

Weerbare bij

Verkenning van initiatieven en wetenschappelijke literatuur over natuurlijke afweer van bijenvolken tegen ziekten en plagen.

Tjeerd Blacquièrè

Rapportage 2015
Project BO-20-003-023 Min EZ

DATUM
1 oktober 2015

AUTEUR
Tjeerd Blacquièrè

VERSIE
eindversie

STATUS

Leeswijzer

Het onderliggende centrale probleem binnen de bijenhouderij, is dat er een gat is ontstaan tussen de weerbaarheid tegen ziekten en plagen van de bijenvolken in het huidige bijenvolkenbestand en de meer natuurlijke weerbaarheid van bijenvolken. Door selectie op eigenschappen ten bate van de bijenhouders zijn er eigenschappen die van belang zijn voor de weerbaarheid van de bijen verloren gegaan (non-actief). Vanuit de bijenhouderij en het beleid is de wens uitgesproken niet alleen te werken aan het bestrijden van de ziekten en plagen, maar ook te werken aan het verbeteren van de eigen weerbaarheid van bijenvolken tegen ziekten en plagen.

In dit rapport zijn de huidige (dd oktober 2015) initiatieven op het gebied van weerbaarheid van bijenvolken in kaart gebracht (deel2). Het overzicht van de bestaande nationale initiatieven is gebaseerd op het nationale netwerk van *bijen@wur*. Het overzicht van de bestaande internationale initiatieven is gebaseerd op het internationale netwerk van *Bijen@wur* aangevuld met informatie uit peer reviewed literatuur (door welke groepen is de relevante literatuur geschreven?). Deze initiatieven worden vooraf gegaan door een literatuuroverzicht (deel1). Dit literatuuroverzicht plaatst de initiatieven in een context en schets de kaders van die context.

Grofweg lijken er twee stromingen te bestaan om de weerbaarheid van de bijenvolken te vergroten. De ene stroming selecteert op specifieke eigenschappen (vooral resistentie gericht). De andere stroming selecteert op verbeterde/natuurlijke aanpassing(en) aan de lokale ziekte/plaagdruk of zelfs de algemene lokale omstandigheden (zowel resistentie als tolerantie gericht). Sommige initiatieven passen heel duidelijk in een van deze stromingen, anderen hangen er meer tussen in. Als uitvloeisel van deze studie wordt eind 2015 een internationale workshop georganiseerd waar een doorsnede van deze initiatieven wordt uitgenodigd om gezamenlijk de state of the art vast te stellen en internationale afstemming te zoeken.

Dit rapport vormt een basis voor de toekomst waarin we vanuit de sector en het onderzoek:

- Beter in staat zullen zijn lopende initiatieven op elkaar af te stemmen en samenwerking te zoeken
- Onderzoeklijnen uit kunnen werken die zo goed mogelijk aansluiten bij de beleids- en praktijkvragen

Samenvatting

In de samenleving bestaat grote zorg over de kwetsbaarheid van honingbijen en de ecosystemedienst bestuiving die zij mede verzorgen. Sinds ongeveer een decennium is er voornamelijk op het Noordelijk halfrond een jaarlijkse hoge sterfte van bijenvolken in de winter. Waarschijnlijk is een aantal factoren samen verantwoordelijk voor deze sterfte van bijenvolken. In Nederland is in 2013 het Actieplan Bijengezondheid opgezet om gezamenlijk de belangrijkste oorzaken van bijensterfte aan te pakken en tegelijkertijd de leefomstandigheden voor bijen te verbeteren. In één van de vier pijlers – de pijler Ziekten en Plagen van bijen – wordt ingezet op versnelde natuurlijk selectie van resistentie en onderzoek naar de onderlinge relatie tussen ziekten en plagen. Met dit project *Weerbare bij* inventariseerden we (inter-)nationale initiatieven uit de onderzoekswereld of uit de praktijk die als doel hebben om meer weerstand tegen bijenziekten te krijgen of de aanwezige weerstand tegen ziekten beter te benutten. De inventarisatie wordt vooraf gegaan door een overzicht van de kennis uit de wetenschappelijke literatuur over de weerstand van honingbijen tegen ziekten en plagen en over de mogelijkheid daarop te selecteren of er op in te spelen in de imkerij. Diverse aspecten van de immuunrespons van bijen worden beschreven, inclusief de zo belangrijke sociale immuniteit. Extra aandacht wordt geschonken aan de parasitaire mijt *Varroa destructor*. Enerzijds vormt varroa een grote schadepost voor de bijenhouderij in gematigde streken. Anderzijds blijkt de honingbij van nature via selectie weerbaarheid tegen de parasiet op te kunnen bouwen. De meeste van de initiatieven ten behoeve van weerbare bijen richten zich dan ook op deze parasiet. Voor een verkort overzicht van de inventarisatie verwijzen we naar p59 van dit rapport. De inventarisatie van (inter-)nationale initiatieven leverde een lijst op van 18 initiatieven. Hiervan waren er 7 nationaal en 11 internationaal. Ruwweg vielen deze initiatieven uiteen in 2 groepen. De eerste groep (9 initiatieven) richt zich op gerichte selectie van een eigenschap en de tweede groep (9 initiatieven) richt zich op natuurlijke selectie.

Summary

In society there is deep concern about the vulnerability of honeybees and of the ecosystem service they help to provide. Since a decade at least, high losses of honeybee colonies during winter have been reported, especially in the Northern hemisphere. Most likely a combination of stressors is responsible for this increased colony mortality. In the Netherlands in 2013 an Action Plan on Bee Health was launched to tackle the potential causes of bee mortalities and to simultaneously improve the environmental conditions for bees. In one of the four pillars supporting the plan – the pillar Diseases and Pests of bees – an important action is targeted to a fast development of natural selection of bees towards resistance and to research on the mutual relationships between diseases and pests. In this project “*Resilient Bee*” we have surveyed (inter-)national initiatives originating from research as well as from apicultural practice which aim at improving the resilience of bees for diseases or which aim at better using the existing resilience traits of bee colonies. The inventory is preceded by an overview of literature on the knowledge about the resilience of honey bees against diseases and about the possibilities for selection of disease resilience traits, as well as options to exploit the traits in beekeeping. Several aspects of the immune response of bees are described, including the very important social immunity of honey bees. Special attention is given to the exotic parasitic mite *Varroa destructor*. *Varroa* constitutes a great damage and threat to beekeeping in temperate zones. On the other hand it is shown that honeybees can develop resistance against the mite through selection. Most of the initiatives therefore target the varroa mite. A (very) short summary of the results of the (not exhaustive) inventory of the initiatives is found on page 59 of this report. We listed 18 initiatives, 7 from the Netherlands and 11 from abroad. Roughly they could be separated into two groups. The first group (9 initiatives) aims at targeted selection and breeding of chosen traits, whereas the second group (9 initiatives) uses natural selection on survival ability.

Inhoudsopgave

Leeswijzer	3
Samenvatting	5
Summary	7
Deel 1: Literatuuroverzicht	11
1 Inleiding	13
1.1 Weerbaarheid van bijenvolken	14
1.2 Weerbaarheid van bijenvolken van imkers	14
1.3 Resistentie of tolerantie	15
1.4 Literatuuroverzicht	16
2 Afweer van Honingbijenvolken tegen Ziekten	17
2.1 Parasieten en ziekteverwekkers	18
2.2 Opbouw en organisatie van de afweer in honingbijenvolken	18
2.2.1 Verschillende mechanismen en verschillende niveaus	18
2.3 'Veelmannerij' (polyandrie)	20
2.4 Nest hygiëne	21
2.4.1 Nesthygiëne door 'hygiënisch gedrag'	21
2.4.2 VSH	23
2.4.3 Grooming	24
2.4.4 Lijkbezorging (Undertaking)	24
2.5 Veranderingen van/in het nest	24
2.5.1 Nest architectuur en het gebruik van harsen	24
2.5.2 Sociale organisatie	25
2.5.3 Symbiotische bacteriën	25
2.6 Conclusies en perspectief	25
2.6.1 Interacties tussen parasieten	25
2.6.2 Virulentie verschillen en de dreiging van verplaatsing van parasieten	25
2.6.3 Veredeling voor resistente of tolerante bijen	26
2.6.4 Vermijden van ziekterisico's door veranderingen in de manier van bijenhouden	26
3 Afweer tegen giftige stoffen	27
3.1 Waarom zit er van nature gif in nectar en pollen?	28
4 Overzicht van de belangrijkste bijenziekten en plagen	31
4.1 Europees vuilbroed	31
4.2 Amerikaans vuilbroed	32
4.3 Kalkbroed	33
4.4 Nosema	34
4.5 Virussen	35
4.5.1 Deformed wing virus	35
4.5.2 De 'snelle' verlamningsvirussen ABPV, IAPV en KBV	37

4.5.3	Chronisch bijenverlamingsvirus (CBPV)	38
4.5.4	Andere virussen	39
4.5.5	Virussen krijgen hulp van parasieten	39
5	Varroa destructor	41
5.1	Reproductie van Varroa	41
5.2	Pathologie	42
5.2.1	Schade aan individuele bijen	42
5.2.2	Varroa mijten en bijenvirussen	43
5.2.3	Synergistische effecten	43
5.2.4	Schade op volksniveau	43
5.3	Tolerantie en resistentie	44
5.3.1	Tolerantie en resistentie onder natuurlijke omstandigheden	44
5.3.2	Populatiodynamica van de gastheer	44
5.3.3	Actief verdedigingsgedrag door de bijen	44
5.3.4	Onderdrukken van de reproductie van de mijt door het broed	45
5.4	Veredeling	46
	Deel 2: Initiatieven Weerbare Bij	49
1	Initiatieven in Nederland	51
2	Initiatieven in het buitenland	55
3	Internationale alignment binnen Coloss	59
4	Samenvattend overzicht van de initiatieven	61
	Literatuur	63

Deel 1: Literatuuroverzicht

1 Inleiding

Ziekten en plagen, resistentie en tolerantie

Ziekten en plagen van bijen en bijenvolken zijn een belangrijk aandachtspunt in het beleid en voor de bijenhouders (pijler 2 van Actieplan Bijengezondheid).

Afweer van bijen tegen ziekten kan worden verkregen door een ziekte deels of volledig te weren (resistentie), of door een ziekte te ondergaan met vermindering van schade (tolerantie).

Imkers zouden zoveel mogelijk moeten doen om de 'natuurlijke' eigenschappen van hun volken om met ziekten om te gaan te benutten.

De toegenomen zorg in de samenleving over de gezondheidstoestand van onze honingbijen heeft het ministerie van Economische Zaken en staatsecretaris Dijkema in 2013 geïnspireerd tot het uitnodigen van betrokken stakeholders om samen een Actieplan Bijengezondheid op te stellen en regulier met elkaar te overleggen in het 'Bijenberaad'. Het actieplan wordt breed gedragen door alle vertegenwoordigers uit de samenleving en ook via actie en financiën ondersteund. Het plan is opgebouwd rond vier pijlers:

1) Gewasbeschermingsmiddelen; 2) Ziekten en plagen van bijen; 3) Voedselaanbod en biodiversiteit; 4) Imkerpraktijk. Het hoeft geen betoog dat deze vier pijlers niet los van elkaar staan, maar samen de gezondheid van onze bijen borgen. Een imkerpraktijk (4) is pas goed als deze zorgt voor voldoende voedselaanbod (3), op tijd ziekten voorkomt of bestrijdt (2) en er op toeziet dat de volken niet aan gevaarlijke niveaus gewasbeschermingsmiddelen of diergeneesmiddelen worden blootgesteld (1).

In de pijler Ziekten en plagen (2) staan 'Versnelde natuurlijke selectie' en onderzoek naar de relatie tussen de verschillende ziekten en plagen als nummers 1 en 2 in de prioriteitenactielijst (zie inzet, uit het Actieplan). Maar het is natuurlijk geen nieuw verworven wijsheid dat bijenvolken natuurlijke weerbaarheid bezitten tegen bedreigende plagen, en het is ook niet nieuw om te proberen van deze natuurlijke weerbaarheid van bijenvolken gebruik te maken. Om toekomstige acties op dit gebied beter te kunnen uitwerken, is het belangrijk te weten welke kennis ten aanzien van resistentie en tolerantie er al is, te bepalen welke grote lacunes in de kennis nog bestaan en waar kansen liggen voor samenwerking tussen initiatieven. In dit rapport worden internationale initiatieven geïnventariseerd en besproken die streven naar weerbare bijenvolken, en wordt een overzicht gegeven van wetenschappelijke literatuur over de natuurlijke weerbaarheid van bijenvolken tegen ziekten en de achterliggende onderzoeksgroepen.

Twee actiepunten onder pijler 2 uit het 'Actieplan'

1. Versnelde natuurlijke selectie. In proeven op lokaal niveau gebruik maken van vooraf geselecteerde bijenvolken die al een bepaalde resistentie hebben en bij deze volken stoppen met de bestrijding van de Varroamijt. Uit te voeren in de regionale of lokale praktijk door imkers met wetenschappelijke begeleiding. Er zijn al enkele voorbeelden van een dergelijke aanpak, onder andere bij biologisch-dynamische imkers. Tevens wetenschappelijk onderzoek naar de genen die de resistentie bepalen.

2. Wij bevorderen onderzoek naar de onderlinge relatie tussen ziekten en plagen op de bijen(winter-) sterfte. Van veel ziekten en plagen onder bijen is niet bekend welke negatieve effecten ze hebben op een bijenvolk. Daarnaast is niet duidelijk wat de interacties zijn tussen ziekten en plagen. Deze inzichten zijn nodig om verzwakking van bijenvolken te kunnen voorkomen.

1.1 Weerbaarheid van bijenvolken

Bijenvolken zijn aangepast aan hun omgeving. De Europese ondersoorten van de westerse honingbij (*Apis mellifera*) zijn aangepast aan een klimaat met een relatief lange winter, meer nog dan de andere ondersoorten. Die lange winter maakt het aanleggen van een grote wintervoorraad honing nodig om de winter goed te overleven, en om een goede start te maken in het volgende voorjaar. Slechts bij een goede ontwikkeling in het voorjaar kan het volk zich voortplanten (produceren van darren en jonge koninginnen), en een zwerm (met de oude koningin) afsplitsen. Dan nog is de kans dat een zwerm zich goed ontwikkelt en de volgende winter overleeft in de natuur slechts ongeveer 20% (Seeley, 1995). Het is daarom van levensbelang dat het bijenvolk goed aangepast is aan de omgeving met de bijbehorende seizoensdynamiek. Daarvoor is een goede planning en organisatie in het volk een voorwaarde: bijen moeten de omgevingsomstandigheden kunnen waarnemen, kunnen beoordelen en er adequaat op kunnen reageren.

Die planning en organisatie is niet alleen van belang in relatie tot bijvoorbeeld voedsel en weersomstandigheden, maar bij de omgeving horen ook ziekten en plagen. Een recente review (Degrandi-Hoffman & Chen, 2015) legt de nadruk op de verwevenheid van de voedselvoorziening van bijen en de immuunrespons tegen virussen. Honingbijenvolken hebben als aanpassing aan hun omgeving weerbaarheid tegen allerlei ziekten en plagen die het volk kunnen aantasten. De ziekte weerbaarheid van bijenvolken ligt verankerd in de genen van de bijen, en komt tot uiting in 'gewone' ziekte weerstand naast heel veel gedragsaanpassingen, waarmee bijen ziekten voorkomen of verminderen. Deze aanpassingen worden behandeld in het literatuuroverzicht in hoofdstuk 2.

1.2 Weerbaarheid van bijenvolken van imkers

Ook de volken die bij imkers leven bezitten de bovengenoemde weerbaarheid tegen ziekten van 'wilde' volken. Echter in de loop van de gezamenlijke geschiedenis van imkers en bijen heeft de imker aanpassingen gedaan die het aan het bijenvolk soms lastiger maken om weerstand te bieden of te ontsnappen aan ziekten. Imkers hebben de woningen van bijen aangepast aan de imkerbehoefte (en toegegeven, vaak goed aansluitend bij de behoeften en gedragingen van het volk): losse bouw, koninginnenroosters, raamafstand. De imker doet aan zwermverhinderend (waar het volk wil zwermen), de imker plaatst zijn volken in een rij. Dat geeft risico op vervliegen van bijen naar de buurkast, en risico van verspreiden van ziekten.

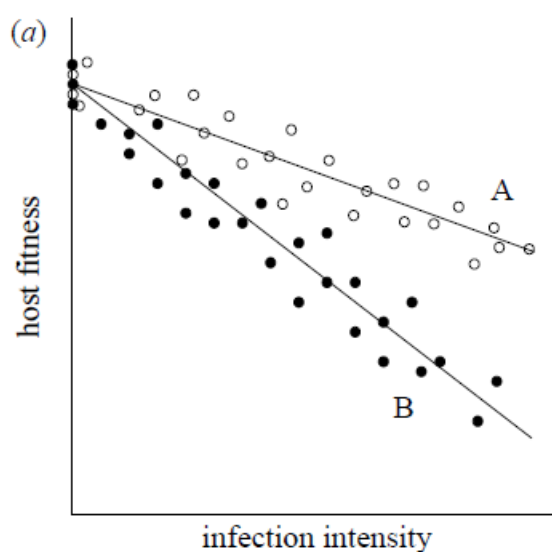
Naast aanpassingen / ingrepen aan huisvesting en gedrag van het bijenvolk hebben imkers ook al heel lang hun best gedaan om de bijen genetisch aan de imkerwensen aan te passen. Dus niet alleen zwermen verhinderen of uitstellen, maar ook selecteren voor zwermtrage volken (terwijl zwermen behalve een manier om zich voort te planten ook een methode is om te ontsnappen aan parasieten). Selectie tegen steeklust van de werksters, voor volken met 'grote platen broed', tegen propolisgebruik, voor grote 'honinghaaldrift', enz.

Het is de vraag in hoeverre de manier van werken in de huidige imkerij de bijen helpt of juist tegenwerkt in hun eigen weerbaarheid tegen ziekten en plagen, en ook in hoeverre de selectie van door imkers gewenste eigenschappen de bijen heeft geholpen of juist gehinderd. Om daar inzicht in te krijgen beginnen we met het in kaart brengen hoe de bijen zelf hun weerbaarheid tegen ziekten en plagen gestalte geven, zowel op het niveau van genen, individuele bijen als bijenvolken. Pas met die kennis paraat kunnen we onderzoeken welke eigenschappen van bijen we niet in de weg moeten zitten met onze manier van imkeren, of zelfs kunnen versterken via imkermethoden. En ook pas met die kennis kunnen we inzicht krijgen in het nut van eventuele genetische versterking van gunstige eigenschappen door selectie. Maar eerst nog een korte beschouwing over resistentie tegen ziekten en tolerantie van ziekten.

1.3 Resistentie of tolerantie

In de literatuur over weerstand van (selecties van) honingbijenvolken tegen de varroamijt wordt soms gesproken over resistentie, maar ook vaak over tolerantie. Het is niet steeds duidelijk wat de schrijvers bedoelen met beide termen, sommigen beschouwen het als een verschillende beschrijving van in principe hetzelfde fenomeen. Of noemen het tolerantie omdat de bijen wel beter tegen varroa kunnen, maar varroa niet volledig kunnen uitbannen (dus niet volledig resistent zijn). Ingemar Fries stuurde mij daarover een interessant artikel toe (Råberg et al., 2009), dat ik hier kort wil samenvatten, omdat het belangrijk is voor ons denken over langs welke wegen we een weerbare bij kunnen en willen bereiken. Råberg et al (2009) steken hun licht op bij de plantenbiologen, die al veel eerder dan de dierenbiologen een helder onderscheid tussen resistentie en tolerantie hebben gedefinieerd. In hun optiek is resistentie opgebouwd uit mechanismen die de parasiet tegenwerken of remmen, die het de parasiet daarmee moeilijker maken zich te vermeerderen. Verhoogde resistentie leidt dan tot een lagere infectiegraad. Tolerantie ontstaat daarentegen door eigenschappen die ervoor zorgen dat bij onveranderde infectiegraad toch minder schade ontstaat voor de gastheer. Resistentie zou er bijvoorbeeld voor kunnen zorgen dat een bepaalde schadelijke bacterie niet of nauwelijks meer kan groeien, terwijl tolerantie de groei van de bacterie ongemoeid laat, maar het schadelijke toxine van de bacterie ontgift. Soms is niet gemakkelijk vast te stellen of er sprake is van resistentie of tolerantie of een combinatie. Bij het ontwikkelen van resistentie staan gastheer en parasiet frontaal recht tegenover elkaar: elke actie van de gastheer betekent slechtere reproductie van de parasiet. In de evolutie betekent dit het ontstaan van een wapenwedloop, resulterend in een stap voor stap co-evolutie (actie-tegenactie enz.). De 'keuze' voor tolerantie is een soepeler relatie, die beide 'partners' meer ruimte laat. Idealiter voor beide partijen doet de parasiet geen of nauwelijks schade. Natuurlijk is tolerantie nooit geheel schadevrij (de aanwezigheid van de parasiet kost bijv. energie, investering in tolerantiemechanismen), maar misschien wel 'goedkoper' dan de totale oorlog richting resistentie.

Het elegante is bovendien dat de verwachte fitness van de gastheer zich via een eenvoudige functie laat beschrijven, bepaald door de infectiegraad (die natuurlijk minder wordt bij resistentie) en een tolerantiefactor (die aangeeft dat bij één bepaalde infectiegraad meer of minder schade wordt geleden). $W = a + bI$ (W = fitness van de gastheer; a = het intercept, dus de fitness bij infectie van nul; I is de infectiegraad; b = de helling van de lijn, is de tolerantiegraad). Figuur 1A uit Råberg et al (2009).



In de bovenstaande figuur hebben zonder infecties de lijnen A en B dezelfde fitness (intercept), maar bij een gegeven infectiegraad is A veel beter af dan B: A is toleranter.

Wat kunnen we hier mee? Veel selectieactiviteit bij bijen is gericht geweest op het verhogen van resistentie (met andere woorden op een verlaging van de infectiegraad). Tolerantie is een gebied dat nog erg onderbelicht is gebleven, terwijl ook daar mogelijk een zee aan kansen ligt. Het zou best kunnen zijn dat in de natuur vaak tolerantie wordt ontwikkeld. We zullen verderop proberen diverse eigenschappen te rubriceren.

1.4 Literatuuroverzicht

Recent zijn een paar overzichtsartikelen verschenen die een goede inleiding geven over de opbouw van de resistentie van bijenvolken tegen ziekten, Wilson-Rich *et al.*, 2009, en Evans & Spivak (2010). Deze artikelen worden uitgebreid besproken. In 2010 gaf de *Journal of Invertebrate Pathology* een themanummer uit over ziekten van honingbijen (nr 103 S), de hoofdstukken uit dit themanummer worden gebruikt als uitgangspunt voor de overzichten per ziekte. Met –niet uitputtend- aanvullende literatuur wordt een overzicht gemaakt van (1) welke weerstandsmechanismen van bijen helpen tegen welke ziekten, (2) welke van die mechanismen kunnen worden gebruikt / versterkt / toegelaten door de imker, en (3) welke kunnen worden versterkt door selectie (natuurlijke selectie of gerichte selectie). Naast mechanismen tegen ziekten hebben honingbijenvolken ook resistentiemechanismen tegen ongunstige stoffen (toxinen, gif, onverteerbare voedselcomponenten) die ze in het milieu tegenkomen, en die via detoxificatie en gedrag worden onschadelijk gemaakt of vermeden. Dit valt enigszins buiten het bestek van dit rapport en zal slechts kort worden behandeld.

