carnica* library and sequenced, and specific primers were designed. For DNA preparation used for PCR single eggs were homogenized in buffer, treated with proteinase K and the latter denatured by heat. For 2 loci separate PCR reactions were performed according to standard protocols with one ³³P end-labelled primer. The PCR products were separated on polyacrylamide gels, and detected by exposure to a photographic film.

In eggs within single comb cells, 3 or 5 alleles for a locus, could be detected. Therefore, up to a minimum of 4 workers from at least 3 subfamilies laid their eggs in a single cell. A strict spatial separation in egg laying of single workers or workers of single subfamilies can be excluded with these data.

Utilisation de microsatellites pour l'étude de la ponte des ouvrières

À l'aide d'amplification PCR de séquences simples de longueur variable (microsatellites), on a étudié si les œufs, placés dans une seule alvéole par des ouvrières pondieuses dans des colonies orphelines, provenaient i) d'une seule ouvrière, ii) de plusieurs ouvrières d'une sous-famille, ou iii) d'ouvrières de plusieurs sous-familles chez *Apis mellifera carnica*.

Des clones de microsatellites ont été isolés dans une bibliothèque génomique partielle d'*A m carnica*, séquencés et des amorces adaptées ont été synthétisées. Pour la préparation de l'ADN en vue des réactions PCR, des œufs ont été homogénéisés individuellement dans un tampon, traités avec la protéinase K qui a été dénaturée par un traitement thermique.

Pour 2 loci, des réactions PCR séparées ont été réalisées selon des protocoles standard avec une amorce marquée ³³P en position terminale. Les produits PCR ont été séparés sur gel de polyacrylamide et

déTECTÉS par exposition à un film photographique.

Dans les œufs au sein de certaines cellules, on trouve par locus entre 3 et 5 allèles. On peut donc dire que, dans certaines cellules étudiées, les œufs ont été pondus par au moins 4 ouvrières d'au moins 3 sous-familles.

Une stricte séparation spatiale de la ponte par les différentes ouvrières ou les ouvrières des différentes sous-familles peut donc être exclue au vu de ces données.

40. Palynologische Untersuchungen zur spezifischen Konkurrenz von *Apis mellifera* und solitären Apoidea. G Fotler (Ratsherrenstr 75, 49328 Melle, Deutschland)

Die mögliche Konkurrenz von *Apis mellifera* und solitären Apoidea um Pollenressourcen wurde untersucht. In 2 mit Honigbienen besetzten ländlichen Gebieten wurden von Mai bis September den Wildbienenarten in ca 500 m Umkreis der Bienenstände die Pollenladungen abgenommen. Die Pollenentnahme der Honigbienen erfolgte jeweils an einem Bienenvolk mittels Pollenfalle. Für die Auswertung wurden pro Woche Pollenladungen (10% des Faleninhalts) von einem Sammeltag homogenisiert und ausgezählt. Die qualitativen, prozentualen Häufigkeiten der Pollentypen von Wild- und Honigbienen wurden verglichen. Die Ergebnisse aus den Untersuchungsgebieten stimmten weitgehend überein und sind nachfolgend nur von einem Gebiet dargestellt.

Es konnten von 12 Wildbienenarten 51 Pollenladungen und von Honigbienen 22 Proben ausgewertet werden. Der Polleintrag der Honigbienen war zu 75% auf Massentrachten zurückzuführen, Wildbienen nutzten diese zu 35,6%. An den Einzeltrachten sammelten Wildbienen zu 64,4% und Honigbienen zu 25%. Zur Zeit der

Rapsblüte wurden von 29 Pollenquellen 9 gemeinsam von allen Apoidea genutzt. Diese setzten sich zu 66,7% aus Massen- und zu 33,3% aus Einzeltrachten zusammen. 13 Pflanzenarten wurden ausschließlich von Wildbienen und 7 nur von Honigbienen aufgesucht. Nach der Rapsblüte zeigte das Pollenspektrum der Apoidea 20 Pflanzenarten auf. 8 Pollenarten wurden von Wildbienen und 12 von Honigbienen gesammelt. Es wurden keine gemeinsamen Pollenquellen festgestellt. Die Blütenstetigkeit war unterschiedlich. Honigbienen trugen zu 4,6% (Auswertung einzelner Hörschen) und Wildbienen zu 72,4% Pollenladungen verschiedener Herkunft ein.

Ein Nahrungswettbewerb war mit der angewandten Methode nicht erkennbar. Bezüglich anderer Regionen sind die dortigen ökologischen Bedingungen zu berücksichtigen.

Palynological studies of the specific competition between *Apis mellifera* and solitary Apoidea

The possible competition for pollen between *Apis mellifera* and solitary Apoidea was investigated. During May to September, the pollen loads of wild bees caught within a radius of 500 m around the apiaries in 2 rural areas were analysed. In each area, the pollen load was taken from 1 colony of honey bees by pollen traps; 10% of the pollen loads of one day per week was homogenized and counted. The qualitative percentage frequency of pollen types from wild and honey bees were compared. The results of both areas are very similar, and so only the results of 1 area are presented below.

We analysed 51 pollen loads from 12 wild bees species and 22 pollen samples from honey bees. A total of 75% of the pollen gathered by the honey bees came from abundant plant species, whereas