De literatuurverwijzingen uit de review artikelen worden niet in dit rapport opgenomen. Alleen wanneer een verwijzing extra nadruk verdiend en wanneer er nieuw en niet in de review geciteerde relevante artikelen worden gebruikt, worden deze wel volledig gerefereerd.

2 Afweer van Honingbijvolken tegen Ziekten

Afweer van bijenvolken tegen ziekten

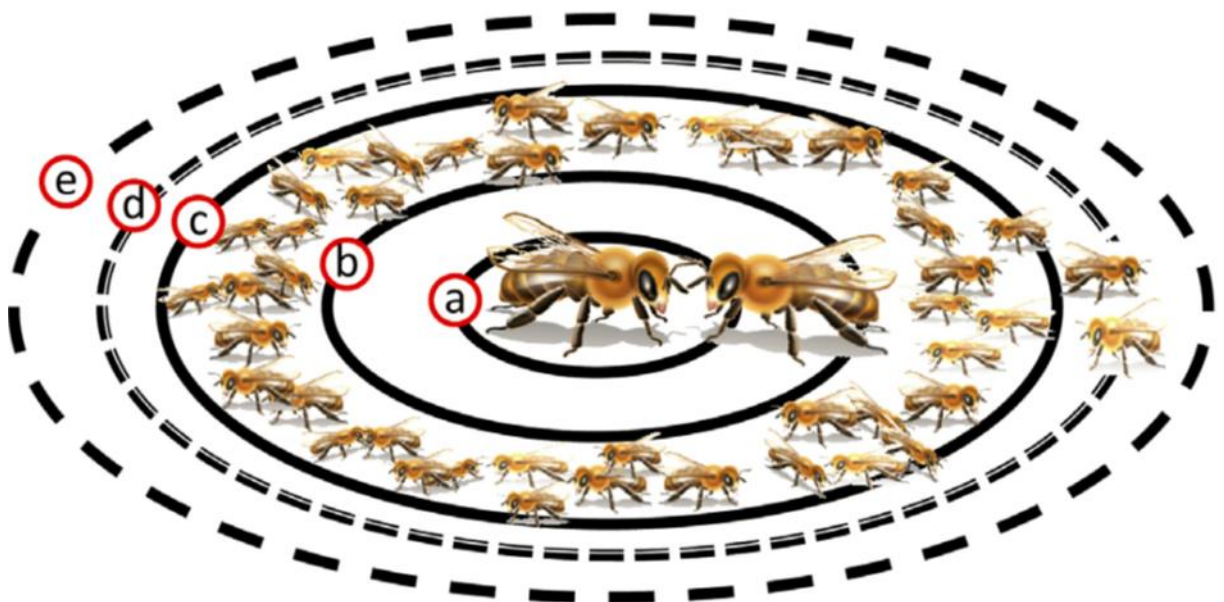
Bijen hebben afweer mechanismen tegen ziekten en plagen. De afweer werkt op moleculair, individueel en op groeps- en volksniveau. Uit de kennis van het genoom van de honingbij lijkt de individuele afweer van bijen minder dan van sommige andere insecten, maar de sociale afweer (door gedrag) op volksniveau is juist sterk ontwikkeld.

De sociale afweer wordt verzorgd via gedrag, via de opbouw van het nest en via gebruik van afwerende stoffen uit het milieu (propolis) en eigen plus van symbionten verkregen ziekte- en bederfwerende producten.

Gedragingen die een ziekteverende werking hebben zijn de scheiding tussen taken in het volk (dat vermindert uitwisseling), het hygiënisch gedrag dat zieke larven en poppen opspoot en verwijdert, de lichaamsverzorging van zichzelf en elkaar door de werksters (grooming) en de lijkbezorging (undertaking). Bijenvolken kunnen ook 'koorts' gebruiken tegen ziekten.

Een verhaal apart is de 'extreme polyandrie' van honingbijvolken, door deze eigenschap bezit een bijenvolk een grote erfelijke variatie. Deze erfelijke variatie wordt benut doordat werksters primair taken opnemen die stroken met hun talenten. De polyandrie is behalve tegen ziekten onder meer ook belangrijk om als volk optimaal te foerageren.

Perspectief voor de imker is het zo veel mogelijk ruimte geven aan bijenvolken om hun eigen afweermechanismen te benutten. Als aanvulling daarop kan ook –deels op eigen stand- worden gewerkt aan het versterken van sommige gunstige eigenschappen via selectie.



Figuur 1 (uit Evans & Spivak, 2010). Niveaus van verdediging tegen ziekten in honingbijvolken: (a): individuele verdediging, (b): paarsgewijze verdediging, o.a. grooming (verzorging/poetsen), (c): verdediging op volksniveau zoals taakverdeling, (d): tegenhouden van binnenkomen van infecties, (e): het gebruik van harsen en andere stoffen uit de omgeving om het volk af te schermen.

Dit hoofdstuk is geschreven aan de hand van twee artikelen:

Wilson-Rich N, Spivak M, Fefferman NH & Starks PT 2009. Genetic, individual and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annu. rev. Entomol.* 54, 405-423, en Evans JD & Spivak M 2010. Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *J Inv Path* 103 S62-72.

2.1 Parasieten en ziekteverwekkers

Gehouden en wilde volken van de honingbij worden voortdurend belaagd door onder andere virussen, bacteriën, schimmels, mijten, vliegen, wespen en kevers.

De virussen vormen een raadselachtige groep, waarvan nog maar een fractie bekend is. De meeste vallen in twee groepen van positief-strengs RNA virussen, de Dicistro- en de Ifla-virussen. Zakbroed virus (SBV) en Deformed Wing Virus (DWV) horen bij de Ifla-viridae. DWV wordt zowel verticaal (bijv. via moeder op ei, van generatie op generatie) als horizontaal overgedragen (via o.a de vectoren *Varroa* en *Tropilaelaps*). In de groep Dicistroviridae behoren Kashmir Bee Virus (KBV), Acuut bijen paralyse virus (ABPV), en Israeli Acuut paralyse virus (IAPV). De meeste virussen komen wereldwijd voor.

Bacterieziekten zijn Amerikaans vuilbroed (veroorzaakt door de bacterie *Paenibacillus larvae*), Europees vuilbroed (*Melissococcus plutonius*).

Schimmels veroorzaken kalkbroed (*Ascosphaera apis*), steenbroed (*Aspergillus flavus*), en nosebose wordt veroorzaakt door twee microsporidium soorten (*Nosema apis* en *Nosema ceranae*).

Naast de hier genoemde bacteriën en schimmels bevatten honingbijen nog een heel scala aan andere soorten die zowel gunstige als nadelige effecten (zouden) kunnen hebben.

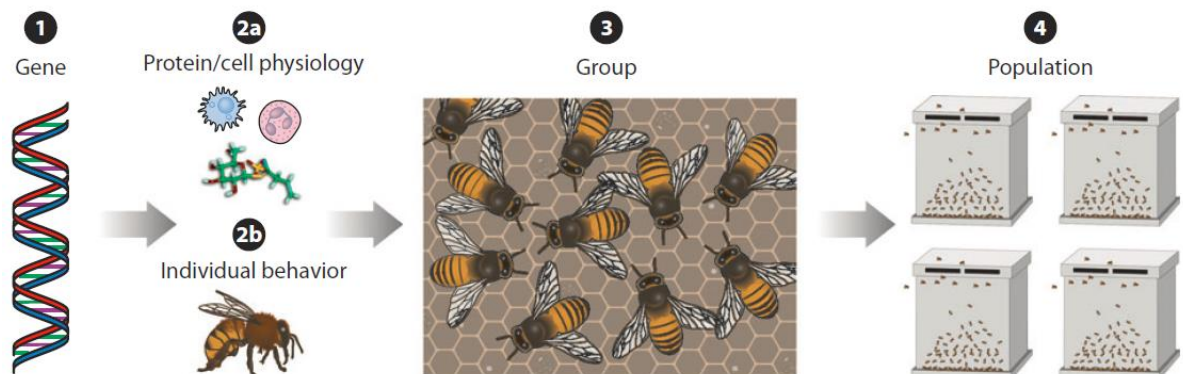
Verder zijn er nog diverse parasieten die mogelijk een kleine of grotere rol spelen, zoals de parasitaire vliegen, en amoëbe ziekten en trypanosomen (*Crithidia mellifica*, recent als mogelijke speler bij winterverliezen geïdentificeerd (Ravoet et al., 2013).

In Hoofdstuk 4 worden de ziekten, parasieten en plagen uitgebreider beschreven.

2.2 Opbouw en organisatie van de afweer in honingbijenvolken

2.2.1 Verschillende mechanismen en verschillende niveaus

Sociale insecten kunnen op diverse niveaus weerstand tegen ziekten hebben, niveaus die al dan niet ingezet kunnen worden, afhankelijk van de ziekte en de mate van de blootstelling of besmetting. De weerstand wordt tezamen opgebouwd uit genetische, moleculaire, fysiologische en gedragseigenschappen, en dat allemaal dan weer op individueel, groeps- en populatie niveau (zie Figuur 2, uit Wilson-Rich *et al* 2009). De immunomechanismen (via gedrag en andere mechanismen) die op groeps- en populatieniveau werken worden 'Sociale Immuniteit' genoemd.



Figuur 2. Vier niveaus van ziekte afweer: 1. Selectie begunstigt genen die het meest efficiënt weerbare fenotypen opleveren. 2. Gen-producten zijn eiwitten en cellen die een rol spelen in de immunrespons (a). Individuele bijen dragen bij aan antiseptisch gedrag (b). 3. Groepen van individuen werken samen aan gemeenschappelijke afweer, de 'sociale immuniteit'. 4. Populaties van bijenvolken geven inzicht in grootschalige ziekte-dynamica. Figuur letterlijk overgenomen uit Wilson-Rich *et al.*, 2009.

2.2.1.1 Verdediging op gen niveau

In de natuur zorgt ziektedruk ervoor dat er via natuurlijke selectie meer resistentie-genen en -allelen in het genoom opgenomen worden. Bij solitaire dieren zal het vaker om individuele fysiologische aanpassingen gaan waarmee het organisme zich weert tegen de belagers, in sociale organismen zal een groter aandeel worden gevormd door sociale of groeps-niveau verdediging, soms ten koste van een deel van de individuele genen. Dat laatste lijkt het geval te zijn bij honingbijen: ze bezitten minder genen voor individuele (fysiologische) defensiemechanismen dan bijvoorbeeld de fruitvlieg en de steekmug. Bovendien is expressie (=actief worden) van die genen in sommige levensstadia ook nog beperkt in vergelijking met andere stadia (bijvoorbeeld wel actief in de volwassen bij, maar niet in een larve). Voor sommige genen is dat strikt logisch (wat heeft een larve of pop aan steeklust?), voor andere genen is het minder duidelijk of simpel te verklaren, maar een relatie met gedrag en rol in het volk ligt voor de hand.

Zijn honingbijen dan (in vergelijking met fruitvliegen) ziektegevoelige kneusjes? Zeker niet, want ze hebben diverse mechanismen die 'het gebrek aan resistentiegenen' compenseren dan wel onbelangrijk maken (je zou ook kunnen zeggen: mechanismen die honingbijen de luxe geven om met minder resistentiegenen toe te kunnen, kortom er is bezuinigd op overbodige genen).

2.2.1.2 Verdediging op individu-niveau

Werksters in het volk kunnen ontdekken dat sommige van hun nestgenoten ziek zijn, en als reactie daarop antiseptisch gedrag beginnen, poetsen en elkaar poetsen, lijken verwijderen uit het volk, insmeren van de cuticula met klier producten, contact met zieke nestgenoten vermijden.

Net als alle andere dieren beperken honingbijen de negatieve invloeden van ziekteverwekkers via mechanismen van resistentie en tolerantie. Mechanische barrières zoals de cuticula en epitheelagen houden indringers buiten. Het ziet er naar uit dat honingbijen veel meer antimicrobiële stoffen op hun cuticula hebben dan niet sociale bijen, misschien als compensatie voor de risico's van het zo dicht op elkaar zitten in een volk. Fysiologische barrières zijn bijvoorbeeld de pH (zuurgraad) en andere chemische condities in de darm.

Honingbijen hebben naast de aangeboren een geïnduceerde immuunrespons, die binnendringende pathogenen moleculair herkent, eraan bindt en ze via een viertal routes onschadelijk maakt. Ook hebben bijen 'circulerende cellen' die in het bloed parasieten kunnen aanpakken (hemo-cyten). Diverse typen zouden present zijn, hoewel nog lang niet alles bekend is. Het meeste werk tot dusver is gedaan met bacterieziekten. Opmerkelijk is dat de ziekteafweer mechanismen veranderen met de leeftijd van adulte bijen, bijvoorbeeld de fenol-oxidase (PO) die een rol speelt bij het onschadelijk maken van bacteriën, neemt toe met de leeftijd van werksters. Dit correspondeert natuurlijk wel mooi met de toenemende blootstelling aan bacteriën als werksters gaan foerageren. Ook opmerkelijk is dat honingbijen wat minder immuun pathways hebben dan andere insecten: misschien hebben ze een geringer palet aanvallers, of hebben ze minder pathways nodig omdat veel al via de sociale immuniteit wordt gedekt.

Hoewel er nog maar net kennis begint te ontstaan ziet het er naar uit dat honingbijen zeker niet minder mechanismen hebben om virussen te lijf te gaan, waaronder RNAi (RNA interferentie blokkeert de replicatie via dubbelstrengs RNA van virussen).

2.2.1.3 Groepsverdediging tegen ziekten

De kosten van immuniteit kunnen behoorlijk omlaag door 'groeps-facilitatie'. Bedoeld worden diverse gedragingen en aspecten van de organisatie die immuniteit gemakkelijker maken (en goedkoper), bijvoorbeeld nest-hygiëne en antiseptisch gedrag. Sociale immuniteit is het aanwenden van collectieve ziekte defensie mechanismen van een samenwerkende groep. Sommig (sociaal) gedrag beschermt alleen op groepsniveau, ander gedrag werkt ook op individu niveau. Een paar sterke voorbeelden zijn de gedragsmatige structurering en de ruimtelijke compartimentering van het nest. Dat de bijen die het

voedsel halen buiten dat niet zelf opslaan maar afgeven, dat de bijen die het voedsel opslaan dat niet zelf gaan voeren aan larven maar afgeven aan de voedsters zorgt ervoor dat uitwisseling van ziekten en besmettingen niet gemakkelijk van de ene naar de andere taakgroep en locatie worden overgebracht. Sociale immuniteit is het sterkst in organismen die zowel sociale interacties als een sociale organisatie met taakverdeling hebben, en als 'super-organisme' kunnen worden genoemd. Waaronder dus de honingbij.

Een heel belangrijke factor in de bescherming tegen ziekten is de temperatuur van het broednest. Het broed is heel gevoelig voor fluctuaties in de temperatuur, daarom houden bijen het aantal schommelingen in temperatuur en de sterkte van de schommelingen heel nauw binnen de perken. Het is bekend dat bijvoorbeeld twee uur onder de 32°C aan *Ascosphaera apis*, de schimmel die kalkbroed veroorzaakt de gelegenheid biedt te kiemen in de darm van bijenlarven. Bijen die het broed verzorgen kunnen in reactie op kalkbroed infectie het broed extra verwarmen, via deze 'gezamenlijke koorts' wordt de schimmel tegengewerkt. De optimale temperatuur voor bijenbroed is 32-36°C. Het zou kunnen dat collectieve koorts ook werkt tegen de varroamijt, omdat de optimale temperatuur voor varroareproductie iets lager ligt dan die van de bijenlarven. Een groepje bijen kan bij het inballen van bijvoorbeeld een binnendringende wesp de temperatuur tot wel 45°C opvoeren.

2.2.1.4 Populatie niveau analyse

Modellen worden gebruikt om op diverse organisatieniveaus de interacties tussen ziekten en de gastheer te onderzoeken. In dergelijke modellen kan dan worden getest in hoeverre bepaalde onderdelen van de sociale structuur de immuniteit versterken of verzwakken. Het bleek dat het risico van ziekteoverdracht toenam met hogere aantallen individuen en grotere dichtheden, maar dat segregatie van stadia en taken enz. het risico enorm verlaagden (zoals wordt gedaan in honingbijenvolken). Een model van Sumpter en Martin (2004) voor de interactie tussen virussen en besmetting met Varroa toonde dat geen van de afzonderlijke hygiënische gedragingen van de bijen op zichzelf voldoende waren om het volk langdurig en stabiel te beschermen tegen virusuitbraken. Ze konden met het model uitrekenen dat volken die in staat zouden zijn de mijtbesmetting terug te brengen tot onder 15% van de normale besmetting een zodanige verlaging van virustransmissie zouden hebben dat er geen sprake meer is van virusuitbraken.

Twee belangrijke aspecten van de biologische afweer van honingbijenvolken en die belangrijk zijn op alle van bovengenoemde niveaus zijn Extreme polyandrie en Nesthygiëne.

2.3 'Veelmannerij' (polyandrie)

Elke koningin paart met 7-17 darren (ook getallen tussen 10 en 20 worden vaak genoemd). Deze (extreme) polyandrie wordt als mechanisme gezien tegen ziekten in de 'polyandrie tegen parasieten' hypothese. Inderdaad bleek dat volken met koninginnen die met veel darren hadden gepaard minder variatie in de resistentie tegen kalkbroed en Amerikaans vuilbroed hadden. Minder variatie betekent vooral, minder erg gevoelige volken (waar beide ziekten gemakkelijk zouden kunnen beginnen en uitbreken). Erfelijk verschillende halfzuster groepen in het volk (van verschillende vaders en één koningin) zijn dan eigenlijk een soort verzekering tegen een te smalle genetische variatie in eigenschappen. Meer variatie zorgt voor meer verschillende talenten verzameld in een volk, en voorkomt dat alle werksters 'hetzelfde kunstje kunnen: een volk met slechts één steeklustige halfzuster groep boezemt al ontzag in, ze hoeven niet allemaal te steken.

Het hebben van veel vaders blijkt belangrijk voor allerlei processen in het bijenvolk. Een recente studie van Mattila & Seeley (2014) liet zien dat een bijenvolk met veel verschillende vaderlijnen veel effectiever was in het benutten van voedselbronnen in de omgeving van het nest dan volken die maar één vader hadden. De verkenners uit het veel-vadervolk (vvv) bleken vooral veel onderzoekender dan die uit het eenvadervolk (1vv). Als de onderzoekers de voederplaats leeg maakten, zodat er niks meer te halen viel, bleven de verkenners toch af en toe voor de zekerheid langskomen, veel meer dan die uit het 1vv. In het volk dansten de vvv verkenners ook veel fanatieker dan de verkenners uit het 1vv. Als de voederplaats dan opeens wel weer werd gevuld waren de vvv er als de kippen bij, nog ver voordat de 1vv bijen het door hadden.

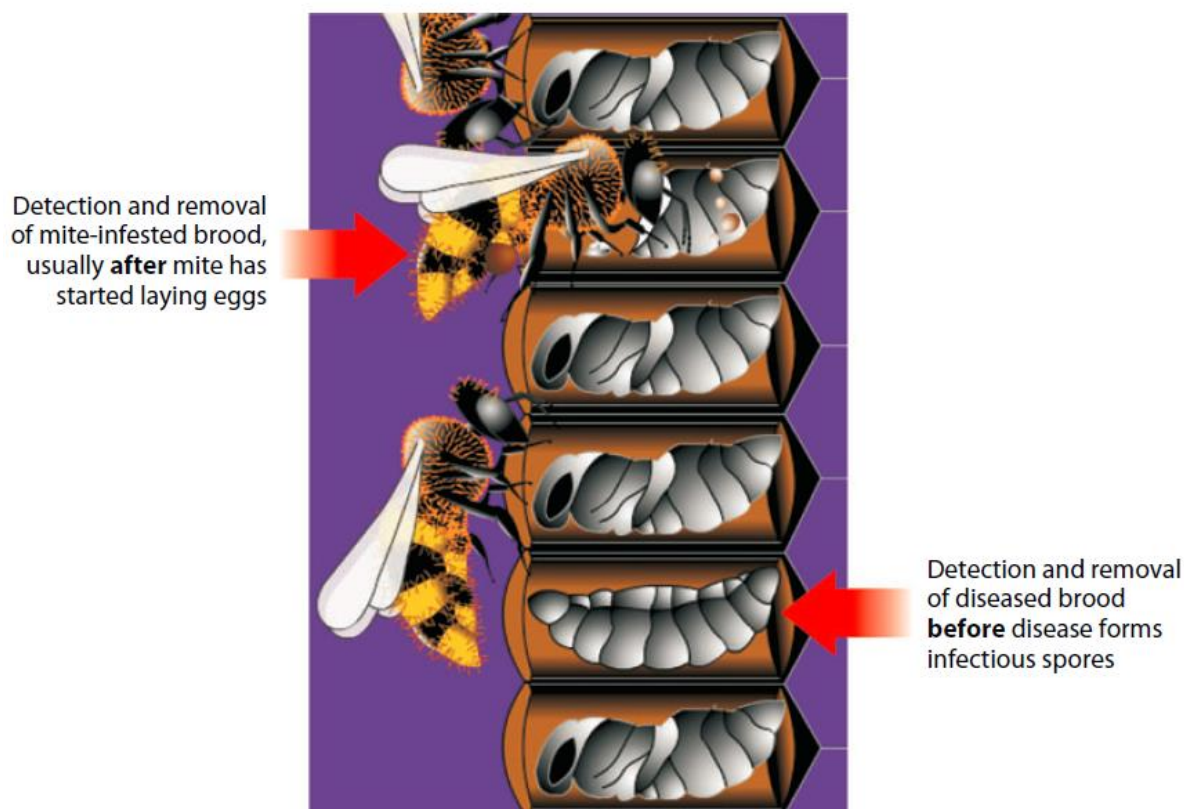
Wat misschien nog wel het opmerkelijkste was is dat genetische analyse achteraf toonde dat de 'fanatieke & vasthoudende' verkenner in het vvv maar afkomstig waren van 3 vaderlijnen, terwijl het volk wel 15 lijnen had. Dat betekent dat een bij niet alleen maar verkenner wordt omdat ze aan de beurt is (leeftijdgebonden taakopvolging) maar ook om dat ze talenten heeft, een erfelijke aanleg voor de ene taak, en misschien minder voor een andere taak, bijvoorbeeld hygiënisch gedrag (maar daar is vast wel een andere groep halfzussen heel goed in). Gezien de veelsoortige en verschillende taken in het bijenvolk is het voor het geheel belangrijk dat vele talenten aanwezig zijn, met andere woorden veel variatie door (genetische) invloeden van veel verschillende vaders. Dit geeft ook aan dat het tricky kan zijn om volken dusdanig te selecteren op een bepaalde eigenschap dat de variatie vermindert: als alle bijen fanatiek hygiënisch gedrag uitvoeren is dat goed tegen Amerikaans vuilbroed en kalkbroed, maar komt er niet genoeg eten binnen en wordt honger de ondergang van het volk.

2.4 Nest hygiëne

Nest hygiëne is gedefinieerd als 'alle activiteiten die de properheid en steriliteit (= afwezigheid ziektekiemen) van de dieren en hun directe omgeving (het nest) versterken'. Alle genen die gedrag sturen dat hieraan bijdraagt maken andere (echte) resistentiegenen overbodig. Je hoeft minder resistent te zijn tegen bacteriën als je het aanrecht goed schoon houdt en de melk kookt. Bij bijen gaat het om bijvoorbeeld de gezamenlijke broedzorg (in een veilige geklimatiseerde plek midden in het nest), toebedeeld aan specialisten (de voedsterbijen), om het 'lijkbezorgen' door 'begrafenisbijen', en het poetsen en verzorgen door werksters van zichzelf en elkaar ('grooming'). Het hygiënisch gedrag (zie volgende paragraaf) als een van de sociale immuniteitsgedragingen hoort er bij. Maar ook gaat het om de antibacteriële eigenschappen van voedersap en koninginnengelei (dat is veilig voor de larven, en het maakt het besparen op expressie van antibacteriële genen mogelijk). De natuurlijke producten die worden opgeslagen in het volk (nectar, stuifmeel) worden tegen bederf behandeld door drogen en toevoegen van eigen enzymen (glucose-oxidase in honing) en via fermentatie met behulp van specifieke bacteriën (bijenbrood). Er zijn zelfs recente aanwijzingen dat sommige soorten honing de immuun-genen aanschakelen (Mao et al., 2013), en bovendien dat met honingvoorraden van diverse herkomst (verschillende bloemen) door broedverzorgende bijen actief Amerikaans en Europees vuilbroed kan worden geremd (Erlor et al., 2014) (automedicatie met behulp van 'gezonde voeding'). De binnenzijde van het nest wordt beschermd tegen ziekteverwekkers door het aanbrengen van propolis (dat afdicht en antimicrobieel werkt). Kortom, nesthygiëne zorgt voor minder kans voor ziekten en bederf in het volk, en wordt bereikt door eigenschappen op alle niveaus: van moleculair, chemisch, via individueel gedrag tot groepsgedrag en volksniveau.

2.4.1 Nesthygiëne door 'hygiënisch gedrag'

Een bijzondere bijdrage aan nest hygiëne levert het hygiënisch gedrag. Hygiënisch gedrag is het vermogen om ziek broed te ontdekken en te verwijderen uit het nest. Het is derhalve heel direct gericht tegen ziekten. Het gedrag wordt grafisch weergegeven in Figuur 2. Het is duidelijk dat het van belang is dat zieke (bijv. door Amerikaans vuilbroed) larven of eventueel door varroa besmette larven in een vroeg stadium ontdekt worden. Bij Amerikaans vuilbroed is het verwijderen van een larve vol bacteriën van *Paenibacillus larvae* gunstig, maar als een larve of pop in een wat later stadium wordt uitgeruimd, wanneer de bacterie al is overgegaan tot sporevorming, werkt het averechts, en veroorzaakt het een uitbraak. Daarom is 'snel' hygiënisch gedrag essentieel.



Figuur 3. Hygiënisch gedrag van honingbijen (Overgenomen uit Wilson-Rich et al., 2009). Boven detectie en uitruimen van reproducerende varroa mijten (VSH), onder uitruimen van een besmette pop met een broedziekte (bijv. Amerikaans vuilbroed).

In sommige volken blijken hygiënische werksters ook sneller de voortplantende varroamijten in het broed te ontdekken, en dan een gaatje in het deksel te maken waarop andere werksters die poppen (met de mijten) opruimen. Deze eigenschap wordt 'Varroa-gevoelige hygiëne' genoemd, Varroa Sensitive Hygiene (VSH). Het is nog niet helemaal duidelijk in hoeverre genen die het (snel) hygiënisch gedrag sturen overeenkomen met die voor VSH. Een test die vaak wordt gebruikt in selectieprogramma's voor ziekteresistentie, is de naald-test waarbij met een naald poppen door het dekseltje van de cel heen worden aangeprikt, en vervolgens de volgende uren / dag wordt gekeken hoe snel deze verwonde / dode poppen worden uitgeruimd. Volken die dit snel deden worden als (snel) hygiënisch beschouwd. Op deze eigenschap was goed te selecteren, maar er bleek geen verbetering van de varroa-resistentie. De test wordt soms ook wel uitgevoerd door een stuk broed te bevriezen met vloeibare stikstof, en daarna te kijken hoe snel de gedode poppen worden uitgeruimd.

Marla Spivak in Minnesota (USA) heeft met studenten en medewerkers jaren onderzoek gedaan aan het zo genoemde 'snelle hygiënisch gedrag' van honingbijen, als een soort 'model' voor de studie van sociale immuniteit. Dit onderzoek omspant het niveau van organisatie van het gedrag vanaf het niveau van de genen, via de neuro-modulatie in de hersenen tot de individuele fysiologische respons, tot de samenvoeging van individuele responsen tot het gezamenlijke sociale immuniteitsgedrag op volksniveau. Het snelle hygiënische gedrag is gebaseerd op de snelheid waarmee bijen in het volk besmet broed ontdekken en vervolgens openen. Het blijkt dat de bijen die dit gedrag vertonen 'een betere neus' hebben voor de lucht van ziek broed (die 'neus' zit op de antennen). Dit kon aangetoond worden met electro-antennogrammen (waarbij aan afgesneden antennen een elektrisch signaal wordt afgelezen na blootstelling aan een stof) en in gedragsexperimenten (proboscis extensie respons), waaruit bleek dat de snel-hygiënische bijen al bij veel lagere concentraties geurstof onderscheid konden maken tussen gezond en ziek broed (in dit geval werd gewerkt met kalkbroed). De regulatie van de gevoeligheid bleek te liggen in de hersenen op het niveau van de octopamine receptor (OA).

Het vermogen om ziek broed te ontdekken en te verwijderen uit het nest is oorspronkelijk ontdekt als de capaciteit van bijen om met Amerikaans vuilbroed besmette gesloten broedcellen snel te herkennen, en wel voordat de larve het infectueuze stadium (sporenvorming door de bacterie) heeft bereikt. De eigenschap berust op de 'gevoelige neus' van de werksters, en detecteert ook kalkbroed in een vroeg stadium. Naast het pathogeen-verwijderende effect van de eigenschap helpt het 'temporele poly-ethisme' het gedrag nog effectiever te maken. Namelijk, dit gedrag wordt vertoond door bijen die duidelijk ouder zijn dan wanneer ze voedertaken uitvoeren. Hierdoor wordt herbesmetting van een volgende generatie larven vermeden, omdat de 'vieze' ziekte-opsporende bijen (de 'hygiënische bijen') niet meer in aanraking komen met die larven en hun verzorgsters.

De bijen die de hygiënische taken uitvoeren zijn gemiddeld 16 (\pm 7) dagen oud, duidelijk jonger dan de foerageersters. Maar weer duidelijk ouder dan de voedsters: dat zorgt ervoor dat er een scheiding is tussen verzorgen en voeden enerzijds en detectie en verwijdering van ziek broed anderzijds. Deze scheiding zorgt voor een vermindering van de kans op besmetting, ook al worden beide taken vrij dicht naast elkaar uitgevoerd. Overigens bleek in een recente studie (Mondet et al., 2015) dat de VSH werksters jonger waren dan de hier genoemde leeftijd voor snel hygiënische bijen (nl. 11.1 ± 3.7 dagen).

In volken van de snel-hygiënische lijn bleek maar 18% van de werksters zich met de hygiënische taken te bemoeien. Desalniettemin waren de volken veel sneller in het volledig uitvoeren van de taak (100% zieke poppen verwijderen in een korte tijd). In volken met veel snel-hygiënische bijen bleek er een taakverdeling te ontstaan: sommige bijen gingen alleen nog detecteren en een opening maken in de celdeksel, terwijl andere bijen de taak opnamen om de deksel verder te openen en de pop te verwijderen.

Volken van de langzaam-hygiënische lijn kunnen ook zieke en dode poppen uitruimen, maar ze doen dat pas in een veel later stadium. De kans bestaat dat de ziekte dan al infectueus is geworden, en dan draagt het gedrag eerder bij aan verspreiding van de ziekte dan aan het voorkomen.

Snel hygiënisch gedrag kan worden geselecteerd door gebruik te maken van de 'bevroren-broed-methode' (Büchler *et al.*, 2013): een stuk gesloten broed (kan van ander volk zijn) wordt bevroren, en vervolgens in een raat tussen ander gesloten broed gezet. Vervolgens wordt gekeken hoe snel de dode poppen worden uitgeruimd. Met volken die dat snel doen worden door geselecteerd. Het bevroren kan ook worden gedaan ter plekke in het veld, met vloeibare stikstof. Een andere methode is de naaldtest, waarbij een vast aantal cellen in een raster wordt aangeprikt met een scherpe naald, en vervolgens wordt gekeken hoe snel de aangeprikte poppen worden verwijderd. Het bleek dat volken via deze methode geselecteerd heel gevoelig waren voor lage concentraties van een van drie specifieke vluchtige stoffen die vrijkomen na infectie met kalkbroed (phenetyl acetaat). Het is dus waarschijnlijk dat deze signaalstof niet specifiek is voor kalkbroed (de bijen waren op snel hygiënisch gedrag geselecteerd via de broed-vries methode, niet via kalkbroed infectie), of dat de snel-hygiënische bijen extra gevoelig zijn voor meer stoffen.

De snel-hygiënische volken geselecteerd met de broed-vries methode bleken ook een lagere besmetting van varroa te hebben, misschien dat deze bijen ook via vluchtige stoffen actieve varroa-mijten in het gesloten broed ontdekken, bijvoorbeeld stoffen die vrijkomen bij het verwonden van de pop (voor het voeden van de mijtenfamilie) of van de fecaliën van de mijten.

2.4.2 VSH

Een andere aanpak van selectie werd toegepast door Harbo & Harris (zie Harris 2007), die volken selecteerden waarin over een bepaalde periode de varroa-populatie afnam. Eerst dachten de onderzoekers dat in deze volken de mijten zich minder snel voortplantten, maar bij nader inzien bleek dat de volken snel hygiënisch gedrag vertoonden, waardoor veel mijten werden 'gearresteerd' en dus niet konden voortplanten. Ook bleek dat deze selectie daar nog beter in was dan de volken geselecteerd

met de bevroren-broed methode. Daarom is de eigenschap Varroa-gevoelige hygiëne genoemd (varroa sensitive hygiene, VSH).

Doordat volken met VSH specifiek de mijten opsnorren die met de reproductie begonnen zijn, vind je uiteindelijk in die volken als je cellen openmaakt relatief meer mijten die niet reproduceren (want die laten ze zitten).

2.4.3 Grooming

Grooming (verzorging) is het ontdoen van het lichaam van parasieten en 'viezigheid' zoals stuifmeelkorrels en resten van allerlei soort die op de huid en in het haarkleed achterblijven. Zowel auto-grooming (je zelf poetsen) als allo-grooming (elkaar schoonmaken) komen voor. Een bij die zich wil laten schoonpoetsen maakt een soort dans met schokkende bewegingen, waardoor andere bijen haar gaan poesten, vooral bij de basis van de vleugels.

In de Aziatische honingbij (*Apis cerana*), de oorspronkelijke gastheer van varroa, wordt actief gepoetst tegen varroa, en hetzelfde gebeurt bij de Afrikaanse ondersoorten van onze honingbij. Daarbij is het niet genoeg dat de mijten worden verwijderd, ze moeten ook worden beschadigd door het afbijten van ledematen of indeuken van het exoskelet, zodat de mijten niet even gemakkelijk op een andere bij kunnen stappen. In Amerika heeft men van de westerse honingbij inmiddels selecties van high- en low-grooming bijen. In onderzoek van Currie en Tahmasbi (2008) bleek dat zowel in laboratorium experimenten met bijen met mijten in kooitjes als in volken tijdens de overwintering de populatie mijten sneller verkleinde. Het bleek echter ook dat de high-grooming eigenschap kosten met zich meebrengt: de bijen zelf leven korter dan die van de low-grooming lijnen.

Het zou kunnen zijn dat high-grooming ook nog extra kosten meebrengt, in de vorm van juist extra risico op ziekteoverdracht. Voor bijvoorbeeld het Chronische bijenverlammingvirus (CBPV) is extra intensief contact met likken en kauwen een manier om gemakkelijk overgedragen te worden.

2.4.4 Lijkbezorging (Undertaking)

Wetenschappelijk genoemd 'Necroforisch gedrag' is het verwijderen van dode volwassendieren uit het nest. Omdat honingbijen door hun leeftijdsgebonden taakverdeling hun leven eindigen met taken buiten de deur, sterven ook de meeste bijen buiten, en is de lijkbezorging een relatief kleine taak. Zeker als je het vergelijkt met mieren, die zelfs over 'mortuarium-kamers' in hun nest beschikken, met speciale bewakers ervoor. Toch is de taak wel belangrijk, zeker na perioden met slecht weer om uit te vliegen kunnen zich dode bijen ophopen onder in het nest, met risico voor besmetting als ziekten in het spel zijn. Bijen die besmet zijn met *Nosema* blijken sneller verloren te gaan in het veld (en blijven bovendien korter binnen), maar met virus besmette bijen zouden eventueel sneller verwijderd kunnen worden via actieve lijkbezorging. Er is nog niet zo veel onderzoek gedaan naar het belang van de lijkbezorging bij honingbijen.

2.5 Veranderingen van/in het nest

Het nest van honingbijen is een van de buitenwereld afgescheiden milieu, waarbinnen door gedrag, fysiologie, sociale structuur enz. een geschikt en veilig klimaat wordt geschapen om functies als broedzorg, opslag en verwerking van voedsel goed en gecontroleerd te laten verlopen.

2.5.1 Nest architectuur en het gebruik van harsen

Van nature nestelen bijen in holle bomen of holten in rotsen. Ze stellen daarbij diverse eisen aan de te gebruiken holten (zie daarvoor het prachtige boek van Tom Seeley 2010, 'Honeybee Democracy'), hoewel door schaarste aan nestholten meestal niet aan alle eisen/wensen kan worden voldaan. Als een nestholte eenmaal is gekozen, wordt deze door de bijen aangepast aan hun eisen en verbeterd. Ze verwijderen rot hout, schimmel, en smeren de wanden en kieren helemaal af met propolis. Het woord pro-polis komt van het Grieks, en betekent 'voor de stad', wat refereert aan het gebruik van propolis om een te grote nestopening te verkleinen. Deze 'propolis-enveloppe' beschermt het nest tegen vocht, schimmels, tocht en soms ook direct zonlicht (via kieren) (Simone-Finstrom & Spivak, 2010). Ook de wasraten die in het hol gebouwd worden krijgen vaak een propolislaagje, mogelijk voor stevigheid en misschien tegen bacterie- of schimmelgroei. Propolis heeft antimicrobiële eigenschappen (afkomstig van

de planten waarvan het geoogst is, en vooral tegen Gram-positieve bacteriën), en propolis kan gebruikt worden tegen diverse honingbijenplagen (Amerikaans vuilbroed, maar ook tegen varroa heeft het een werking). Popova et al (2014) vonden dat een varroa-resistente populatie bijen in Avignon minder plantenharsen in hun propolis had ('balsem', het in 70% ethanol oplosbare deel van de propolis), dat terwijl een paar actieve stoffen (penteny caffeaten en cafeïne zuur) juist beter vertegenwoordigd waren. Een recente studie (Simone-Finstrom & Spivak, 2012) liet zien dat na een infectie met *Ascosphaera mellifica* (kalkbroed-schimmel) de bijen meer propolis gingen verzamelen, en bovendien dat door extra toediening van propolis aan bijenvolken deze volken twee immunogenen veel minder tot expressie brachten, ze konden daarop bezuinigen omdat propolis al immuniteit geeft. Propolis wordt ook gebruikt om indringers in te kapselen, zoals muizen, slakken, vlinders, die te groot zijn om naar buiten te werken en daarom in het nest zelf onschadelijk moeten worden gemaakt. Ook wordt verontreinigd stuifmeel / bijenbrood 'begraven' onder propolis. Tegen de kleine bijenkastkever maken de Kaapbijen uit Zuid Afrika 'propolis-gevangenissen'.

2.5.2 Sociale organisatie

Hoewel de sociale organisatie al veel bestudeerd is werd dat nog niet veel gedaan met het oogmerk van ziekteoverdracht en afweer. De leeftijdgebonden taakverdeling in het bijenvolk is waarschijnlijk deels ontstaan vanuit de noodzaak om verspreiding van ziekten te vermijden. Dat bij sommige ziekten de taakopvolging sterk wijzigt, zoals bij infectie met *Nosema* (die veel eerder gaan foerageren, omdat ze het voederen overslaan) zou een ziektevermijdende aanpassing kunnen zijn, hoewel vanuit het perspectief van de parasiet het misschien slechts een bijkomend nadeel is (een *nosema*-besmette bij kan domweg niet voeren, want ze heeft slechte voedersapklieren).

2.5.3 Symbiotische bacteriën

Honingbijen onderhouden een heel specifieke populatie van bacteriën in hun darmen en lichaam, die mogelijk een rol spelen bij het gezond houden van de bijen, en zeker bij de voedsel-gezondheid, de kwaliteit van honing en bijenbrood. Heel belangrijk zijn de melkzuurbacteriën (*Lactobacillus spec.* en *Bifidobacterium spec.*) die in de honingmaag van bijen leven, en in ruil voor het voedselrijke milieu allerlei gunstige stoffen produceren zoals organische zuren, waterstofperoxide, diacetyl, benzoaat en bacterieremmers. De bacteriën remmen de Amerikaans vuilbroedbacterie *P. larvae* sterk (Moritz et al., 2010).

2.6 Conclusies en perspectief

Zoals hierboven beschreven zijn er diverse eigenschappen en gedragingen van bijen die bijdragen aan ziekte afweer, en die door de juiste bijenhoudersmethoden toe te passen kunnen worden versterkt, evenals in sommige gevallen door selectie.

2.6.1 Interacties tussen parasieten

Tot dusver is er nog niet zo veel onderzoek gedaan naar interacties tussen verschillende groepen van parasieten en ziekteverwekkers. Nu met moleculaire middelen steeds meer pathogenen tegelijk kunnen worden vastgesteld in een en hetzelfde monster en dat eventueel gekoppeld kan worden aan verschijnselen in het veld, zal dat aantal toenemen. Met de moderne methoden kan ook kwantitatief worden gekeken naar de ziekteverwekkers, wat de mogelijkheid opent om interacties echt te bestuderen.

2.6.2 Virulentie verschillen en de dreiging van verplaatsing van parasieten

Van diverse ziekten en parasieten is bekend dat ze enorm kunnen verschillen in virulentie (bijv. Amerikaans vuilbroed, IAPV is veel virulenter in Israël dan in USA, verschillende haplotypen van de varroamijt). Het is daarom van groot belang om binnenslepen van (bekende) ziekten van elders te

voorkomen, door zo min mogelijk bijen en producten van bijen te importeren en te introduceren in de eigen bijenstand. Via Argentijnse honing kunnen we zo maar een nieuwe stam van *Paenibacillus larvae* introduceren. Het is tegelijkertijd van groot belang verschillende lijnen van een ziekteverwekker goed te kunnen detecteren.

2.6.3 Veredeling voor resistente of tolerante bijen

Binnen bijenvolken is er tussen individuele bijen een grote variatie aan ziekteverstand. Kennelijk is het voor een bijenvolk niet per definitie het gunstigst om te investeren in volledige resistentie van alle individuen. Dat kan (en dat is waarschijnlijk) te maken hebben met de kosten van de individuele immuniteit. En niet te vergeten: de veelheid van mogelijke ziekteverwekkers. Daarnaast is het goed in gedachten te houden dat voeding en andere omgevingsfactoren een grote invloed hebben op de weerstand. Als er veredeld wordt is het in ieder geval van belang de individuele en sociale mechanismen die samen voor afweer zorgen ook samen te veredelen.

Het grote aantal erfelijk sterk verschillende vaderlijnen in een bijenvolk suggereert dat het op volksniveau gunstiger uitpakt om slechts een paar bijvoorbeeld snel hygiënische bijen in een volk te hebben, in plaats van (bijna) alle bijen met die eigenschap. Los van selectie bleek uit proeven van Tarpay & Seeley dat volken met meer vaderlijnen meer afweer tegen ziekten hebben. Een recente publicatie (Tarpay *et al.*, 2013) liet zien dat volken met minder patrilijnen een grotere kans hadden verloren te gaan in de winter dan volken met veel vaderlijnen.

2.6.4 Vermijden van ziekterisico's door veranderingen in de manier van bijenhouden

Naast de veredeling – die op termijn het meeste perspectief biedt volgens Evans and Spivak – zijn er ook mogelijkheden om via de manier van bijenhouden veel te verbeteren. Allereerst wordt voorgesteld om te streven naar minder gebruik van antibiotica (gelukkig in EU al het geval, i.t.t. Amerika) en pesticiden (bijv. tegen varroa). Antibiotica gebruikt tegen *Paenibacillus larvae* (veroorzaakt Amerikaans vuilbroed) zouden bijvoorbeeld ook een negatief effect hebben op de bacteriën uit de geslachten *Lactobacillus* en *Bifidobacterium*, die als symbiont (samenwerkend organisme) in de honingmaag en darm van honingbijen een belangrijke rol spelen (Moritz *et al.*, 2010).

De auteurs noemen drie mogelijke veranderingen:

1. Laat door een eventueel veranderde bouw van de bijenkast de natuurlijke 'propolis enveloppe' weer toe. Het minder glad afwerken van de binnenkant van de kasten stimuleert de bijen dit te doen, en het is ook gunstig als het nest minder 'gebroken' wordt. (bijv de kasten in Nederland bieden pas op twee bakken (of misschien op anderhalve bak), voldoende ruimte voor een broednest. Zou dat in één bak passen, dan werd bij inspectie de propolisenveloppe alleen aan de bovenkant doorbroken, op twee bakken ook in het midden).
2. Laat bijenvolken veel nieuwe raten bouwen. Deze aanbeveling wordt overigens in Europa al veel meer opgevolgd dan in Amerika. Nieuwe raat bevat minder residuen en minder ziektekiemen, nog afgezien van het feit dat je als imker beter kunt waarnemen in jonge lichte raten.
3. Voorkom zo veel mogelijk de horizontale verspreiding van ziekten tussen volken, zowel door een opstelling van volken te kiezen die minder vervliegen veroorzaakt, als door minder reizen, zeker naar plekken waar (veel) andere imkers ook naar toe reizen.

3 Afweer tegen giftige stoffen

Afweer tegen giftige stoffen

Van nature komen bijen in aanraking met giftige stoffen in het milieu: xenobiotica in nectar en stuifmeel en plantenharsen (bron voor propolis) en soms in water.

Naast deze natuurlijk voorkomende giftige stoffen kunnen bijen ook blootgesteld worden aan milieuverontreiniging en aan pesticiden uit de landbouw en afkomstig van de imker.

Honingbijen kunnen veel giftige stoffen uitscheiden of ontgiften.

Blootstelling aan (natuurlijk en onnatuurlijk) gif kan een effect hebben op de ziekte afweer (zowel positief als negatief).

Hoewel de afweer tegen schadelijke stoffen uit het milieu een beetje terzijde staat van de afweer tegen ziekten wordt het hier toch kort behandeld. Daarvoor zijn twee redenen:

1. bijen zijn niet weerloos tegen gif (natuurlijk gif en door de mens toegediend gif) maar soms wel gevoelig
2. gif kan soms het effect van ziekten versterken of juist verzwakken, en omgekeerd. Dit is een onderwerp dat momenteel sterk in de belangstelling staat.

De afweer tegen giftige stoffen wordt behandeld aan de hand van de recente review van RM Johnson (2015).

Xenobiotica (= alle schadelijke stoffen) uit het milieu zijn vaak van natuurlijke herkomst. Aangezien deze stoffen niet snel of vaak veranderen zal er voor bijen ook niet veel reden zijn om meer of minder 'last' te krijgen van dergelijke stoffen, behalve als een plant met giftige stoffen in nectar, stuifmeel of propolis opeens grootschalig geteeld gaat worden, of wanneer een nieuw geselecteerde cultivar hogere concentraties van xenobiotische stoffen bevat. Wel wordt door onderzoek steeds meer bekend over aanwezigheid en identiteit van xenobiotica in nectar en stuifmeel. Ook via water kunnen bijen blootgesteld worden aan natuurlijke giftige stoffen, zoals toxinen van bacteriën en algen.

Niet-natuurlijke xenobiotica zijn allerlei milieuverontreiniging (o.a. zware metalen, fijnstof), pesticiden gebruikt in de landbouw, maar ook stoffen gebruikt door de imkers tegen varroa, of om de bijenkast mee te verduurzamen. Blootstelling aan al deze van de mens afkomstige giftige stoffen gebeurt via een veelvoud aan blootstellingsroutes (lucht, plant, water enz.). In het bestek van dit rapport voert het te ver om dieper in te gaan op dit aspect, daartoe verwijs ik naar de review van Johnson (2015). Het is echter van belang te weten dat veel toegepaste insecticiden en andere pesticiden werkingsmechanismen hebben die overeenkomen met of afgeleid zijn van die van natuurlijke giftige stoffen. Daardoor hebben ontgiftigings- of vermijdingsmechanismen die de bijen hanteren vaak ook effect tegen de kunstmatige giften, hoewel lang niet altijd voldoende.

Natuurlijke toxinen in voedsel

1. Giftige koolhydraten

Bijen leven het langst op saccharose (kristalsuiker, rietsuiker, bietsuiker), maar ook fructose, glucose, maltose, melezitose en trehalose zijn goed te verteren door bijen. Daarentegen zijn er ook suikers die ongezond zijn voor bijen, de monosachariden arabinose, mannose, xylose en galactose. Lindennectar bijvoorbeeld bevat mannose, en is daarom niet heel gezond voor bijen. Ook meervoudige suikers die galactose bevatten zijn ongezond (raffinose, melibiose, stachyose, lactose). Bijen kunnen zetmeel wel

afbreken tot gezonde suikers. In 'high fructose corn syrup' (HFCS) zitten soms in lage concentraties ook wat minder gunstige meervoudige suikers.

2. Fenolen

Deze flavonoïden in planten werken als anti-vraatstof (bijv. voor rupsen) en maken de plant slechter verteerbaar. Ze komen ook voor in nectar en vooral stuifmeel. Quercitin is de meest aanwezige flavonoïde, die de mitochondriële ATP productie verstoort, maar waartegen bijen erg actieve detoxificatie hebben, zodat er geen schade van komt. Sommige flavonoïden in honing zouden afkomstig kunnen zijn uit propolis, en zouden kunnen helpen om de honing minder bederfelijk te maken.

3. Cyanogene glucosiden

Amygdalin komt in hoge concentraties voor in nectar van Prunus (o.a. de amandelboom). Bij hydrolyse na opname door een insect van amygdalin ontstaat blauwzuur (HCN) dat giftig is (remt ademhaling in mitochondria).

4. Alkaloïden

Dit is een heel diverse en veel voorkomende groep van gifstoffen in planten, die ook in nectar en pollen voorkomen, hoewel meestal in lagere concentraties dan in de rest van de plantenweefsels. De stoffen zijn meestal heel bitter.

Pyrrolizidine alkaloïden (PA's) komen voor in diverse nectar en stuifmeelsoorten, in Nederland o.a. in Slangenkruid en Jacobskruid. PA's zijn giftig voor bijen en voor mensen, bijen kunnen PA's niet detoxificeren.

Het alkaloïd cafeïne komt ook veel in nectar voor, bijv. in Citrus, evenals in stuifmeel. Lage concentraties in nectar stimuleren de activiteit van bijen en hun leervermogen, hoge concentraties werken repellent (weren af, dus worden minder graag gegeten).

Nicotine behoort tot de pyridine alkaloïden, en werkt op de receptor voor de neurotransmitter acetylcholine. In de tabaksplant is het gehalte in bladeren 20.000 keer hoger dan in nectar en 5000 keer hoger dan in stuifmeel. Het blijkt dat bijen nicotine uit nectar goed kunnen detoxificeren. Larven zijn gevoeliger voor nicotine dan volwassen bijen, hoewel een recente studie met *Apis mellifera scutellata* tot heel hoge concentraties nicotine nauwelijks effecten toonde in larven (Human *et al.*, 2014). Eerdere studies lieten zien dat lage doseringen nicotine zelfs de levensverwachting verhoogden (Köhler *et al.*, 2012). Bijen waren gevoeliger voor nicotine als ze minder eiwit in hun dieet hadden gehad (Archer *et al.*, 2014).

5. 'Natuurlijke' toxines gebruikt door bijenhouderij

Mierenzuur en oxaalzuur komen van nature voor in honing, maar worden door de imkers tegen de varroamijt gebruikt in veel hogere concentraties. Mierenzuur (damp) bindt aan cytochrom c oxidase en remt daardoor de mitochondriële ademhaling. Op die manier worden de mijten aangepakt, maar kunnen ook de larven van de bijen worden beschadigd. Oxaalzuur werkt waarschijnlijk via de kleine kristallen die het maakt op de cuticula van de bijen, waar de mijten last van hebben maar dat ook extra grooming uitlokt. Het exacte mechanisme van werking is niet bekend. Bij de toepassing in suikeroplossing krijgen bijen ook wat oxaalzuur binnen, wat enige schade aan het middendarmepitheel geeft.

Thymol, een monoterpenoïde, werkt in mijten (en bijen) waarschijnlijk op het centrale zenuwstelsel, op de GABA receptor, dezelfde receptor die ook door het insecticide fipronil wordt geblokkeerd. Thymol geeft vaak schade aan het broed (jonge larven).

3.1 Waaron zit er van nature gif in nectar en pollen?

Veel onderzoekers hebben zich afgevraagd wat de functie is van onverteerbare of giftige stoffen in nectar, en het is het onderwerp van een review van Adler (2001). Dat zulke stoffen in bladeren het leven van rupsen onaangenaam maken ligt voor de hand, maar nectar is toch de beloning (en dus het lokkertje) van de plant voor de bestuiver? Het zou kunnen zijn dat de beoogde bestuiver er geen hinder van ondervindt, maar andere wel. Diverse functies van giftige of 'afstotende' (deterrent) nectar zijn geopperd. Het zou er bijvoorbeeld voor kunnen zorgen dat sommige, niet gewenste, bestuivers worden

afgeschrikt (als de uitverkoren bestuiver er wel tegen kan), het zou nectarrovers (bijvoorbeeld mieren) kunnen weren of afbraak/bederf van de nectar door micro-organismen tegengaan. Een afwerende (bittere) stof in nectar zou er ook voor kunnen zorgen dat bestuivers korter blijven op een bloem, daardoor meer bloemen moeten bezoeken (zie alinea in Köhler et al., 2012, over nicotine en het bezoek van bloemen door motten en kolibries). Waarschijnlijk werkt dit niet voor bijen, die nectar opslaan (en waar eerder stoppen dus niet zinvol is).

In haar overzicht van de literatuur vindt Adler (2001) echter geen doorslaggevend bewijs voor dergelijke 'bedoelde' voordelige effecten. Zij stelt dat de mogelijkheid dat het 'per ongeluk' in de nectar komt omdat het domweg in het floeem-sap zit net zo reëel is en onderzoek verdient. Daarvoor pleit ook de (lage) concentratie nicotine in nectar van de tabaksplant, vergeleken met de concentratie in de bladeren en waarschijnlijk in het floeem (hoewel dergelijk bewijs schaars is).

Een recente publicatie in PNAS (Mao et al., 2013) toonde aan dat diverse in honing aanwezige secundaire plantstoffen, hoewel vaak niet direct uit nectar maar afkomstig van propolis en stuifmeel, een rol kunnen spelen bij het activeren van immuunreacties en detoxificatieprocessen. *p*-Coumarinezuur, alom aanwezig in honing zou je kunnen beschouwen als een 'nutra-ceutical' (een voedsel-component met medicinale werking), die 'algemeen' werkt als een inductor van de gen-activiteit van detoxificatie enzymen, bijvoorbeeld P450's. Dat is van belang omdat veel van deze enzymen, net als bij herbivore insecten (rupsen), niet induceerbaar zijn door hun substraat zelf.

4 Overzicht van de belangrijkste bijenziekten en plagen

In dit hoofdstuk worden de belangrijke ziekten individueel kort beschreven (1), samen met de afweer van de bijen tegen de ziekten (2) en de mogelijkheden die de imker heeft tegen de ziekte (3). Als basis dienen de artikelen uit de in 2010 verschenen Special van de Journal of Invertebrate Pathology over Honey Bee Diseases (nr. 103-S). De varroamijt wordt apart behandeld in hoofdstuk 5. In dit hoofdstuk worden achtereenvolgend behandeld Europees vuilbroed, Amerikaans vuilbroed, kalkbroed, Nosema, Virussen (DWV, de acute verlamningsvirussen ABPV, IAPV, KBV, en het chronische verlamningsvirus CBPV). De algemene beschrijving en informatie over elke ziekte wordt summier gehouden, en verder wordt deels verwezen naar de brochures van bijen@wur en de info over de ziekten op deze website.

4.1 Europees vuilbroed

Overzicht literatuur: *E Forsgren 2010 European foulbrood in honey bees J.Inv.Path. 103, S5-9*

Europees vuilbroed (EVB) wordt veroorzaakt door de bacterie *Melissococcus plutonius* (Gram-positief). Na infectie via het voedsel door *M. plutonius* wordt de larve geïnfecteerd door secundaire infecterende bacteriën (o.a. *Paenibacillus alvei* en *Enterococcus faecalis*), die de dode larve mee verteren, en zorgen voor de naamgevende stank ('stinkend vuilbroed, zuurbroed'). EVB komt wereldwijd voor. De bacterie *M. plutonius* blijkt verrassend homogeen te zijn voor zowel morfologische, fysiologische, immunologische als genetische kenmerken. Gezien die homogeniteit is het maar zeer de vraag of de toenemende infectiegraad vanaf 1990 in Zwitserland wel veroorzaakt wordt door een toenemende virulentie zoals meestal aangenomen. In de monitoring bij 170 imkers in 2008 in Nederland (Blacquière, 2008) kwam *M. plutonius* (bepaald met PCR) voor in 36% van de bijenstanden, dus ook hier is EVB redelijk algemeen voorkomend. Voor herkenning van de symptomen in het bijenvolk zie de brochure broedziekten uit 2008 (Cornelissen *et al.*, 2008).

M. plutonius reproduceert alleen in de darmen van bijenlarven (zuurstofloze condities en hoog CO₂ nodig). Larven die besmet zijn ledigen hun darm bij het verpoppen, de uitwerpselen in de broedcel bevatten veel bacteriën, en zijn een besmettingsbron voor de rest van het volk. Daarom is het van belang dat de werksters zieke larven snel herkennen en verwijderen, voordat ze verpoppen. Overigens sterven heel veel besmette larven al als ze 4 of 5 dagen oud zijn, ze komen dan niet eens aan verpoppen toe. In het volk helpt goed en snel uitruimgedrag door de werksters de verspreiding van de ziekte tegen te gaan. De bacterie komt in een besmet volk ook in honing terecht en kan via die route waarschijnlijk door rovende bijen worden binnengehaald in naburige volken.

De ziekte komt meer voor bij hele dichte plaatsing van bijenvolken op een stand (meer vervliegen) en bij een hoge dichtheid van bijenstanden (voorbeeld Zwitserland). Uitbraken treden het meest op na 'stress' van bijenvolken, zoals gebrek aan voedsel of water. Het voorkomen van roven (door de imker of door de bijen zelf) helpt tegen verspreiding van EBV.

In veel landen wordt het antibioticum oxytetracycline hydrochloride (OTC) als remedie toegepast, maar het gebruik kan de aanwezigheid van de bacterie maskeren. Als remedie voor de imker zijn twee methoden voorhanden: doden en verwijderen van zieke volken, of het herstarten van de volken op schone kunststraat in schone kasten (Kunstzwerm-methode, waarbij alle oude raten en broed worden omgesmolten of weggegooid). De kunstzwermmethode blijkt goed te werken om volken weer gezond te krijgen, maar bijenstanden waren een jaar later nog niet volledig vrij van bacteriën, dus het blijft oppassen.

In het kort

Weerbare honingbij, Verkenning initiatieven en literatuur

31 van 67

Europees vuilbroed (EVB) is een algemeen voorkomende broedziekte, ook in Nederland, en wordt veroorzaakt door de bacterie *Melissococcus plutonius*.

Bijenvolk: Tegen EVB helpt hygiënisch gedrag van de werksters. Goed verdedigen van de nestingang helpt tegen verspreiding door roven (maar vooral naar het rovende volk toe).

Imkers: Goede opstelling van volken voorkomt vervliegen. Het voorkomen van voedselgebrek is essentieel (en vermijden van 'kaal slingeren').

Voorkom naast honger ook zwakke volken, die beroofd kunnen worden.

4.2 Amerikaans vuilbroed

Overzicht literatuur: *E Genersch 2010 American foulbrood in honeybees and its causative agent Paenibacillus larvae. J.Inv.Path. 103, S10-19*

Amerikaans vuilbroed (AVB) is al meer dan een eeuw geleden beschreven en al veel langer bekend. Het wordt veroorzaakt door de sporevormende bacterie *Paenibacillus larvae* (Gram-positief). De ziekte komt wereldwijd voor. In Nederland (Blacquièrè, 2008) was in 2008 in de monitoring van 170 imkers slechts één stand positief (via bacteriekweek van afspoelsel van bijen, mogelijk was met PCR een hogere prevalentie gevonden), dus minder dan 1%.

Recent is de systematiek van de bacterie opnieuw beschreven, typen die eerder als aparte soort werden beschouwd zijn nu alle ondergebracht in een soort. De soort valt uiteen in vier typen, ERIC I-IV, alleen ERIC I veroorzaakt uitbraken van AVB, maar alle vier typen zijn in staat larven te besmetten en te doden. De typen II-IV doden een larve van honingbijen binnen 7 dagen, type I binnen 12 dagen. Dus type I is voor individuele larven veel minder dodelijk dan typen II-IV, maar op volksniveau is type I juist veel schadelijker. Type I doodt de larve pas na het sluiten van de cel (sluit gemiddeld 9 dagen na het leggen van het ei), waardoor de besmetting niet snel ontdekt en uitgeruimd wordt. Een dode larve op dag 7 (typen II-IV) wordt al snel ontdekt en verwijderd, wat de verdere verspreiding en het aantal zwaar besmette cellen binnen de perken houdt in een volk.

Alleen larven zijn vatbaar voor de sporen van de bacterie, en dan nog vooral heel jonge larven: in de leeftijd van 12-36 uur kunnen ze al besmet worden met een dosis van 10 sporen. Een besmette larve ontwikkelt zich wel door tot pop. Wanneer ze als pop doodgaat wordt ze volledig omgezet in bacteriemassa. Deze bacteriemassa wordt in het eind lijmachtig, wat betekent dat de bacteriën zijn overgegaan tot sporevorming: elke larve verwordt tot miljarden sporen. De ingedroogde korsten later ontstaan uit de lijmachtige massa bestaan vrijwel volledig uit sporen, die wel 35 jaar kiemkrachtig blijven.

De verspreiding van AVB gebeurt horizontaal (van het ene naar het andere volk, vooral door het beroven van besmette en verzwakte volken) maar ook verticaal (= naar de volgende generatie) door zwermbende besmette volken. Dat laatste gebeurt vooral met de minder virulente typen van *P. larvae* (ERIC II-IV) die niet meteen een volk te erg verzwakken.

Het bleek dat volken met snel hygiënisch gedrag (geselecteerd met de bevroren broed methode) veel minder vatbaar zijn voor AVB. Hier aan is in het verleden veel werk gedaan in de USA door Marla Spivak en medewerkers.

Het meeste perspectief voor de toekomst tegen AVB is daarom het selecteren van meer resistente volken. Op laboratoriumschaal wordt ook gewerkt aan biocontrol (bestrijding met bacteriën) en met plantaardige oliën en propolis. Propolis is in het lab behoorlijk effectief tegen reïnculturen van *P. larvae*. De kans dat biocontrol gaat werken is voorsnog echter niet erg hoog. Het feit dat een door AVB aangetaste larve of pop een reïncultuur van *P. larvae* bevat geeft aan dat de bacterie zelf erg effectieve antibiotica produceert.

Bestrijding van AVB gebeurt in sommige landen met het antibioticum OTC, maar dat helpt tegen de bacterie, en niet tegen de sporen, terwijl de sporen de ziekteverspreiders zijn. Bovendien is de bacterie zelf in veel landen ook al resistent tegen OTC. In veel landen wordt daarom met 'stamping out' gewerkt, waarbij bijenstanden met een ziek volk volledig worden geruimd, en alle volken en materialen worden

verbrand. Dit gebeurde tot 2007 ook in Nederland, sindsdien is overgestapt op het ruimen van klinisch zieke volken (de uitbraak) en met de zwermmethode schoonmaken van de buurvolken.

In het kort

*Amerikaans vuilbroed is een meldingsplichtige ziekte, veroorzaakt door de bacterie *Paenibacillus larvae*. De ziekte komt wereldwijd voor en kan bij uitbraken erg schadelijk voor het volk en heel erg besmettelijk zijn voor andere volken.*

Bijen: Tegen AVB helpt hygiënisch gedrag van de werksters. Goed verdedigen van de nestingang helpt tegen verspreiding door roven (maar vooral naar het rovende volk toe).

Imkers: Voorkom zwakke volken, die beroofd kunnen worden. Omdat AVB niet wijd verspreid is in Nederland, is het voorkomen van binnenslepen van de bacterie goed mogelijk, betrek daarom geen volken van onbekende herkomst, en ontsmet gereedschap. Gebruik geen niet ontsmet materiaal van andere imkers, en voer uw volken nooit buitenlandse honing.

Omdat snel-hygiënisch gedrag van bijen effectief is tegen AVB en tegen kalkbroed, is het saneren van volken met kalkbroed al een effectieve maatregel ter voorkoming van AVB.

4.3 Kalkbroed

Overzicht literatuur: KA Aronstein & KD Murray 2010 Chalkbrood disease in honey bees. *J.Inv.Path.* 103, S20-29

Kalkbroed wordt veroorzaakt door de schimmel *Ascosphaera apis*. De ziekte komt wereldwijd voor, hoewel het in de vorige eeuw aanvankelijk vooral Europees was. De verspreiding over de wereld komt vooral voor rekening van de imkers via reizen met bijen en handel in bijen. De schimmel *A. apis* is een ascomycete, de ascosporen verzorgen de infectie, die alleen via opname in het voedsel van de larven kan beginnen. De sporen kiemen optimaal bij 35°C in de darm (zuurstofloos milieu), het mycelium daaruit groeit het best bij 30°C en met zuurstof. Larven die besmet zijn, de gevoelige leeftijd is van 1-4 dagen oud, stoppen al snel met eten. Tegelijkertijd groeit het mycelium van de schimmel door de larve heen, totdat het hele lichaam vol zit. De larve verandert dan in een harde kalkachtige mummie, sommige wit (bevat (nog) geen ascosporen) en grijs en zwart (bevatten beide wel ascosporen). Er bestaat een grote variatie binnen de soort wat betreft virulentie (factor 20 tussen stammen). In hoeverre bijenlarven en volken besmet raken heeft sterk te maken met de genetische eigenschappen van de bijen, en met de aanwezigheid van (andere) stressfactoren zoals honger.

Bijenvolken met een goed ontwikkeld (snel) hygiënisch gedrag hebben weinig last van kalkbroed, uit de proeven van Spivak aan hygiënische bijenvolken bleek dat het gedrag Amerikaans vuilbroed en kalkbroed allebei sterk verminderde. Bijenvolken kunnen tegen kalkbroed 'collectieve koorts' inzetten (de schimmel ontwikkelt veel slechter bij temperaturen boven 35°C). Het bleek dat volken met veel vaderlijnen (zie 'Veelmannerij') minder last van kalkbroed hadden.

Bijna elke imker heeft wel af en toe kalkbroed in de volken, maar het wordt zelden een bedreigende ziekte. Voorkomen en bestrijden van de ziekte gaat het best via resistente volken (hygiënisch gedrag) en een grote mate van genetische diversiteit in het volk. De imker kan daarnaast zo schoon mogelijk werken, de raten veel vervangen en in schrale perioden bijvoeren. Goed geventileerde kasten zijn ook een pré.

Alle methoden om raten (met bijenbrood) en honing te ontsmetten hadden veel nadelen en zijn niet praktisch. Bestrijding van de schimmel in het lab, met plantaardige oliën en met micro-organismen lukte

af en toe wel, maar kan (nog) niet in het bijenvolk. Propolis is met zijn schimmelwerende eigenschappen ook een eventuele mogelijkheid.

In het kort:

*Kalkbroed komt mede dankzij verspreiding door de imkers wereldwijd voor, en wordt veroorzaakt door een schimmel (*Ascosphaera apis*). De ziekte is zelden bedreigend voor een volk.*

Bijen: snel hygiënisch gedrag is de beste remedie tegen kalkbroed, terwijl een goed warm broednest de ontwikkeling van het mycelium van de schimmel remt. Hoe meer vaderlijnen hoe beter de resistentie tegen kalkbroed.

Imkers: streef naar hygiënische bijen (selectie) en hygiënisch imkeren. Zorg voor goed geventileerde kasten, voer extra bij als er tekort dreigt en laat de volken veel nieuwe raat bouwen. Een zekere mate van selectie ontstaat al door van volken die (langdurig) kalkbroed hebben, geen koninginnen aan te houden (of de koningin te vervangen).

4.4 Nosema

Overzicht literatuur: *I Fries 2010 Nosema ceranae in European honey bees (Apis mellifera) J.Inv.Path. 103, S73-79*

Nosema-ziekte (Nosemosis) wordt veroorzaakt door twee soorten Nosema (*Nosema apis* en *N. ceranae*). *N. apis* was vanouds bekend in onze honingbijen, *N. ceranae*, afkomstig van de Aziatische honingbij *Apis cerana*, is relatief kort geleden (2006 ontdekt, maar zeker al in negentiger jaren present) vastgesteld in onze bijen. Beide soorten komen voor, maar de tweede is het meest algemeen in Europa. Op de website van [bijen@wur \(PRI\)](mailto:bijen@wur.nl) staat een factsheet over [Nosema](#) (Van der Steen, 2010). Nosema behoort tot de microsporidia, die sinds kort taxonomisch bij de schimmels zijn ingedeeld. Nosema besmet volwassen bijen, na orale inname van sporen, die in de darm kiemen. Larven lijken niet te worden besmet, hoewel het onder laboratoriumomstandigheden mogelijk bleek via een hoge dosis sporen in voedsel larven te besmetten, en effecten daarvan te meten in het latere leven als volwassen bij (Eiri et al., 2015). Omdat Nosema individuele bijen verzwakt, en omdat in het lab bijen eenvoudig kunnen worden besmet met een dosis Nosema sporen, zijn diverse onderzoeken uitgevoerd naar de mogelijke interactie tussen een besmetting met Nosema en gevoeligheid voor pesticiden en andersom (o.a. Alaux et al., 2010, Vidau et al., 2011, Pettis et al., 2012), het is echter de vraag hoe de resultaten zich vertalen naar het veld, omdat bijen werden besmet met onnatuurlijk hoge doses sporen (>100.000), en in volken in het veld geen interactie werd gevonden (Pettis et al., 2012). Volgens Fries (2010) is de waarde van impactstudies met bijen in kooitjes in het lab voor de praktijk in bijenvolken twijfelachtig.

Nosema komt wereldwijd in honingbijen voor, en *N. ceranae* in ieder geval de afgelopen twee decennia ook nagenoeg wereldwijd. In de monitor van 2008 in Nederland (Blacquièrre, 2008) kwam *N. apis* in 10% en *N. ceranae* in 87% van de bijenstanden voor (PCR).

Individuele bijen blijken na infectie en het ontwikkelen van de ziekte een kortere levensduur te hebben, maar op volksniveau worden nauwelijks effecten gevonden, ondanks besmettingen tot >10⁶ sporen per bij. Individuele bijen worden al geïnfecteerd als ze ~100 sporen binnen krijgen. De sporen van *N. ceranae* zijn gevoelig voor kou (bevrozen), die van *N. apis* niet.

Na infectie met *N. apis* treedt vaak dysenterie op (wat kan zorgen voor sterke verspreiding van de infectie, zeker als de bijen zich ontlasten in het volk), bij *N. ceranae* wordt dat niet gezien.

Gezien de lage hoeveelheid sporen die kunnen besmetten (~100) en de hoge aantallen die kunnen voorkomen (miljoenen per bij) is voorkomen van infectie (via raten, honing enz. een belangrijke preventieve optie. Daarnaast is bekend dat het activeren van de bijen door kunstraat te geven en nieuwe raten te doen uitbouwen preventief werkt, evenals steeds zorgen voor voldoende dracht (stuifmeel), zie Van der Steen, 2010.

Omdat nog maar kort bekend is dat *N. ceranae* in de westerse honingbijen voorkomt is nog heel weinig bekend over de factoren die de besmetting bevorderen, en welke eigenschappen van de bijen voor afweer en resistentie zorgen.

In het kort:

Nosema was tot de komst van Varroa de belangrijkste bijenziekte in Europa en Nederland. Het ging dan om Nosema apis. In slechte jaren gingen in het vroege voorjaar veel volken aan de ziekte te gronde. De laatste decennia is naast N. apis ook N. ceranae aanwezig, zelfs algemener dan N. apis.

Bijen: er is nog niet zo veel bekend over welke eigenschappen van bijen een nosema besmetting voorkomen. Een goed defensief gedrag voorkomt roverij en vermenging van volken.

Imker: infectie via uitwisselen van raten en via voeren van honing moet worden voorkomen, evenals ondervoede en zwakke volken op de stand. Het aanbieden van uit te bouwen kunstraat stimuleert het volk en remt de ontwikkeling van nosema. Bij slechte drachtomstandigheden moet de imker reizen met de volken naar een beter drachtgebied.

4.5 Virussen

4.5.1 Deformed wing virus

Overzicht literatuur: JR de Miranda & E Genersch 2010 Deformed wing virus *J.Inv.Path.* 103, S48-61

Deformed wing virus (DWV) is het bekendste bijenvirus sinds het tijdperk dat door de varroamijt gedomineerd wordt, voor de komst van Varroa zal het zakbroedvirus het meest bekend zijn geweest. In het DWV-complex zijn ook het Varroa destructor-1 virus (VaDV-1) en Kakugo virus (KV) inbegrepen. Voor de tijd van varroa gaf DWV geen symptomen, en er is twijfel of het aanwezig was tenzij door verkeer met bijen vanuit streken waar varroa voorkwam op de Aziatische honingbij. Sinds de wereldwijde verspreiding van varroa is het aan varroa geassocieerde DWV ook mondiaal aanwezig. In de monitor van bijen@wur in 2008 werd het virus gedetecteerd in 16% van de standen, dat is onverwacht laag misschien door beperkingen van de gebruikte multiplex PCR.

In combinatie met varroa veroorzaakt het virus de bekende symptomen die verbonden zijn met een sterke varroabesmetting: dode poppen, bijen met misvormde vleugels, een gezwollen en kort achterlijf en weinig kleur. Zie voor symptomen ook de Varroabrochure (Cornelissen et al., 2010/13). Ook in volken zonder varroabesmetting wordt het virus aangetroffen in ongeveer alle stadia: ei, larve, pop, adulte bijen, in voedersap, maar zonder symptomen. Door de dominante rol van de varroamijt in de besmetting met DWV volgt het seizoenspatroon van DWV in volken het verloop van de varroabesmetting in het seizoen: een hoge virus-titer in de zomer, en een sterke verlaging van de titer bij effectieve bestrijding van varroa. In de mijten is de titer van DWV vaak veel hoger dan in de bijen, en via negatief-strengs RNA PCR is replicatie in de mijt aangetoond. Vaak echter treedt dat niet op en is de rol van de mijt slechts het overdragen van zelf binnengekregen DWV virusdeeltjes.



Figuur 4 (uit Miranda & Genersch 2010): jonge bij met verkreukelde vleugels door DWV. Een van de mijten uit de cel zit nog vastgeklemd aan de bij.

Varroamijten die een pop aanprikken om te voeden dragen virus over, maar veroorzaken ook een 'immunosuppressie' in de pop, de weerstand tegen de virusinfectie vermindert. Het ziet er naar uit dat zelfs dat nog niet voldoende is om symptomen van DWV in de pop te veroorzaken, maar dat pas in combinatie met de overdracht (bij het aanprikken) van enorme aantallen virusdeeltjes (uit mijten met 10^{10} - 10^{12} viruskopieën) tot symptomen leidt. Zulke hoge virus aantallen komen alleen voor in mijten waarin DWV replicateert.

DWV kan ook zonder aanwezigheid van varroa worden overgedragen, zowel horizontaal (o.a. via voedsel en via faeces) als verticaal (via eieren, via het sperma van de dar). Dergelijke infecties blijven 'covert' (verborgen), ze geven geen symptomen. Via de vector varroa (en waarschijnlijk ook via de *Tropilaelaps*mijt) kan het virus worden overgedragen op adulte bijen (via foretische mijten, dwz mijten die op de adulte bijen zitten en die parasiteren). Dit leidt tot een chronische 'overt' infectie, dwz een openlijke, met symptomen. Dergelijke besmette bijen hebben een gelijke levensverwachting, maar slechtere motorische functies en leervermogen. Slechts als poppen door mijten met een heel hoge virustiter worden besmet resulteert dat in de acute overte infectie, die letaal of indirect letaal is, en verbonden is met het 'parasitic mite syndrome', dat leidt tot instorten van het bijenvolk. Recent onderzoek van Ryabov et al (2014) liet zien dat bij overdracht via voedsel in het volk het aanwezige virus van het DWV complex heel divers is, maar dat wanneer overdracht op de pop of bij via het aanprikken /bijten door de mijten gebeurt, dit resulteert in een enorm hoge titer van een virulente recombinante vorm van het virus in de bij leidt. Alleen deze hoge titer van de virulente vorm leidt tot de bekende symptomen. Het bleek ook dat als een divers mengsel van het virus werd geïnjecteerd in een pop, toch alleen deze virulente vorm in grote hoeveelheden ontstond. Dit geeft aan dat de productie van het virulente virussen in de bijen gebeurt, en niet in de mijt.

Navrant is dat door de combinatie met varroa juist het zo weinig virulente DWV virus de grootste moordenaar van bijenvolken is geworden. De reden is dat van zichzelf veel schadelijker virussen zoals CBPV, ABPV, KBV, BQCV, SBV en SBPV de poppen al doden voordat varroa zelf zou kunnen reproduceren: dus een combi met deze virussen kan niet ontstaan.

Vanwege de hechte verbinding tussen DWV en Varroa zullen ook juist die eigenschappen van volken afweer tegen DWV sorteren die werken tegen varroa, vormen van varroa-resistentie. Dat is (varroa-gevoelig) hygiënisch gedrag (VSH), verminderde reproductie van varroa, actieve grooming van mijten. Een mate van tolerantie voor DWV-varroa combinatie zou kunnen ontstaan als reproductie van het virus in de mijt vermindert of wegvalt. Zie verder bij Varroa en in de paragraaf over varroa resistentie.

In het kort

Deformed wing virus (DWV) is onderdeel van het DWV/VDV-1/KV complex, en veroorzaakt in combinatie met varroa ernstige ziekteverschijnselen bij bijen. DWV veroorzaakt bij zware besmetting met varroa uiteindelijk de verschijnselen van het 'Parasitic Mite Syndrome', waaraan het volk te gronde gaat.

Bijen: Resistentiemechanismen tegen varroa reduceren de negatieve gevolgen van een besmetting met DWV, omdat de besmetting met DWV vermindert.

Imker: Bestrijden van de varroamijt bestrijdt ook DWV, en eventuele resistente volken die minder varroamijten produceren zullen ook minder schade door DWV oplopen.

4.5.2 De 'snelle' verlamningsvirussen ABPV, IAPV en KBV

Overzicht literatuur: JR de Miranda G Cordoni & G Budge 2010 *The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex* *J.Inv.Path.* 103, S10-47

Acute Bee Paralysis Virus (ABPV), Israeli Bee Paralysis Virus (IAPV) en Kashmir Bee Virus (KBV) behoren tot één virus-complex, de systematiek is nog niet uitgewerkt. Ze komen wereldwijd voor in bijen, maar ook in sommige andere insecten. In bijen in Nederland komen alle drie de vormen voor (Miranda et al., 2010), hoewel bij de monitoring in 2008 geen van de drie werd gevonden met de multiplex PCR van FERA in York. Dat laatste kan hebben gelegen aan de relatieve lage gevoeligheid van de methode en mogelijk lage titer van de virussen in het voorjaar.

De virussen zijn veelal met lage titer in bijenvolken aanwezig, maar bij 'uitbraak' kunnen volken in heel korte tijd ten onder gaan, door een snel verlies van de adulte bijen, waarbij het broed en wat jonge bijen verweesd achterblijven. De verschijnselen lijken sterk op de beschreven symptomen van Colony Collapse Disorder (VanEngelsdorp et al., 2009). Opmerkelijk is dat vaker verlamningsverschijnselen worden gemeld die te maken hebben met het chronisch bijenverlamningsvirus (Chronic Bee Paralysis Virus, CBPV), maar dat komt doordat bij dat virus de verlamming minder heftig is, langer duurt en daardoor vaker gezien wordt. Bijen met ABPV zijn weg voordat ze gezien worden.

Er is nog weinig bekend over resistentie tegen de virussen en mogelijke verbanden met andere (stress-) factoren. Op (lange) termijn zijn er misschien mogelijkheden iets te doen aan virussen met RNA-interferentie technieken, maar dat is nog ver weg. Bovendien is dan de grote genetische variatie en veranderlijkheid van dit viruscomplex een handicap.

KBV wordt beschouwd als een aan varroa gelinkt virus (Ribière et al., 2008), maar lang niet alles is nog duidelijk. Hetzelfde geldt voor ABPV, ook zonder varroa kwam het voor, maar sinds varroa is het toegenomen, en in volken lijkt er een positief verband. Bij de introductie van varroa in Nieuw Zeeland bleek KBV toe te nemen (Mondet et al., 2014). In een vergelijkbaar verslag van de invasie van varroa op een van de eilanden van Hawaii (Martin et al., 2012) werd een enorme toename gezien van DWV, maar niet van KBV, ABPV en IAPV.

In het kort:

De snelle verlamningsvirussen (ABPV, IAPV, KBV) komen alom in bijenvolken voor, en kunnen in sommige gevallen bijenvolken heel snel te gronde richten. De verschijnselen lijken sterk op de beschrijving van Colony Collapse Disorder (CCD).

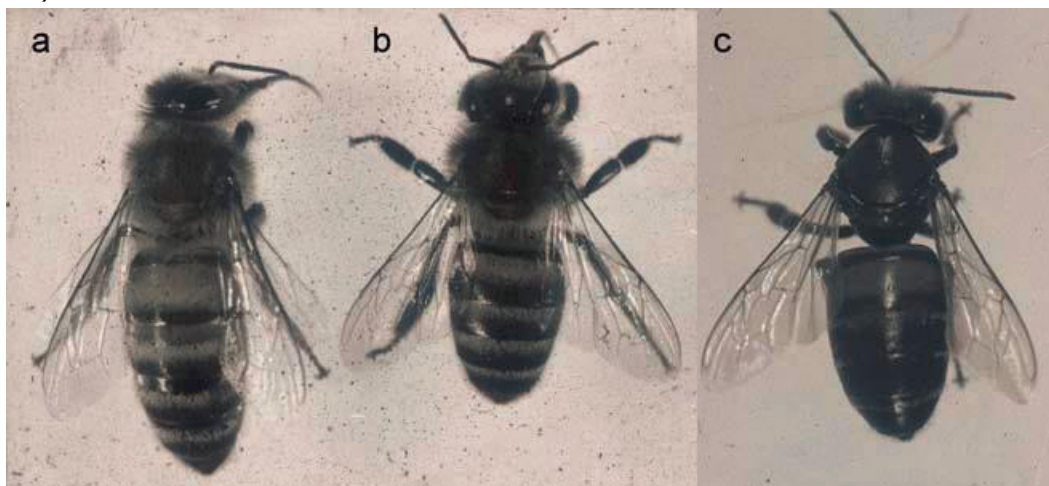
Bijen: Er is niet veel bekend over afweer van de bijen tegen deze virussen. Vanwege mogelijke versterking van de virussen door de varroamijt zullen mechanismen werkzaam tegen varroa ook tegen de virussen helpen.

Imkers: maatregelen tegen varroa zullen mogelijk ook enigszins helpen tegen de verlamningsvirussen.

4.5.3 Chronisch bijenverlamningsvirus (CBPV)

Overzicht literatuur: *M Ribière, V. Olivier & P Blanchard Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? J.Inv.Path. 103, S120-131*

Dit virus werd in de monitor in 2008 in geen van de 170 onderzochte bijenstanden in Nederland aangetroffen. Dit virus is, naast DWV, een van de weinige die duidelijk zichtbare symptomen veroorzaakt bij de bijen: een haarloos, zwart glimmend uiterlijk. Bij uitbraken worden grote aantallen verlamde bijen kruipend voor de kast aangetroffen. Toch zijn in het verleden vaak deze symptomen, waarschijnlijk ten onrechte, aan de Tracheemijt en aan amoëbe (*Malpighamoeba mellifica*) toegewezen. Waarschijnlijk was CBPV de veroorzaker van de beruchte Isle of Wight disease die aan het begin van de 20^{ste} eeuw een groot deel van de Engelse bijenvolken uitroeide. Men onderscheidt een syndroom 1 en 2 (zie foto), die beide afkomstig zijn van CBPV en naast elkaar voorkomen. Gezonde bijen voeren vaak bijtende / knabbelende aanvalletjes uit op de zieke bijen. De ziekte komt vaak voor in een volk op een stand, heel vaak juist aanvankelijk sterke volken, terwijl buurvolken niks hebben. Als het geen spuitschade, tracheemijt of amoëbe ziekte is, wijzen alle massale verlamningsverschijnselen bij een bijenkast op CBPV, de andere verlamningsvirussen gaven alleen verlamming te zien na artificiële infecties (in het lab).



Figuur 5. Bijen met chronische verlamming: (a) Type 1 syndroom; (b) gezonde bij; (c) Type 2 syndroom. (© B. Ball, Rothamsted Research. Uit Aubert et al., (Editors) 2008 Virology and the Honey Bee. EC DG Research, EUR 21937).

CBPV partikels worden vooral gevonden in de kop, vooral in de hersenen, wat ook de verlamningsverschijnselen begrijpelijk maakt. Hoewel het een ziekte van de adulte bijen is kan CBPV ook eieren en larven besmetten. Bijen kunnen elkaar besmetten via de huid (misschien via beschadigde haren) en via voedsel hoewel dat laatste eigenlijk niet tot ziekte leidt (er is dan een erg hoge dosis nodig).

De meeste uitbraken van de ziekte zijn in voorjaar en zomer. Het is mogelijk dat varroa bijdraagt aan de verspreiding van de virusdeeltjes.

Het lijkt er op dat sommige volken gemakkelijker CBPV krijgen dan andere. Of dat komt doordat ze minder resistent zijn, of dat het toevallig volken waren met latente virusdeeltjes is nog niet duidelijk. Er zijn aanwijzingen dat in – toevallige- slechtweper perioden door de intensievere aanraking van bijen onderling meer virusoverdracht ontstaat, met meer risico voor uitbraken.

In het kort:

Het chronische verlamningsvirus (CBPV) is meestal de veroorzaker van waargenomen verlamningsverschijnselen. CBPV geeft zichtbare symptomen aan de bijen. CBPV (mogelijk een erg virulente vorm) was mogelijk de oorzaak van de Isle of Wight disease in Engeland.

Bijen: er is nog niet veel bekend over de afweer van bijen tegen dit virus. We weten ook niet of er resistente volken bestaan. Resistentie tegen varroa helpt vanwege mogelijke rol bij besmetting misschien ook tegen CBPV.

Imkers: Misschien draagt varroa bij aan de overdracht, dan helpen bestrijding van mijten en resistentie tegen varroa.

4.5.4 Andere virussen

Naast de bovengenoemde en apart gereviewde virussen is nog een aantal virussen van honingbijen beschreven, en dat aantal groeit. De bekendste zijn: Black queen cell virus (BQCV), Bee Virus X en Bee virus Y (BVX en BVY), het cloudy wing virus (CWV), het filamentous virus (FV), het zakbroedvirus (SBV) en het Langzame verlamningsvirus (slow bee paralysis virus, SBPV). In het artikel van Ribière et al (2008) staat een overzicht. Opmerkelijk is dat er van de virussen vaak duidelijk beschreven effecten op zowel volwassen bijen als larven zijn, maar dat in het veld symptomen en gevolgen voor het volk niet voorkomen (of niet beschreven zijn). De gevonden effecten zijn meestal na experimentele toediening van het virus (bijv. injectie, of voeren).

4.5.5 Virussen krijgen hulp van parasieten

Virussen zijn vaak inactief (covert infection) aanwezig in bijen en bijenvolken. De (nieuwe) aanwezigheid van een parasiet, zoals de varroamijt en Nosema, kunnen het virus helpen overdragen en daarmee de effecten en schadelijkheid beïnvloeden. Het bekendste voorbeeld is het DWV, dat van een onschuldige infectie zonder symptomen veranderd is in de belangrijkste moordenaar van bijenvolken, in samenwerking met varroa (zie boven). Misvormde vleugels van bijen gelden voor imkers als een duidelijke aanwijzing van een te zware varroabesmetting. Maar ook ABPV, KBV, IAPV, SBPV en misschien CBPV worden door de varroamijt overgedragen. Eerst werd gedacht dat ook CWV door varroa werd overgedragen, maar nadere onderzoek wijst niet in die richting (Carreck et al., 2010a).

Ook zonder een actieve rol in de overdracht kan de aanwezigheid van de varroamijt de virus replicatie stimuleren. Bij het aanblijven van poppen door varroa, om zichzelf en haar jongen te voeden, blijken in de pop de genen betrokken bij de immunoreactie onderdrukt te worden. Dat geeft willekeurig aanwezige virussen een kans om te reproduceren.

De virussen BQCV, BVY en FV worden overgedragen en/of komen geassocieerd voor met *Nosema apis*, of ook *N. ceranae*, de tegenwoordig meest voorkomende soort Nosema, die virussen overdraagt is nog niet bekend. BVX is vaak samen met amoëbe aangetroffen.

Opmerkelijk is dat virussen die geen herkenbare symptomen geven, ook in de aanwezigheid van varroa, WEL kunnen bijdragen aan de sterfte van bijenvolken door varroa. Carreck et al. (2010b) lieten zien dat in niet tegen varroa behandelde volken de kans op wintersterfte veel hoger was met virussen dan zonder. Dat gold onafhankelijk voor CWV, DWV en SBPV. Volken met een, twee of drie van de virussen overleefden alleen als de varroabesmetting laag was. Zonder virussen overleefden alle volken, zelfs die met veel varroa. Ook Berthoud et al. (2010) zagen een verband van ABPV en DWV besmettingsgraad met de wintersterfte, een aanwijzing voor een rol samen met varroa.

De proef van Carreck et al (2010b) geeft ook aan dat zonder ingrijpen van de imker (tegen varroa) alleen de volken zonder (of met lage) besmetting van virussen overblijven. Dit zal betekenen dat bij natuurlijke selectie die virussen weer gaan verdwijnen, of zich zullen aanpassen zodat ze minder schadelijk worden (alleen dan kunnen ze overleven). Verandering van virussen kan snel gaan. De bijen zouden zelf ook genetisch kunnen veranderen, waardoor ze toleranter worden voor de virus + varroa

combinatie. Uit de 'natuurlijke selectie'-proeven van Ingemar Fries op Gotland komen aanwijzingen dat in de selecties sommige virussen zich aanpassen en minder repliceren (Locke et al., 2014). Bij de bespreking van (natuurlijke) selectie voor varroa resistentie en tolerantie wordt dit uitgebreider besproken.

Selectie voor resistentie tegen virussen en andere ziekteverwekkers, anders dan de bovengenoemde natuurlijke selectie, staat in de kinderschoenen. Een handicap bij selectie en onderzoek naar de relatie tussen genen en daaruit voortkomende eigenschappen is de hoge mate van recombinaie van genen van de honingbij (het hoogste van alle tot dusver gesequenste dieren) mede door de polyandrie. Voor het screenen op QTL (quantitative trait loci) voor ziekte resistentie biedt het voortplantingssysteem van de bijen echter ook een uitgelezen kans: darren bezitten slechts een kopie van het genoom (zijn haploïd), en hebben een vrij directe koppeling tussen genotype en fenotype. Door gerichte paring van ('resistente') darren aan niet-resistente koninginnen kunnen darren verkregen worden voor het testen en maken van genenkaarten (Moritz & Evans 2008).

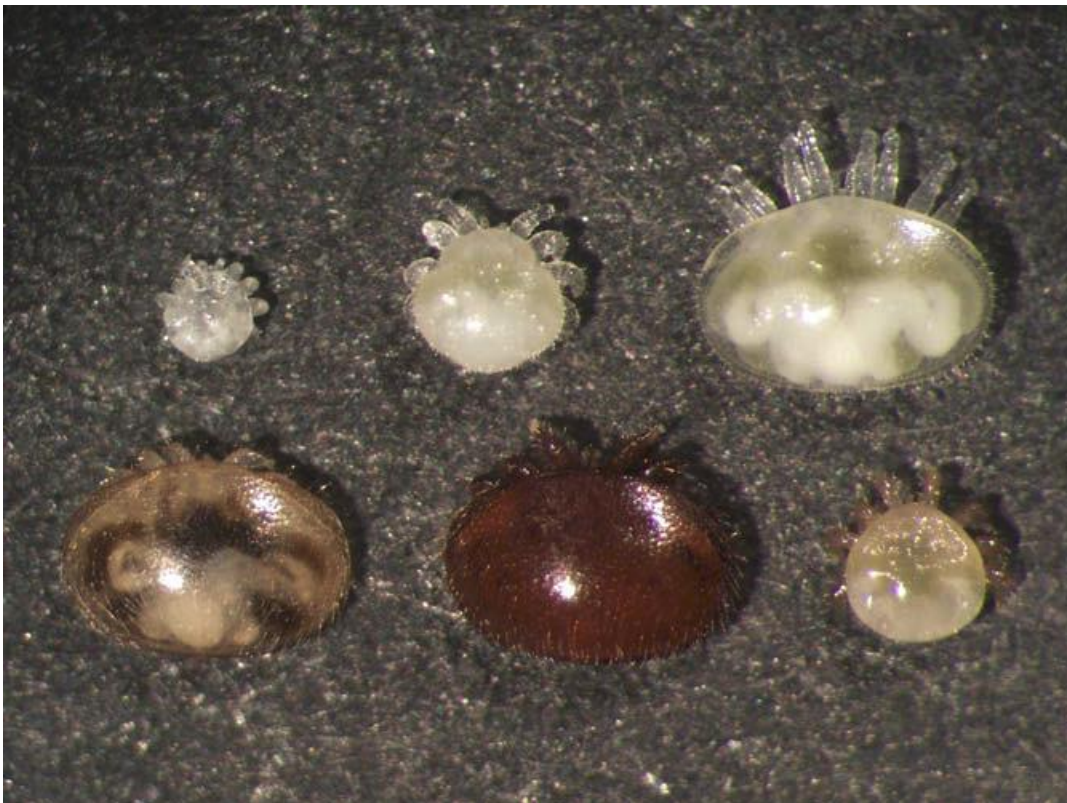
5 Varroa destructor

Overzicht literatuur: P. Rosenkranz, P Aumeier & B Ziegelmann 2010 *Biology and control of Varroa destructor*. *J.Inv.Path.* 103, S96-119

De varroamijt, *Varroa destructor*, is sinds het eind van de zeventiger jaren aanwezig in bijenvolken in Europa, sinds 1983 in Nederland. Tot 2000 werd de mijt *Varroa jacobsoni* genoemd, totdat bleek dat het een andere soort betrof (Anderson & Trueman, 2000). De echte *V. jacobsoni* is alleen parasiet van *Apis cerana*, en doet weinig schade aan de volken. Voor 1950 is de mijt (ooit) overgestapt van *Apis cerana* op de westerse honingbij *Apis mellifera*. Twee belangrijke haplo-typen van de mijt zijn verspreid over de wereld aanwezig, waarvan een type (het Koreaanse haplo-type) inmiddels vrijwel overal aanwezig is. Dit type is ook het meest virulente. Deze varroamijt heeft heel weinig genetische variatie, en kan beschouwd worden als een kloon (LeConte, 2005).

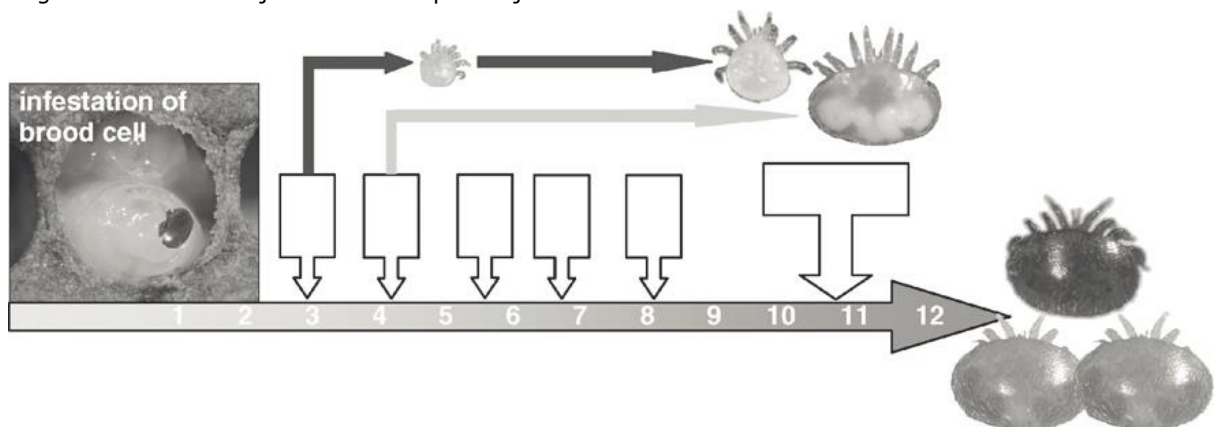
5.1 Reproductie van Varroa

Varroamijten reproduceren in het gesloten broed van honingbijen, zowel in werkster- als in darrenbroed. Om die reden kan in een bijenvolk in de zomer wel 90% van de hele populatie mijten in het broed zitten, tegen maar 10% op de bijen. En die laatste 10% zal in het algemeen proberen snel weer een cel te vinden om te reproduceren.



Figuur 6: een representatieve 'varroa-familie', zoals aangetroffen kan worden in een werkstercel 11 dagen na het sluiten van de cel. Op de bovenste rij: jonge stadia van vrouwtje: protonymf, deutonymf en deutochrysalis, op de onderste rij: net verveld jong vrouwtje, de moeder en het volwassen mannetje. Figuur uit Rosenkranz et al., 2010).

Toch gaan niet alle vrouwtjes die 'instappen' en zich laten insluiten in de cel ook werkelijk reproduceren, sommige 'doen niks' totdat de pop als adulte bij gaat uitlopen, en de mijt mee vrijkomt. In bijenvolken in Europa blijkt tussen de 5 en 20% van de vrouwtjesmijten niet voort te planten. Dat betekent dat 80-95% vruchtbaar is. In het Engels gebruikt men het woord: fertility. Je kunt vruchtbaarheid ook meten aan het aantal nakomelingen dat een vrouwtje krijgt per cyclus (dus tot de cel opengaat), in het Engels fecundity. We tellen dan alleen de geproduceerde vrouwtjes, en beperken ons tot die vrouwtjes die bij het openen van de cel volwassen zijn (zoals de linker op de foto hierboven). Martin heeft in de negentiger jaren daar veel onderzoek naar gedaan, het bleek dat de fecundity 1,3 tot 1,45 was in werksterbroed, en 2,2 tot 2,6 in darrenbroed (doordat er in darrenbroed meer tijd is: de cel is langer gesloten). In het voorbeeld in de figuur hieronder is de fecundity 2, er lopen twee dochters en een moeder uit. Bij aanvankelijk onderzoek in geafrikaniseerde honingbijen in Brazilië bleek de fertility daar veel lager te zijn, slechts ~50%, maar naderhand heeft de mijt zich daar aangepast en reproduceren ongeveer evenveel mijten als in Europese bijen.



Figuur 7: De reproductie van een varromijt in een werkstercel. De cijfers in de pijl geven het aantal dagen vanaf sluiten van de cel. Eerst (~dag 3) wordt een mannetjes-ei gelegd, steeds na een ruime dag een vrouwtjes ei. Op zijn best de eerste twee eitjes bereiken een voldoende rijp stadium om te paren (dag 10, 11 en 12), de jongere vrouwtjes gaan verloren. Figuur uit Rosenkranz et al, 2010.

Als meer dan één vrouwtje in dezelfde cel instappen gaat de fecundity per moeder meestal naar beneden (misschien concurrentie om voedsel, de hemolymfe van de pop). Ook is de fecundity lager in cellen die in een eerdere cyclus veel mijten hebben gehad, misschien blijft een geur achter die de volgende moedermijt remt in haar voortplanting.

Behalve het belang van een zo groot mogelijk nakomelingschap (max 2) is het ook essentieel dat de dochters paren. Dus er moet ook in elke cel een vruchtbaar mannetje geboren worden. Het bleek dat in 11-21% van de gevallen het mannetje ontbrak. Met andere woorden, in 11-21 % van de gevallen zijn de geproduceerde dochters steriel (niet bevrucht).

Per vrouwtjesmijt wordt gemiddeld twee tot drie keer ingestapt en een reproductiecyclus voltooid, dus in haar leven produceert een moeder ~2,5 tot 4,3 dochters ($2-3 * 1,3-1,45$), in een periode van 25 tot 40 dagen.

5.2 Pathologie

5.2.1 Schade aan individuele bijen

Bijen die in het popstadium geparasiteerd waren door varroa hebben bij het uitlopen een lager gewicht. Met maar één mijt is het gewicht al 7% lager. Deze bijen beginnen eerder met foerageren dan niet geparasiteerde bijen en hebben een duidelijk lagere levensverwachting. Ook leren ze slechter.

Foerageersters die een mijt bij zich dragen terwijl ze uitvliegen komen vaker niet terug van hun vlucht, en als ze wel terugkomen doen ze er langer over. Opmerkelijk is dat ook bijen die zelf niet geparasiteerd waren als pop, maar afkomstig uit volken met een varroa-besmetting, bij uitlopen iets lichter waren, en een week later veel lichter (Van Dooremalen et al., 2013).

5.2.2 *Varroa mijten en bijenvirussen*

Door het aanblijven van poppen kan varroa in principe elk aanwezig virus (eventueel latent) overdragen op de pop. Voor diverse virussen is deze route aangetoond. Daar komt bij dat het aanprikken van de pop door de mijt op zichzelf al zorgt voor een verminderde immunoreactie, waardoor virussen die 'niks deden' gaan reproducen. Dezelfde onderdrukking zorgt er ook voor dat injectie van virusdeeltjes een heel snelle ontwikkeling van de virussen geeft, en daardoor heel snel dodelijk is. Ook dit mechanisme is voor diverse virussen aangetoond, o.a. voor de snelle verlamningsvirussen. Een derde mechanisme is dat een virus reproduceert in de mijt zelf, waardoor de besmetting in de mijt heel hoog wordt, en daardoor ook bij het aanblijven van de pop veel meer virusdeeltjes worden overgedragen. Dit laatste is van belang bij de overdracht van DWV. Slechts als DWV in de mijt reproduceert ontstaan de bekende DWV symptomen bij de bij (McMenamin & Genersch, 2015), DWV is zelf niet virulent genoeg om een dergelijk hoge besmetting te geven. Bovendien zijn er aanwijzingen dat bij directe overdracht van het virus van de mijt naar de bij (bij aanprikken van de pop door de mijt) in de pop sterke vermenigvuldiging van een veel virulenter DWV-VDV-1 complex ontstaat (Ryabov et al, 2014).

Het finale stadium van een varroabesmetting, beschreven als het Parasitic Mite Syndrome (PMS) wordt voornamelijk veroorzaakt door de in dat stadium zware infectie met DWV. De uiteindelijke nekslag wordt door het virus geleverd. In de Duitse monitoring (2004-2008) bleek slechts een verband tussen wintersterfte van volken en de mate van besmetting met varroa in de herfst, en met de mate van besmetting met DWV (Genersch et al., 2010).

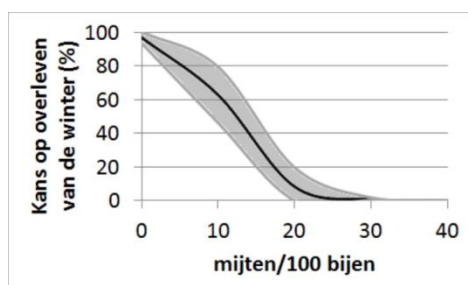
5.2.3 *Synergistische effecten*

Sinds het begin van optreden van wintersterfte, colony losses en CCD zijn onderzoekers doordrongen van de notie dat interacties en synergismen tussen factoren een grote rol kunnen spelen. De combinaties van Varroa met andere ziekteverwekkers, omgevingsfactoren inclusief pesticiden, GM-gewassen, klimaatverandering, voedselaanbod, imkerpraktijk etc. zijn belangrijk maar moeilijk te bestuderen. Daardoor zijn er nog maar weinig studies gedaan en ligt hier een belangrijke uitdaging voor komend onderzoek.

5.2.4 *Schade op volksniveau*

Zelfs met een matige besmetting met varroa wordt het reproducerend vermogen van een bijenvolk als super-organisme aangetast: darren uit geparasiteerde volken hebben een veel lagere kans om met een koningin te paren, en geparasiteerde volken leveren minder zwermen.

Voor imkers treedt waarschijnlijk al schade op aan groeikracht van het volk en aan honingopbrengst voordat de besmetting zichtbaar wordt aan symptomen. De grens tussen een nog helemaal goed volk en een instortend volk is grillig en dun, te meer omdat in de nazomer doordat het volk krimpt de besmetting snel kan toenemen. In Duitsland geldt dat boven 7% besmetting van winterbijen de kans op sterfte van een volk sterk toeneemt, en volken die in de zomer meer dan 30% besmetting van de bijen hebben, overleven de volgende winter zeker niet. Bram Cornelissen liet in een uitgebreide veldstudie zonneklaar het verband zien tussen de besmetting en de kans op het overleven van de winter (Figuur 8).



Figuur 8: Verband tussen de besmetting met mijten in oktober (?) en de kans op overleven van de volgende winter. Resultaten van B Cornelissen, bijen@wur

5.3 Tolerantie en resistentie

In de oorspronkelijke gastheer van varroa, de Oosterse honingbij *Apis cerana*, werken enkele resistentie en tolerantiemechanismen die in onze honingbijen (*Apis mellifera*) ontbreken of minder ontwikkeld zijn:

- Geen reproductie van mijten in werksterbroed (reproductie alleen in darrenbroed);
- Zeer effectief hygiënisch gedrag en grooming;
- 'Begraven' van darrenbroed (darren die niet zelf uit de cel kunnen uitlopen, en zwaar besmet zijn met varroa, worden 'verwaarloosd', de bijen laten ze gewoon zitten. Zo worden de mijten met de dode darren 'begraven'.

Het niet reproduceren van mijten in werksterbroed is helaas niet een eigenschap van onze bijen, en ook het 'begraven' van darrenbroed ontbreekt. Toch is het aantrekkelijk om te zoeken naar eigenschappen in onze Europese bijen, die het succes van varroa verminderen. Te meer omdat er verschillen bestaan tussen bijenvolken qua gevoeligheid voor varroa, en omdat 'in de natuur' diverse voorbeelden van grotere varroa resistentie / tolerantie zijn gevonden.

5.3.1 Tolerantie en resistentie onder natuurlijke omstandigheden

In de westerse honingbij zijn voorbeelden gevonden van verhoogde weerstand tegen varroa door 'natuurlijke selectie'. De eerst beschreven voorbeelden betroffen volken in Brazilië, in geafrikaniseerde (Europese) honingbijenvolken. Deze bijen hebben meer mechanismen tegen varroa dan de Europese volken van gematigder streken. Bovendien is in de tropen de bijdrage van de wilde (feral) populatie bijen aan de genenpool veel groter dan in Europa en Noord Amerika (nauwelijks wilde volken aanwezig), wat natuurlijke selectie beter mogelijk maakt. Een populatie Europese honingbijen op een eiland in Brazilië overleefde meer dan 25 jaar met varroa, waarschijnlijk was de varroamijt hier echter het veel minder virulente Japanse haplotype.

Toch zijn er inmiddels ook aansprekende voorbeelden bekend van met varroa overlevende populaties volken van Europese honingbijen in het wild, in Frankrijk bij Avignon en bij Le Mans (LeConte et al, 2007), in de VS in Arnot Forest (Seeley, 2007, Seeley et al., 2015), en na een 'georganiseerde' natuurlijke selectie ook op Gotland (Zweden, Fries et al., 2003, 2006). Villa et al. (2008) rapporteerden dat na binnenkomst van Varroa in Louisiana de wilde volken deels uitstierven, en een paar jaar niet in staat waren zwermen af te splitsen, maar dat daarna in het wild herstel optrad. Bijen uit het verre oosten van de Sovjetunie, die al lang met varroa in contact waren, bezitten een sterke mate van resistentie tegen de mijt (Rinderer et al., 2001).

5.3.2 Populatiodynamica van de gastheer

De buitenomgeving en de genetische eigenschappen van het bijenvolk bepalen samen de populatiodynamica van een volk: De lengte van het broedseizoen (koude of zachte winters) en weersomstandigheden bepalen samen met de gevoeligheden voor die omstandigheden bijvoorbeeld de lengte van broedloze perioden en de hoeveelheid darrenbroed enz. Het is best mogelijk dat met de selectie voor veel honing leverende volken met bepaalde eigenschappen onbewust varroa in de kaart is gespeeld. Helaas weten we nog maar heel weinig over de interactie tussen de populatie varroa en die van de bijen, een paar modellen zijn gemaakt (o.a Fries et al., 1994, Calis et al., 1999, Martin, 1998, 2001).

5.3.3 Actief verdedigingsgedrag door de bijen

Twee belangrijke gedragscomponenten van de bijen hebben directe invloed op de mijten in een volk: het 'grooming' gedrag (verzorging van eigen lichaam en dat van nestgenoten), en het varroa-gevoelig hygiënisch gedrag, dat er voor zorgt dat poppen met reproducerende mijten worden ontdekt en uitgeruimd. Beide factoren vallen onder resistentie, omdat ze de ontwikkeling van de mijtenpopulatie remmen.

- Grooming

Op grond van onderzoek bij *Apis cerana* werd grooming als een heel belangrijk gedrag tegen varroa beschouwd: in een proef van Peng et al (1987, geciteerd in Rosenkranz et al 2010) verwijderden en

beschadigden de bijen geïntroduceerde mijten binnen een paar minuten. Het bleek echter naderhand dat het effect nauwelijks optrad met 'eigen' mijten uit het volk zelf, met de eigen nestgeur. Grooming blijkt in westerse honingbijen heel variabel te zijn, in onderzoek van Currie en Tahmasbi (2008) bleek de mijtenpopulatie inderdaad snel te krimpen in 'high-grooming' selecties. Het bleek echter ook dat de bijen uit die selecties een kortere levensverwachting hadden tijdens de overwintering op tros. Een probleem is hoe de mate en de gevolgen van auto- en allo-grooming vast te stellen, vaak wordt gekeken naar de mate van beschadiging van mijten. Maar het is niet zeker of ze beschadigd waren voordat ze doodgingen of later pas, omdat het gedrag niet werd geobserveerd. De aanpak van Currie en Tahmasbi (2008) die werkten met vaste aantallen mijten en naar het aantalsverloop keken is wel elegant, en geeft meteen kwantitatief inzicht.

- Hygiënisch gedrag (inclusief Varroa sensitive hygiene)

Hygiënisch gedrag is het ontdekken, openen en verwijderen van dood, ziek en geparasiteerd broed (zie H 2). Hygiënisch gedrag speelt een rol bij diverse ziekten en parasieten van de honingbij, een specifiek varroa gevoelig hygiënisch gedrag (Varroa sensitive hygiene, VSH) vooral in werksterbroed is aanwezig in *Apis cerana*, en in minder uitgesproken mate ook bij de westerse honingbij. De mijten die door VSH worden ontdekt en verwijderd hoeven echter niet dood te gaan, ze kunnen vaak opnieuw instappen en een poging tot reproductie wagen. Maar hun reproductiecyclus is dan natuurlijk wel onderbroken en vertraagd.

VSH heeft veel aandacht gekregen voor selectieve teelt van bijen met de eigenschappen. Er is echter nog veel onbekend rondom de overerfbaarheid (heritability) en de invloed van omgevingsfactoren op de eigenschap. Het is nog niet bekend of de bijen reageren op een signaal van een reproducerende mijt of op een schade-signaal van de pop. Bijen die hygiënisch gedrag vertonen blijken wel betere ruikers, dit is een erfelijke eigenschap die via selectie boven kwam in SMR trait bees en wat andere selecties (onder andere Harris & Harbo, 2007 en Ibrahim & Spivak, 2006).

Via het bevriezen van een stuk gesloten broed, of het aanpakken van een aantal poppen, kan zichtbaar worden gemaakt hoe snel een volk daarop reageert met het uitruimen van het dode broed, en deze informatie kan gebruikt worden voor selectie doeleinden. Dit hoeft echter niet één op één te corresponderen met het uitruimen van door varroa besmet broed. In een recent artikel van Schöning et al., (2012) bleek dat de VSH bijen vooral / alleen mijten met de virulente DWV/VDV-1 recombinant uitruimen. Dat snijdt hout, want alle geparasiteerde poppen opruimen is meer verspilling dan nodig (Elke Genersch, mond meded.). Deze virulente DWV/VDV-1 recombinant reproduceert in de pop zelf nadat die wordt aangebeten door een mijt die DWV/VDV-1 bij zich draagt (Ryabov et al., 2014). Dit zou betekenen dat VSH juist een eigenschap is die tegen het virulente virus werkt, veeleer dan tegen de mijten. Een volk met goed ontwikkeld VSH zou zelfs meer mijten kunnen herbergen dan zonder VSH, omdat de mijten per saldo minder kwaad aanrichten (het bijenvolk krijgt dan een hogere tolerantie voor varroamijten). Recent onderzoek van Mondet et al. (2015) lijkt er inderdaad op te wijzen dat VSH een oorlogsverklaring aan het virus is, en dat het virus die handschoen oppakt: bijen die geen VSH vertoonden (uit een volk waarin veel andere bijen het wel deden) bleken heel hoge DWV/VDV-1 virus titters te hebben. Het virus legt de VSH genexpressie plat (zie ook Blacquièrre & Panziera, 2015).

5.3.4 Onderdrukken van de reproductie van de mijt door het broed

Uit modelstudies bleek dat een verlaagde reproductie van mijten de meest veelbelovende eigenschap is om de populatiegroei van varroa te beperken. Minder reproductie kan ontstaan door diverse factoren:

- een lage aantrekkelijkheid van het broed voor instappende mijten. Deze zullen dan langer foretisch blijven, en zolang niet reproduceren. Het broed van Europese honingbijen bleek veel aantrekkelijker dan dat van geafricaniseerde honingbijen in Mexico. Tussen de ondersoorten / rassen in Europa werd geen verschil gevonden.

- de fertility (wel of niet reproduceren) leek aanvankelijk een factor van belang, maar blijkt bij nader inzien niet te verschillen (wel te variëren met seizoen etc.). Wat betreft fecundity (aantal afsprong) zijn de zaken nog niet duidelijk, en heel moeilijk te vergelijken door veel verschillende methodieken.
- de beschikbaarheid van broed (duur van de cyclus, aanwezigheid van darrenbroed) voor reproductie van de mijten is een bepalende factor.
- de lengte van de gesloten periode van de broedcellen kan bepalen of er net niet meer of net nog wel een extra dochter volwassen kan worden. Afrikaanse bijen hebben een wat kortere gesloten cel periode. Echter selectie op de eigenschap zou ook een extra cyclus per jaar voor de mijten kunnen opleveren. Bovendien zouden sneller reproducerende mijten kunnen worden geselecteerd.
- kleinere cellen zouden de reproductie van varroa beperken. Dit is herhaaldelijk geprobeerd, zonder tot dusver heldere conclusies, zowel in Europa (diverse pogingen) USA als Nieuw Zeeland.

5.4 Veredeling

Er bestaat een grote mate van consensus dat uiteindelijk het selecteren van resistentie en veredeling de enige ultieme oplossing is voor het probleem met varroa. In sommige gevallen werkt de selectie op resistentie tegen de mijt (meer dan op tolerantie). Enkele voorbeelden gaan uit van de natuur, en kijken wat er gebeurt, de meeste kiezen een paar waarschijnlijk belangrijke eigenschappen of criteria waarop wordt geselecteerd (gerichte selectie).

Russische 'Primorski-bijen' werden naar de USA gehaald en onderworpen aan een al meer dan 10-jarig selectie programma. In de volken groeide de populatie varroa minder snel dan in controles (het is dan eigenlijk resistentie ipv tolerantie). Onderliggende factoren zijn een voor mijten minder aantrekkelijk broed om in te stappen (waardoor de mijten ook een langere foretische fase, dwz de tijd dat ze op de volwassen bijen zitten, hebben. Daarnaast was de reproductie van de mijten in de cellen ook geremd. Een evaluatie in Duitsland van twee jaar concludeerde echter dat de bijen onbruikbaar waren voor de normale imkerij vanwege gedrag en honingopbrengst.

Ook in de USA werd door diverse groepen gewerkt aan selectie en teelt van resistente / tolerante bijen. Men herkende bijen met een lagere reproductie van de mijten (SMR) en hygiënische bijen (Hyg). Een belangrijk criterium voor de selectie was de verhouding tussen de grootte van de populatie mijten bij het begin van het seizoen en die aan het eind. Teelt met de combinatie van beide gevonden factoren leverde volken op met een lagere besmetting met varroa (het is dus resistentie), en de verminderde reproductie is een factor veroorzaakt door eigenschappen van de pop zelf (dus niet alleen maar dat de reproductiefste mijten werden uitgeruimd door hygiënische bijen en de trage dames overbleven.).

In Kirchain in Duitsland heeft men lange tijd geselecteerd met als criterium de verhouding tussen de mijtbesmetting aan begin en eind van het seizoen. De rol van de darren in de overerving werd via de natuurlijke weg beïnvloed: slechte volken (veel varroa) produceren minder en slechtere darren, en dragen daardoor minder genen over naar de volgende generatie.

Zakar et al. (2014) resumeren in een korte review de genetische basis van de drie belangrijkste 'tolerance' mechanismen tegen varroa, grooming, VSH en verminderde mijtreproductie. Voor alle drie zijn er aanwijzingen uit de literatuur dat ze bijdragen aan het verlagen van de besmetting van volken met varroamijten – en dus meer bijdragen aan resistentie dan tolerantie. De voorbeelden uit de literatuur zijn deels gebaseerd op onderzoek aan Afrikaanse en geafrikaniseerde honingbijen en aan *Apis cerana*, of deze drie mechanismen ook als geselecteerde gedragingen naar boven komen in de Europese ondersoorten van de honingbij bij (natuurlijke) selectie van varroa-resistentie is momenteel onderwerp van onderzoek op diverse locaties. Dat en het koppelen van de gevonden gedragingen aan de onderliggende genen was het belangrijkste doel van het HIVE projectvoorstel (dat helaas niet is toegekend door de EU).

Naast deze drie min of meer directe mechanismen die de populatie-opbouw van varroa beïnvloeden, kunnen allerlei andere mechanismen indirect ook invloed hebben op de mate van resistentie van bijenvolken tegen varroa, onder andere de populatiedynamica van mijt en bijenvolk (zie bijv Seeley &

Smith, 2015). Maar heel belangrijk zijn natuurlijk ook bijkomende (en eventueel gekoppeld mee geselecteerde) eigenschappen die invloed uitoefenen op de virussen en andere aan varroa gelieerde factoren. Daarom is het van belang om te onderzoeken welke karakteristieken van het bijenvolk zijn veranderd door selectieprogramma's, zij het natuurlijke selectie dan wel gerichte selectie. Behalve de factor waarop geselecteerd is kunnen ook andere eigenschappen of de onderliggende eigenschappen mee veranderd zijn.

Deel 2: Initiatieven Weerbare Bij

1 Initiatieven in Nederland

De ons bekende initiatieven in Nederland zijn benaderd in 2014 en hebben een lijst met vragen voorgelegd gekregen. De antwoorden zijn gebruikt om een waarde inschatting van het initiatief te verkrijgen en toe te voegen aan een samenvattende tabel (Deel2 Hf4 Samenvattend overzicht, De Nederlandse initiatieven zijn blauw gemarkeerd). Van de 7 benaderde initiatieven (van nr 8 koninginnenteeltcommissie van de NBV bleek uiteindelijk te weinig informatie beschikbaar om iets mee te kunnen doen), hebben er vier daadwerkelijk gereageerd: Beebreed (prof. Pim Braskamp); WUR bijen@wur (Tjeerd Blacquièr); VBBN Laren-Blaricum (Johan Calis); en BD imkerij (ontmoeting met Wim van Grasstek, Albert Muller en Theo Georgiades met bijen@wur). De overige initiatieven zijn beoordeeld op basis van de bij ons bekende informatie. Een deel van de initiatieven in Nederland is niet strict Nederlands (bijv. Beebreed (Duits), Arista Bee Research en BD imkerij (internationaal)).

Helaas waren er slechts vier initiatieven die konden worden beoordeeld, waarvan twee erg op elkaar lijken (bijen@wur en VBBN Laren). De initiatieven werden eerst beoordeeld op een aantal punten, die vervolgens werden gewogen qua belang. Bijvoorbeeld de mate van raatvervanging, de grootte van het initiatief (aantal imkers, aantal volken), hoe veel jaren het initiatief al liep, gradaties van de verkregen verbetering van de gezondheid van volken, of het initiatief een controle groep ('niet behandeld') ter vergelijking meenam. Daarna zijn de drie typen initiatieven vergeleken met de kennis uit de literatuur, en in een ranking van 1 tot 3 (1: helemaal niet; 2: mogelijk of indirect; 3: veel of geheel) beoordeeld op voordelen en nadelen. Als voordelen werden gebruikt: respect voor de natuur; vrijheid van het bijenvolk (eigen keuzes te maken door het volk); duurzaamheid; methoden tegen diverse ziekten; controleerbaarheid; kennis over de oorzaak van de tolerantie; bekendheid met verbeterd hygiënisch gedrag; idem met verhoogd immuunsysteem; idem met genetische overerfbaarheid; succes beschreven in literatuur. Als gerankte nadelen: nadelen beschreven in de literatuur; eventuele extra kosten voor het bijenvolk; uitval van volken; moeilijkheidsgraad van de methoden; gevaar van overdracht van ziekten; beperking van genetische diversiteit.

Samenvattend vallen een paar zaken op. BD imkerij heeft veel respect voor de vrijheid van het bijenvolk en voor natuurlijke processen, maar is minder exact (niet beschreven in literatuur, geen afgesproken protocollen, iedereen op zijn eigen manier). Van de gerichte selectie (Beebreed) gericht op hygiënisch gedrag is veel meer bekend en beschreven, en het leidt tot verhoogde duurzaamheid. Het kan wel genetische diversiteit kosten. Misschien zitten er ook nadelen aan het hebben van actief hygiënisch gedrag. Nadeel bij de bottleneck methoden (VBBN Laren & bijen@wur) is de uitval van volken (vooral aan begin). Al met al kwamen de bottleneck methoden als meest optimale pogingen om tot een duurzamer (varroa-resistente) bij te komen. Extra voordeel is dat de keuze hoe te verbeteren uit de natuur komt en niet op voorhand gekozen is.

Hieronder volgt een opsomming en korte beschrijving van de initiatieven in Nederland

1. Beebreed

Beebreed is het standaard selectieprogramma van de carnica teelt in Duitsland (van Praagh, 2014), maar ook individuele imkers uit andere landen kunnen meedoen. Beebreed werkt via een grote database waarin gegevens van de imkers eigen bijen vergeleken kunnen worden met de gemiddelden, via het invullen van standaard teeltresultaten. Beebreed selecteert behalve op de gewenste eigenschappen van Carnica bijen, zoals zachtvaardigheid, zwermtraagheid en goede honinggoest ook op hygiënisch gedrag. Dat wordt gedaan via de pin-test op gesloten broed: volken die de gedode poppen snel uitruimen krijgen een hoge score. Hygiënisch gedrag is niet specifiek

tegen varroamijten gericht. Sterker nog, bepaalde (Primorsky-) volken met een grote mate van varroa-gevoelig hygiënisch gedrag kwamen slecht uit de pintest (Van Praagh, 2014).

2. BD-imkerij

De BD-imkerij gaat uit van biodynamische beginselen, en beschouwt het volk als individu. De BD imkerij probeert veel dingen natuurlijk te doen, waaronder het laten zwermen van volken. Sommige BD- imkers bestrijden varroa, anderen niet. BD imkers leggen sterke nadruk op goede dracht als basis voor een gezond bijenvolk. BD imkers winteren volken in op hun eigen honing vanwege grotere natuurlijkheid en vanwege mogelijke ziekten werende eigenschappen van honing. Omdat BD-imkers volken natuurlijk laten zwermen is het in principe mogelijk dat er natuurlijke selectie optreedt (bijv. welke koningin overleeft en welke niet), hoewel in principe zwermen wel worden gehuisvest en op weg geholpen. In de natuur, waar zwermen het echt zelf moeten doen, overleven maar 20% van de voor-zwermen (= zwerm met de oude koningin, dat zijn de vroegste, grootste en meest kansrijke zwermen) de volgende winter (Seeley, 1995).

3. VBBN Laren-Blaricum

De werkgroep 'Vitale bijen' <http://www.vbbnlarenblaricum.nl/links/clubs/vitale-bij-teeltgroep>) van de VBBN Laren-Blaricum werkt sinds de zomer van 2009 aan natuurlijke selectie op overleving en reproductie van volken zonder dat varroa bestreden wordt. Kenmerken van het programma zijn nagenoeg gelijk aan het programma van bijen@wur, maar dan uitgevoerd met een lokale bijenvereniging en op een bevruchtingslocatie die slechts tot op zekere hoogte geïsoleerd is van andere bijenstanden. Na aanvankelijke verliezen (bottleneck) aan volken en hoge besmettingen met varroa (jaar 2 en 3) is de populatie bijen nu stabiel en de besmetting met varroa lager. Sinds 2014 probeert VBBN Laren-Blaricum de selectiemethode te integreren met een 'normale' imkerij om honing te oogsten. Hun methoden (en resultaten) kunnen een belangrijke leidraad zijn om elders vergelijkbare acties op te zetten.

4. WUR Bijen@wur

Op vergelijkbare manier als VBBN Laren-Blaricum, maar sinds 2007 en 2008, werkt bijen@wur aan natuurlijke selectie van varroa-resistentie en misschien varroa-tolerantie. Bijen@wur houdt een controle groep volken aan die op dezelfde manier en in hetzelfde schema behandeld worden als de selectievolken, met het verschil dat in de controle de mijten twee keer per jaar bestreden worden met oxaalzuur (in juli en in december eventueel januari). Net als bij VBBN Laren-Blaricum was er in het begin veel uitval maar lukt het nu de populatie bijenvolken op peil te houden. Met het onderzoeken van de mechanismen die zorgen voor een betere weerstand tegen de varroamijt zijn gegevens verzameld over de reproductie van de mijten in werksterbroed en darrenbroed, over de mate van schoonpoetsen van de bijen (grooming) en wordt nu gewerkt aan grooming, VSH en virusbesmetting (ism Dr. Beekman van University Sydney). Koninginnen uit deze groep volken doen mee in het 'Varresist' project aan de universiteit van Gent (Dr. De Smet, prof. De Graaf).

5. 'Texel'

Naar verluidt bestaat er een populatie 'zwarte bijen' volken op Texel, die verhoogde resistentie tegen de varroamijt bezitten. De onderscheiden status van 'Texel' is per ongeluk ontstaan door een gekozen isolement van Texel toen de varroamijt op het vasteland oprukte. Echter de mijt had onverwacht rap het eiland toch bereikt met grote gevolgen voor de imkerij aldaar (Van der Steen, mondelinge mededeling). Mogelijk is de populatie bijenvolken destijds al door een varroa-bottleneck gegaan. De imkers van Texel werken met de 'Zwarte bij' (*Apis mellifera mellifera*). Over de status van het initiatief en de stand van zaken zijn weinig gegevens bekend.

6. Arista Bee Research

In 2014 is de stichting onder leiding van BartJan Fernhout gestart met een selectieprogramma volledig gericht op het versneld inkruisen van de VSH eigenschap, momenteel in Buckfast lijnen. Daartoe is contact gezocht met diverse onderzoeksgroepen in de VS en in Europa en actieve imkergroepen in Europa, en materiaal, onder andere van de SMR en VSH lijnen van de groep van

Harbo, bij elkaar gebracht. Arista Bee Research streeft naar volken met een zeer hoge / volledige mate van VSH, zodat in korte tijd de populatie van varroa in volken wordt gedecimeerd (en het volk verder niet meer energie hoeft te spenderen aan de varroamijten – de vraag is natuurlijk of de bijen ook echt stoppen met inspanning als er geen mijten zijn). In het licht van de recente resultaten over VSH, waaruit blijkt dat VSH mede of vooral een eigenschap is tegen aan varroa gelinkte virussen (Schöning et al., 2012, Ryabov et al., 2014, Mondet et al., 2015) zal moeten blijken of VSH een heel belangrijke, of slechts een van de bijdragende factoren aan varroaresistentie is.

7. De Duurzame Bij (DDB)

Bij de oprichting van de stichting 'De Duurzame Bij' op initiatief van imker Ed Pieterse was het doel het beschikbaar maken van de varroa-resistente Primorsky bijen uit Rusland uit de selecties van prof. Rinderer in Baton Rouge, VS. Behalve uit de VS werden ook koninginnen betrokken uit Kirchain in Duitsland, waar toen ook activiteiten liepen om te testen wat de bijdrage van Primorsky bijen aan de Duitse imkerij zou kunnen zijn. Nadat duidelijk werd dat de Primorsky bijen erg zwerm- en steeklustig waren en overgestapt op een 'hybriden-project', waarin werd geprobeerd Primorsky eigenschappen te koppelen aan lokale bijen. Nadat daarin de volksverliezen erg hoog waren (soms meer dan 85% verlies) heeft DDB de focus verlegd naar het selecteren van varroa-resistente volken uit alle bijenrassen. Het belangrijkste criterium is daarbij de populatieontwikkeling van de mijten, gemeten via tellen op de onderleggers en steekproeven van mijtbesmetting op de bijen.

2 Initiatieven in het buitenland

Internationale initiatieven uit het eigen netwerk, aangevuld met informatie uit de peer reviewed literatuur zijn heel verschillend van uitgangspunt en opzet. Een aantal maakt zelfs al de stap naar het commercieel leveren van koninginnen (initiatief 8, 9, 10, 11, andere kijken slechts 'wat er gebeurt' in selectie programma's of in de natuur (12-17). Toch liggen ze niet ver van elkaar in absolute zin: ook bij de selectieprogramma's is nog veelal sprake van een black box. In sommige gevallen is al veel screenwerk gedaan welke eigenschappen er toe doen. Zachtjesaan komen nu studies die de eigenschappen koppelen aan de genetica. Ook deze initiatieven zijn verwerkt in het samenvattend overzicht van de initiatieven (Deel 2 HF4).

8. Primorski (Rinderer)

Bijen uit het verre oosten van Rusland (Primorski), waar westerse honingbijen het langst voor zover bekend hebben geleefd naast *Apis cerana* met varroamijten, werden al in 90-er jaren opgehaald naar de VS, en langdurig getest en geselecteerd. (Rinderer et al., 2001). Er is redelijk veel literatuur over de Primorski bijen (zie Rinderer et al., 2010): de populatiegroei van de mijten in Primorski volken was veel trager, in het tweede seizoen hadden de Primorski's in juli 4000 mijten per volk, de controles meer dan 10.000 (wat de dood van deze volken veroorzaakte). De mijten stappen iets minder snel in bij Primorski bijen. Mogelijk gebruiken Primorski bijen diverse mechanismen: VSH, grooming (?), gereduceerde mijtreproductie. Raten gebouwd door Primorski bijen zouden minder kansen op reproductie geven aan de mijten (De Guzman et al., 2008). Een evaluatie van Primorski bijen in Duitsland (Kirchain) en de USA leverde niet het verwachte succes en toonde bovendien veel onaantrekkelijke eigenschappen van de Primorski bijen: lage honingopbrengst, steeklust en slechte groei van volken.

9. SMR (Harbo)

Begonnen in de negentiger jaren met volken met gunstige eigenschappen, die werden geselecteerd op aanwezigheid van minder mijten (Harbo & Harris, 2001). Men ontdekte dat de mijtpopulatie in die volken trager groeide en noemde dat Suppressed Mite Reproduction (SMR). Harbo & Harris onderscheidden een momentaan effect op de mijtpopulatie groei, en een vertraagd effect op de groei van de mijtenpopulatie. Het tweede effect was het grootst, naderhand bleek dat dit wordt veroorzaakt door VSH, het eerste effect zou dan komen door een echt onderdrukkend effect op de reproductie van de mijten. Wanneer 100% geselecteerde SMR bijenkoninginnen werden getest op bijenstanden van imkers, met vrije paring met lokale darren, bleek nog steeds een effect op de varroaopbouw in de volken meetbaar. Met andere woorden, je zou het via leveren van koninginnen in de praktijk kunnen introduceren. In de praktijk bleken imkers in de VS echter niet erg geïnteresseerd in de SMR bijen. Terwijl toch bij een praktijktest met commercieel geteelde SMR koninginnen (vrije paring) enorme verschillen in varroa aantallen werden verkregen, grotendeels doordat het percentage mijten dat niet reproduceerde toenam van 29% naar 51% (Harbo & Harris, 2003). Bij nader inzien bleek dat SMR nagenoeg synoniem is aan VSH, en wordt nauwelijks meer over twee verschillende 'traits' gesproken (Harbo & Harris, 2005; Ibrahim & Spivak, 2006). Tsuruda et al., (2012) identificeerden twee QTL in verband met VSH, een op chromosoom 1 en een op chromosoom 9.

10. Hyg (Spivak)

Spivak en anderen doen al veel jaren onderzoek en selectie, gericht op vooral hygiënisch gedrag. De 'beroemde' Minnesota Hygienic Bee was heel succesvol geselecteerd op resistentie tegen Amerikaans vuilbroed en kalkbroed. Het bleek dat deze selectie ook meer resistentie had tegen de varroamijt, maar het bleek niet genoeg om zonder bestrijding van varroa te kunnen imkeren. In een onderzoek

met een kruising van de Hygienische bijen met SMR bijen, de zuivere Hyg lijnen en een controle bleek dat het aantal mijten in de volken: Hyg/SMR < Hyg < controle (Ibrahim et al., 2006). Opmerkelijk genoeg: er was geen verschil in reproductie succes van de mijten (de mijten die reproduceerden hadden even veel nakomelingen).

11. Kirchain

Klassiek selectie en teelt van Carnica bijen, maar ook al jaren selectie op de traagste mijtontwikkeling in volken. Via darren ook op reproductie van volken (volken met schade leveren minder en slechtere darren, dus....) Op volksniveau geen selectie op overleving en reproductie van de volken.

12. High Grooming (Currie)

Bijenvolken van verschillende koninginnentelers werden geselecteerd aan de hand van hun grooming activiteit (Currie & Tamashbi, 2008). Sommige volken zijn fanatieke groomers, dergelijke 'high groomers' werden vergeleken met volken met een lage grooming activiteit. Er is geen sprake van selectie op grooming naar de bijenhouderspraktijk toe. Het groomen werkte goed, maar er was een sterke trade-off op de levensverwachting van de bijen. Het mooie van deze studie is dat niet is gekeken naar gedrag en niet louter naar al dan niet beschadigde mijten, maar naar de kwantitatieve uitkomst, zowel in kooitjes in het lab als in volken tijdens de winterzit.

13. Gotland (Fries)

In 2001 begon Ingemar Fries op een schiereiland aan de zuidkant van het Baltische eiland Gotland een bottleneck experiment in navolging van 'de natuur'. Hij noemde dit de 'James Bond approach' in navolging van John Kéfuss, een commerciële koninginnen teler in Zuid Frankrijk die dit procedé al jaren toepast. De selectie in dit Gotland experiment is alleen op overleving. Maar dan wel met lange adem, een volk dat een jaartje overslaat mag het jaar daarop weer mee, mits het overleeft. Het experiment startte in 2000 met 150 diverse volken, en heeft sindsdien al veel gegevens opgeleverd, de laatste jaren ook over de mechanismen: trager reproductie, andere populatiedynamica, minder instappen van mijten in het broed, effecten op de viruspopulaties.

Fries *et al* (2006) beschrijft het 'Bond' experiment: de sterfte in de winter neemt af (jaar 4-6), evenals de mijtbesmetting, na een paar jaar met heel weinig zwermactiviteit nam ook dat weer toe. Fries & Bommarco, (2007) lieten zien dat er een 82% reductie was in de groei van de mijtenpopulatie in vergelijking met controlevolken. De bron van de mijten deed er niet toe, dus is het een eigenschap van de bijen, van het volk. Verklaringen voor de betere resistentie / tolerantie: ze produceren minder broed (dar en werkster) dus zijn er minder 'kansen' voor de mijt om in te stappen en te reproduceren. Een groter aandeel van de mijten zit op de bijen (later instappen, minder aantrekkelijk broed, of gewoon omdat er minder geschikte cellen zijn?).

Locke & Fries (2011) vonden geen verschillen in brood removal (VSH), grooming en verdeling van de mijten over broed en bijen (in tegenstelling tot de eerdere publicatie van Fries & Bommarco (2007)?). Wel een verschil: een mindere volksgrootte, en een verminderd reproductiesucces van de mijten.

Locke et al., 2012 schrijven over de Avignon en de Gotland populatie: ze vonden een gereduceerde reproductie van de mijten. Dat geeft verlaagde mijtpopulaties, net laag genoeg om geen (te) grote virusuitbraak (DWV) te krijgen. De Avignon natuur-populatie had veel onvruchtbare mijten, de Gotland populatie veel vertraagde ei-leg door de mijten (geeft ook minder nakomelingen).

Locke et al 2014: de Gotland bijen hadden aan het eind van zomer sterk verlaagde titers van BQCV en SBV, vergeleken met de controlevolken. Het verloop van DWV was gelijk (terwijl varroa aantallen toch sterk verschillen). De Gotland volken overleefden de winter, de controle volken niet.

Behrens et al., 2011 vonden in de Gotlandpopulatie 3 QTLs liggend op chromosoom 4, 7 en 9, die geassocieerd zijn met een gereduceerde reproductie van de mijten.

14. Avignon & LeMans (LeConte)

Volken werden gevonden en gevolgd door Yves LeConte in verlaten oude bijenstanden die van nature waren herbevolkt (bij Avignon en bij LeMans). Selectie van deze volken had plaatsgehad op overleving. Van deze populaties (vooral de Avignon groep) zijn al veel gegevens verzameld (deels samen met 13). Naast bovengenoemde eigenschappen (Locke et al, 2012) bleek ook een effect op het verzamelen van propolis of het gebruik van propolis: de resistente bijen verzamelden minder propolis, maar die kleinere hoeveelheid propolis bleek wel meer van vier actieve componenten te bevatten (Popova et al., 2014). Locke et al., 2012: de Avignon populatie heeft veel infertiele mijten. De volken van de Avignon & LeMans selecties hadden onbehandeld net zo weinig sterfte als tegen varroa behandelde niet selecte volken, ze produceerden wel minder honing.

15. Arnot forest (Seeley)

De volken werden gevonden in de natuur via 'bee-lining' (lokken foerageersters op verschillende voederstations, en dan richtingslijnen vaststellen). In het bos werden (2003) evenveel wilde volken aangetroffen dan in 1978 (ver voor de komst van Varroa in 1990). De groei van de mijtenpopulatie in de volken was even snel als in normale ('new world carnica') volken (zelfde mijten), waaruit de conclusie van Seeley in 2007 dat er a-virulentie van de mijten ontwikkeld wordt. Er is niet veel onderzoek gedaan naar de mechanismen, maar wel werd in 2015 (Seeley et al., 2015) bevestigd dat de populatie bijen een geïsoleerde populatie vormt, ooit ontstaan uit gewone lokale bijen van imkers, die op eigen kracht voort bestaat. De dichtheid aan volken is ongeveer 1 per km². Analyse van het gehele genoom, vergeleken met die van bijen uit dezelfde regio uit museumcollecties, toonde aan dat de Arnot Forest bijen door een bottleneck gegaan waren: de variatie in het via de moeder overgedragen mitochondriële DNA was heel klein geworden (Mikheyev et al., 2015). Opmerkelijk genoeg was de variatie in het kern DNA even groot als tevoren, en bleek de bijdrage van het oorspronkelijke aandeel van de Europese voorouderlijnen niet te verschillen van de door imkers gehouden bijen. Dit onderzoek laat zien dat een voldoende diverse populatie honingbijenvolken op de komst van een nieuwe parasiet kan reageren met het heel snel ontwikkelen van resistentie / tolerantie, zonder daarbij veel genetische variatie te verliezen.

Seeley en co-auteurs benadrukken dat zelfs zonder enorm sterke resistentiemechanismen in een natuurlijke populatie een stabiele gastheer parasiet relatie kan ontstaan. Bijvoorbeeld het zwermen van een volk kan, mits het volk vrij in de natuur staat en niet dichtbij andere volken op een stand, bijdragen aan een verlaagde besmetting met mijten en een betere overwintering (Seeley & Smith, 2015). Ook zijn 'wilde' volken kleiner dan door imkers gehouden volken.

16. Noorwegen (Dahle)

Naar verluidt een nooit bestreden populatie van een imker in Noorwegen. Nog weinig gegevens (pers. comm met Björn en Peter Neumann, Tagung 2015)

17. Croatië Unije (Kezic)

Poging tot natuurlijke selectie op eiland Unije. Veel uitval van volken door te beperkte mogelijkheden (dracht) voor de bijen. Is wel wat documentatie over. Op Unije is veel gewerkt in samenwerking met het teeltprogramma aan Carnica bijen uit Kirchain in Duitsland. Het eiland Unije was een van de locaties in het Coloss Genotype-Environment Interactions (GEI) project (zie volgende hoofdstuk)

3 Internationale alignment binnen Coloss

Werkgroep 4 van Coloss is er in geslaagd het Coloss netwerk volledig te benutten door met een grote groep onderzoekers verspreid over heel Europa een grootscheeps gezamenlijk experiment te doen met 16 verschillende ondersoorten/ landrassen/ selecties van de honingbij op 20 verschillende locaties uitgevoerd. Hiermee probeerden ze het samenspel (soms tegenspel) tussen genotype van de bij en de omgeving in kaart te brengen. Als lokale bijen zijn aangepast aan de lokale omstandigheden zullen ze het 'thuis' in principe beter doen dan niet lokale. Om dit te testen werd steeds het lokale bijenras vergeleken met een aantal afkomstig van andere locaties (op alle plekken alle 20 rassen was natuurlijk niet haalbaar). Uitgangspunt was het opzetten van gelijke volken uit pakket-bijen met elk een jonge koningin in 2009, en de volken verder te volgen zonder varroa te bestrijden. De resultaten van dit onderzoek zijn gepubliceerd in een special van Journal of Apicultural Research. De opzet van de experimenten werd tevoren gepubliceerd (Costa et al., 2012). In het experiment waren ook een paar 'varroa-survival' populaties opgenomen (uit Kirchain en uit Avignon).

Het bleek dat bijenvolken op de noordelijke locaties van Europa meer bijen hadden dan in het zuiden, terwijl er juist minder cellen open en gesloten broed waren dan in het zuiden. Kortom, in het noorden leven de bijen gemiddeld langer. Dat correspondeerde overigens heel aardig met het aantal dagen dat bijen konden vliegen, veel minder in het noorden waardoor ze ook minder snel versleten (Hatjina et al., 2014). De volken varieerden in het seizoen tussen de 4000 en 22.000 bijen. In het tweede jaar werden de volken al kleiner (vooral door schade door varroa).

Het bleek dat de overleving van lokale volken beter was dan die van volken van elders (Büchler et al., 2014). Binnen lokaties hadden volken met een hoge gemeten varroabesmetting een iets kortere overleving dan die met een minder hoge besmetting, maar verder werd weinig verband gevonden met ziekten (Meixner et al., 2014). Op sommige locaties was de besmetting met varroa wel veel hoger dan op andere (Meixner et al., 2014). De besmetting met allerlei andere ziekten bleek weinig te verschillen, hoewel in het algemeen de besmetting van lokale bijen wel lager was dan van de niet-lokale (Francis et al., 2014).

Heel opmerkelijk was de waarneming dat varroa-survival stock bijen (uit Kirchain en Avignon) geen betere overleving hadden dan de andere populaties, en dat ook de besmetting met varroa niet minder was (Meixner et al., 2014). Het lijkt er op dat buiten de regio waaraan een bijenras is aangepast de varroaresistentie eigenschappen niet tot uiting komen. Dit zou pleiten voor het sterk regionaal houden van (natuurlijke) selectieprogramma's.

In hygiënisch gedrag en defensief gedrag was er veel variatie tussen de lijnen, maar meer nog tussen de locaties (Uzunov et al., 2014). Opmerkelijk was dat het defensieve gedrag minder was op eigen locaties dan op vreemde locaties. Defensief gedrag bleek omgekeerd evenredig met de mate van hygiënisch gedrag.

4 Samenvattend overzicht van de initiatieven

Een aantal beschreven Selectie experimenten / initiatieven in Nederland, Europa en Amerika. Natuurlijke (+ in kolom 2) en gerichte (kolom 3) selecties. De volgende kolommen geven de kenmerken waarop is geselecteerd (+) of niet (-): achtereenvolgens hygiënisch gedrag, reproductie van de mijten, grooming. De daarop volgende kolom is een criterium op volksniveau, een + als is geselecteerd op de populatieontwikkeling van de mijten. De kolom survival volk geeft aan dat geselecteerd is op overleven van het volk (los van factoren waaraan dat mogelijk ligt), de kolom volk reproductie voegt daar aan toe dat jaarlijkse reproductie van het volk (darren en jonge koninginnen) een aanvullende selectie-eis is, overleven is niet genoeg. Met achtergrond kleuren is aangegeven als een bepaalde eigenschap door de selectie veranderde in positieve zin (groen) of negatieve zin (rood). (***) vooral gericht op manier van imkeren)

Selectie/ activiteit	natuurlijk	gericht	Criteria					
			hygiëne	mijt reproductie	grooming	populatie mijt	survival volk	reproductie volk
Primorski (Rinderer)	±	+	±	±	-	+		
SMR (Harbo)	±	+	-	+	-	+		
Hyg (Spivak)	±	+	+	-	-	±		
Kirchain	-	+	+	-	-	+	+	
High Grooming (Curry)	-	+			+	+		
Arista BR (Fernhout)	-	+	+	-	-			
Gotland (Fries)	+	-	-	-	-	-	+	-
Avignon (LeConte)	+	-	-	-	-	-	+	-
Arnot forest (Seeley)	+	-	-	-	-	-	+	-
Noorwegen (Dahle)	+	-	-	-	-	- (?)	+	
Croatië Unije (Kezic)	+	-	-	-	-	-	+	-
BeeBreed	-	+	?	?	?			
De Duurzame bij	(±)	+				+	-	-
Texel	+	-	-	-	-	?	+	
VBBN Laren	+	-	-	-	-	-	+	+
bijen@wur	+	-	-	-	-	-	+	+
BD-imkerij ***	±	±	?	?	-	-	+	(+)
BeeDoc protocol (Fries)	-	+	-	-	-	+		

Literatuur

- Adler LS 2000. The Ecological Significance of Toxic Nectar. *Oikos* 91, 409-420
- Alaux C, Brunet J-L, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M, Brillard J, Baldy A, Belzunces LP, LeConte Y (2010) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol* 12:774-782
- Anderson, D.L., Trueman, J.W.H., 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.* 24, 165-189
- Archer CR, Pirk CWW, Wright GA & Nicolson SW 2014 Nutrition affects survival in African honeybees exposed to interacting stressors. *Functional Ecol* doi: 10.1111/1365-2435.12226
- Aronstein KA & KD Murray 2010. Chalkbrood disease in honey bees. *J.Inv.Path.* 103, S20-29.
- Berthoud H, Imdorf A, Haueter M, Radloff S and Neumann P 2010 Virus infections and winter losses of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research* 49(1), 60-65
- Blacquièrè T, 2008. De gezondheid van de Nederlandse bijen: eerste resultaten monitoring. *Bijennieuws* 9, nov 2008
- Blacquièrè T & Panziera D, 2015. VSH. *Bijennieuws* 32, juni 2015.
- Büchler et al, 2010 Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. *Apidologie* 41, 393-408
- Büchler, R; Andonov, S; Bienefeld, K; Costa, C; Hatjina, F; Kezic, N; Kryger, P; Spivak, M; Uzunov, A; Wilde, J (2013) Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. In V Dietemann; J D Ellis; P Neumann (Eds) *The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for Apis mellifera research*. *Journal of Apicultural Research* 51(5): <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.07>
- Büchler R, Costa C, Hatjina F, Andonov S, Meixner MD, Le Conte Y, Uzunov A, Berg S, Bienkowska M, Bouga M, Drazic M, Dyrba W, Kryger P, Panasiuk B, Pechhacker H, Petrov P, Kezic N, Korpela S, Wilde J 2014 The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research* 53(2): 205-214. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03>
- Calis JNM, Fries I, Rylie SC, 1999. Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30, 111-124
- Carreck NL, Ball BV & Martin SJ 2010a. The epidemiology of cloudy wing virus infections in honey bee colonies in the UK. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 66-71
- Carreck NL, Ball BV & Martin SJ 2010b Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 93-94
- Cornelissen B, Van der Steen S & Blacquièrè T 2008 De broedziekten van honingbijen, herkenning en bestrijding. Brochure *bijen@wur*, PRI, 16 pagina's
- Cornelissen B, Blacquièrè T & Van der Steen S 2010/13 Effectieve bestrijding van varroa. Uitgave van *bijen@wur*, PRI 2010, licht aangepaste herdruk 2013. 50 pagina's
- Costa C, Berg S, Bienkowska M, Bouga M, Bubalo D, Büchler R, Charistos L, Le Conte Y, Drazic M, Dyrba W, Fillipi J, Hatjina F, Ivanova E, Kezic N, Kiprijanovska H, Kokinis M, Korpela S, Kryger P, Lodesani M, Meixner M, Panasiuk B, Pechhacker H, Petrov P, Oliveri E, Ruottinen L, Uzunov A, Vaccari G, Wilde J 2012 A Europe-wide experiment for assessing the impact of genotype-environment interactions on the vitality of honey bee colonies: methodology. *Journal of Apicultural Science* 56: 147-158. <http://dx.doi.org/10.2478/v10289-012-0015-9> Cox-Foster et al., 2007

- Currie RW & Tahmasbi GH 2008. The ability of high- and low-grooming lines of honey bees to remove the parasitic mite *Varroa destructor* is affected by environmental conditions. *Canadian Journal of Zoology* 86, 1059-1067
- DeGrandi-Hoffman & Chen, 2015. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Current Opinion in Insect Science* 2015, 10:170–176
- De Guzman LI, Rinderer TE, Frake AM 2008 Comparative reproduction of *Varroa destructor* in different types of Russian and Italian honey bee combs. *Exp. Appl. Acarol.* 44 (3), 227–238.
- De Miranda JR & Genersch E 2010. Deformed wing virus *J.Inv.Path.* 103, S48-61
- De Miranda JR, Cordonni G & Budge G 2010. The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex *J.Inv.Path.* 103, S10-47
- Eiri DM, Suwannapong G, Endler M, Nieh JC (2015) *Nosema ceranae* Can Infect Honey Bee Larvae and Reduces Subsequent Adult Longevity. *PLoS ONE* 10(5): e0126330. doi:10.1371/journal.pone.0126330
- Evans JD & Spivak M 2010. Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *J Inv Path* 103 S62-72
- Forsgren E 2010. European foulbrood in honey bees *J.Inv.Path.* 103, S5-9
- Francis RM, Kryger P, Meixner M, Bouga M, Ivanova E, Andonov S, Berg S, Bienkowska M, Büchler R, Charistos L, Costa C, Dyrba W, Hatjina F, Panasiuk B, Pechhacker H, Kezić N, Korpela S, Le Conte Y, Uzunov A, Wilde J 2014 The genetic origin of honey bee colonies used in the Genotype-Environment-Interactions experiment: a comparison of methods. *Journal of Apicultural Research* 53(2): 188-204. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.02>
- Fries I, Camazine S, Sneyd J 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World* 75, 5–28.
- Fries I 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*) *J.Inv.Path.* 103, S73–79
- Fries I & Bommarco R 2007 Possible host–parasite adaptations in honey bees infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie* 38 (6), 525–533.
- Fries I, Hansen H, Imdorf A, Rosenkranz P, 2003 Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie* 34, 389–398
- Fries I, Imdorf A, Rosenkranz P, 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie* 37, 564–570
- Genersch E 2010. American foulbrood in honeybees and its causative agent *Paenibacillus* larvae. *J.Inv.Path.* 103, S10-19.
- Genersch E, von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Büchler R, Berg S, Ritter W, Mühlen W, Gisder S, Meixner M, Liebig G, Rosenkranz P 2010 The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* 41:332–352
- Harbo JR & Harris JW 2001 Resistance to *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) when mite-resistant queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) were free-mated with unselected drones. *J. Econ. Entomol.* 94, 1319–1323
- Harbo JR & Harris JW 2003. An evaluation of commercially produced queens that have the SMR trait. *Am Bee J* March 2003, 213-216
- Harbo JR & Harris JW 2005 Suppressed mite reproduction explained by the behavior of adult bees. *J Apic Res* 44, 21-23
- Harris, J.W., 2007. Bees with *Varroa*-sensitive hygiene preferentially remove mite infested pupae aged ≤ 5 days post capping. *J. Apicult. Res.* 46, 134–139.

- Hatjina F, Costa C, Büchler R, Uzunov A, Drazic M, Filipi J, Charistos L, Ruottinen L, Andonov S, Meixner MD, Bienkowska M, Dariusz G, Panasiuk B, Le Conte Y, Wilde J, Berg S, Bouga M, Dyrba W, Kiprijanovska H, Korpela S, Kryger P, Lodesani M, Pechhacker M, Petrov P, Kezic N 2014 Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions. *Journal of Apicultural Research* 53(2): 233-247. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.05>
- Human H, Archer CR, du Rand EE, Pirk CWW, Nicolson SW 2014 Resistance of developing honeybee larvae during chronic exposure to dietary nicotine. *Journal of Insect Physiology* 69, 74–79
- Ibrahim A & Spivak M 2006 The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie* 37, 31-40
- Ibrahim A, Reuter GS & Spivak M 2006. Field trial of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*. *Apidologie* 38, 67-76
- Johnson RM 2015 Honey Bee Toxicology. *Annu. Rev. Entomol.* 60, 22.1–22.20
- Köhler A, Pirk CWW, Nicolson SW 2012 Honeybees and nectar nicotine: Deterrence and reduced survival versus potential health benefits. *Journal of Insect Physiology* 58, 286–292
- LeConte Y, 2005 Dans nos ruchers, *Varroa destructor* est un clone. *Abeilles &* 108-5, 28-29
- Le Conte, Y., de Vaublanc, G., Crauser, D., Jeanne, F., Rousselle, J.-C., Bécard, J.-M. (2007) Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor* . *Apidologie* 38, 566–572
- Locke, B., Fries, I. (2011) Characteristics of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Sweden surviving *Varroa destructor* infestation. *Apidologie* 42, 533–542
- Locke, B., LeConte, Y., Crauser, D., Fries, I. (2012) Host adaptations reduce the reproductive success of *Varroa destructor* in two distinct European honey bee populations. *Ecol. Evol.* 2 , 1144–1150
- Locke B, Forsgren E, de Miranda JR (2014) Increased Tolerance and Resistance to Virus Infections: A Possible Factor in the Survival of *Varroa destructor*-Resistant Honey Bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 9(6): e99998. doi:10.1371/journal.pone.0099998
- Mao W, Schuler MA, and Berenbaum MR 2013 Honey constituents up-regulate detoxification and immunity genes in the western honey bee *Apis mellifera*. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1303884110
- Martin SJ 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* 109, 267–281
- Martin SJ, Highfield AC, Brettell L, Villalobos EM, Budge GE, Powell M, Nikaido S, Schroeder DC 2012. Global Honey Bee Viral Landscape Altered by a Parasitic Mite. *SCIENCE* 336 1304-05.
- Mattila HR & Seeley TD 2014 Extreme polyandry improves a honey bee colony's ability to track dynamic foraging opportunities via greater activity of inspecting bees. *Apidologie* 45, 347-363
- McMenamin & Genersch, 2015
- Meixner MD, Francis RM, Gajda A, Kryger P, Andonov S, Uzunov A, Topolska G, Costa C, Amiri E, Berg S, Bienkowska M, Bouga M, Büchler R, Dyrba W, Gurgulova K, Hatjina F, Ivanova E, Janes M, Kezic N, Korpela S, Le Conte Y, Panasiuk B, Pechhacker H, Tsoktouridis G, Vaccari G, Wilde J 2014 Occurrence of parasites and pathogens in honey bee colonies used in a European genotype - environment - interactions experiment. *Journal of Apicultural Research* 53(2): 215-229. <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.04>

- Mikheyev AS, Tin MM, Arora J & Seeley TD 2015 Museum samples reveal rapid evolution by wild honey bees exposed to a novel parasite. *Nature communications*, 6, 7991 | DOI: 10.1038/ncomms8991
- Mondet F, de Miranda JR, Kretzschmar A, Le Conte Y, Mercer AR (2014) On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies along a New Expansion Front of the Parasite *Varroa destructor*. *PLoS Pathog* 10(8): e1004323. doi:10.1371/journal.ppat.1004323
- Mondet F, Alaux C, Severac D, Rohmer M, Mercer AR, & Le Conte Y 2015. Antennae hold a key to *Varroa*-sensitive hygiene behaviour in honey bees. *Sci. Rep.* 5, 10454; doi: 10.1038/srep10454
- Moritz RA & Evans JD 2008 Honey bee genomics and breeding for resistance to virus infections. *In: Aubert et al.,(Editors) Virology and the Honey Bee. EC EUR 21937. pp 347-370*
- Moritz RFA, de Miranda J, Fries I, Le Conte Y, Neumann P, Paxton RJ 2010 Research strategies to improve honeybee health in Europe. *Apidologie* 41, 227–242
- Pettis J.S., vanEngelsdorp D., Johnson J., Dively G. 2012 Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften* 99, 153-158. (doi:10.1007/S00114-011-0881-1)
- Popova M, Reyes M, Le Conte Y & Bankova V 2014 Propolis chemical composition and honeybee resistance against *Varroa destructor*. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, DOI: 10.1080/14786419.2014.881366
- Råberg L, Graham A L & Read AF 2009. Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1513), 37-49.
- Ravoet J, Maharramov J, Meeus I, De Smet L, Wenseleers T, et al. (2013) Comprehensive Bee Pathogen Screening in Belgium Reveals *Crithidia mellificae* as a New Contributory Factor to Winter Mortality. *PLoS ONE* 8(8): e72443. doi:10.1371/journal.pone.0072443
- Ribièrè M, Ball B & Aubert MFA, 2008. Natural history and geographical distribution of honey bee viruses. *In: Aubert et al.,(Editors) Virology and the Honey Bee. EC EUR 21937. pp 15-84*
- Ribièrè M, Olivier V & Blanchard P 2010. Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? *J.Inv.Path.* 103, S120-131
- Rinderer TE, de Guzman LI, Delatte GT, Stelzer JA, Lancaster VA, Kuznetsov V, Beaman L, Watts R, Harris JW 2001 Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia, *Apidologie* 32, 381–394
- Rinderer TE, Harris JW, HuntGJ, de Guzman LI 2010 Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America *Apidologie* 41, 409–424
- Rosenkranz P, Aumeier P & Ziegelmann B 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J.Inv.Path.* 103, S96-119
- Ryabov EV, Wood GR, Fannon JM, Moore JD, Bull JC, Chandler D, Mead A, Burroughs N, Evans DJ: A virulent strain of deformed wing virus (DWV) of honeybees (*Apis mellifera*) prevails after *Varroa destructor*-mediated, or in vitro, transmission. *PLoS Path* 2014, 10:e1004230.
- Schöning C, Gisder S, Geiselhardt S, Kretschmann I, Bienefeld K, Hilker M, Genersch E 2012 Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards *Varroa destructor* parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*. *J Exp Biol* 2012, 215:264-271.
- Seeley TD 1995. *The wisdom of the hive. The social physiology of honey bee colonies.* Harvard University Press, London
- Seeley TD 2007 Honey bees of the Arnot Forest: a population of feral colonies persisting with *Varroa destructor* in the northeastern United States. *Apidologie* 38, 19–29
- Seeley TD 2010, 'Honeybee Democracy' Princeton University Press

- Seeley TD, Tarpay DR, Griffin SR, Carcione A, Delaney DA 2015 A survivor population of wild colonies of European honeybees in the northeastern United States: investigating its genetic structure. *Apidologie*, DOI: 10.1007/s13592-015-0355-0
- Seeley TD, Smith ML 2015 Crowding honeybee colonies in apiaries can increase their vulnerability to the deadly ectoparasite *Varroa destructor*. *Apidologie* DOI: 10.1007/s13592-015-0361-2
- Simone-Finstrom MD, Spivak M. 2010. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, Springer Verlag (Germany), 2010, 41 (3), 295-311
- Simone-Finstrom MD, Spivak M (2012) Increased Resin Collection after Parasite Challenge: A Case of Self-Medication in Honey Bees? *PLoS ONE* 7(3): e34601. doi:10.1371/journal.pone.0034601D.
- Sumpter, S. J. Martin, The dynamics of virus epidemics in *Varroa* infested honey bee colonies. *J. Anim. Ecol.* 73, 51 (2004).
- Tarpay DR, & vanEngelsdorp D & Pettis 2013. Genetic diversity affects colony survivorship in commercial honey bee colonies. *Naturwissenschaften* 100, 723–728
- Tsuruda JM, Harris JW, Bourgeois L, Danka RG, Hunt GJ (2012) High-Resolution Linkage Analyses to Identify Genes That Influence *Varroa* Sensitive Hygiene Behavior in Honey Bees. *PLoS ONE* 7(11): e48276. doi:10.1371/journal.pone.0048276
- Uzunov A, C Costa, B Panasiuk, M Meixner, P Kryger, F Hatjina, M Bouga, S Andonov, M Bienkowska, Y Le Conte, J Wilde, D Gerula, H Kiprijanovska, J Filipi, P Petrov, L Ruottinen, H Pechhacker, S Berg, W Dyrba, E Ivanova, and R Buchler. 2014. Swarming, defensive and hygienic behaviour in honey bee colonies of different genetic origin in a pan-European experiment. *J. Apic. Res.* 53:248-260
- Van Dooremalen C, Stam E Gerritsen L, Cornelissen B, Van der Steen J, Van Langevelde F, Blacquièrre T 2013 Interactive effect of reduced pollen availability and *Varroa destructor* infestation limits growth and protein content of young honey bees. *Journal of Insect Physiology* 59, 487–493
- VanEngelsdorp D et al., 2009. Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *Plos One* 4 (8),
- Van Praagh J 2014. Varroaresistentie zwaartepunt in veredeling van honingbijen. *Bijenhouden* 8 (5), 26-28
- Van der Steen, 2010 *Nosema apis* en *Nosema ceranae* Fact sheet bijen@wur, PRI, 8 pagina's
- Vidau C, Diogon M, Aufauvre J, Fontbonne R, Vigue`s B, Brunet J-L, Texier C, Biron DG, Blot N, Alaoui HE, Belzunces LP, Delbac F 2011 Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS ONE* 6:e21550
- Villa JD, Bustamante DM, Dunkley JP, Escobar LA, 2008. Changes in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony swarming and survival pre- and postarrival of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Louisiana. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 101 (5), 867–871.
- Wilson-Rich N, Spivak M, Fefferman NH & Starks PT 2009. Genetic, individual and group facilitation of disease resistance in insect societies. *Annu. rev. Entomol.* 54, 405-423
- Zakar E, Javor A & Kusza Sz 2014. Genetic bases of tolerance to *Varroa destructor* in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insect.Soc.* DOI 10.1007/s00040-014-0347-5