



Prof. Dirk de Graaf, Bijenexpert Universiteit Gent

Selectie op virusresistentie in Vlaanderen

Enkele maanden geleden heeft de Vlaamse Minister Joke Schauvliege, bevoegd voor omgeving, natuur en landbouw, het Vlaamse bijenteeltplan aangekondigd. Een plan dat samenvalt met het project voor steun aan de bijenteeltsector vanuit Europa, het zgn. honingproject – zo genoemd omdat de focus vroeger lag op de kwaliteit en de afzet van honing. Nu zijn de programmapunten van de Europese oproep enigszins bijgestuurd en als volgt: i) technische ondersteuning, ii) herstel bijenbestand, iii) aanpak van de varroa-mijtziekte, iv) honingkwaliteit, v) toegepast onderzoek en vi) het reizen met bijen. Vlaanderen zet de volgende drie jaar vooral in op de eerste twee programmapunten en door het koppelen van haar bijenteeltplan aan de Europese projectfinanciering heeft Schauvliege alvast een belangrijke hindernis genomen, met name: waar gaan we het geld vandaan halen. Als alles naar wens verloopt dan zal de helft van dat geld straks van Europa komen en past de Minister de andere helft bij. Gezien de huidige conjunctuur is deze cofinanciering vanuit Vlaanderen echt wel een belangrijke wending, die door alle direct en indirect betrokkenen zeer gewaardeerd wordt.

Wie het project leest ziet de belangrijke uitbouw van het luik over selectiewerk (dat onder programmapunt 'herstel bijenbestand' valt). Voor het eerst sinds mensenheugenis zullen de verschillende Vlaamse bijenteeltfederaties in eenzelfde selectieprogramma stappen. Hierin is er veel aandacht voor het meten

van de teeltprestaties van de kweekmoeren, in zekere mate naar het voorbeeld van het Beebreed-programma dat zijn oorsprong vond in het Länderinstitut für Bienenkunde, Hohen Neudorf in Duitsland. Er is in Vlaanderen een sterke traditie van het propageren van goed teeltmateriaal. Maar de omschrij-

ving 'goed teeltmateriaal' kreeg de laatste jaren een eigen invulling; er was immers een bijna blind vertrouwen in het teeltmateriaal dat men vanuit naburige of zelfs verafgelegen landen binnenbracht. Ondertussen deden de Europese onderzoekers – vooral onder de impulsen van

dr. Ralph Büchler – alle moeite van de wereld om de imkers ervan te overtuigen dat men beter met lokaal aangepaste honingbijen werkt. Deze boodschap was ook in Vlaanderen aangekomen en vertaalt zich nu in een evenwichtig selectieplan. De herkomst van een teeltmoer zou nu minder zwaar moeten wegen. De teeltprestaties des te meer. Verder zullen er quota worden opgelegd en tal van hefbomen worden gebruikt om een mentaliteitsverandering teweeg te brengen en te eindigen met teeltmateriaal van uitstekende kwaliteit. Zo zal eenieder die de prestaties van de moeren meet een vergoeding kunnen krijgen. De prijs hiervoor zal mede afhangen van de kwaliteit van de moer.

Binnen het Beebreed-selectieprogramma en ondertussen ook binnen het Europese SMARTBEES-project (7^e Kaderprogramma van de Europese Unie), ligt een belangrijke focus op de kweek van varroatolerante bijen. Het Vlaamse bijenteeltplan/project zal deze stroming volgen. Doch, onder impuls van ondergetekende werd de definitie van ziekteresistentie/tolerantie in het nieuwe bijenteeltplan uitgebreid met een vrij innovatief kenmerk, met name de resistentie tegen virale aandoeningen. Aan de Universiteit Gent hebben we reeds verschillende jaren expertise kunnen opbouwen op het gebied van virale ziekten bij honingbijen, o.a. dankzij het programmapunt toegepast onderzoek van hetzelfde bijenteeltproject. Neem daarbij het feit dat mijn onderzoeksgroep enkele jaren geleden betrokken was in het BEEDOC-project (eveneens een project van het 7^e Kaderprogramma van de EU), waarin we o.a. een belangrijke methode voor virusanalyse hebben kunnen ontwikkelen, dan mag deze stap niet echt verbazen.

Eigenlijk werd de aanzet gegeven door een vaststelling dat we bij het overlarfproject steeds een uitval hadden van 50%. Dit overlarfproject maakt al jaren deel uit van het selectiewerk in Vlaanderen en beoogt de (massale) ver-

meerdering van geselecteerd teeltmateriaal door overlarving. En inderdaad, het was bijna een constante dat elk jaar de helft van de ongeveer 6.000 overgelarfdde larfjes niet kon worden opgekweekt tot leggende moeren. Op een bepaald moment zijn we gaan kijken of de bijenwas wel van goede kwaliteit was. Immers, nogal wat Amerikaanse studies wezen op het gevaar van residuen van pesticiden in de bijenwas, met name op de prestaties van de moeren die in zulke vervuilde was worden opgekweekt. In 2012 werd beslist om eveneens in het kader van het bijenteeltproject een gezondheidscontrole te doen van de teeltmoeren. Deze gezondheidscontrole was gericht op de virusziekten en om geen destructieve monsternamen te hoeven doen, werd gekozen om de eitjes uit werksterbroed hiervoor te gebruiken. Tien eitjes bleken voldoende om een brede virusscreening te doen. Groot was onze verbazing toen bleek dat 75% van de monsters met virussen geïnficeerd was. De data kan je raadplegen in de publicatie van dr. Jorgen Ravoet in BMC Veterinary Research van 2015 die vrij toegankelijk is op het internet. In 2015 hebben we dit experiment bijgestuurd door enkel eitjes uit darrenbroed te gebruiken, immers de eitjes uit werkstercellen zijn bevrucht en kunnen dus ook door het sperma van de dar besmet zijn. En inderdaad, toeval of niet, vorig jaar was de besmettingsgraad half zo hoog. Hoe komt het dat sommige moeren gezonde eitjes leggen en andere niet? Zijn sommige bijen in staat om met succes virussen te bestrijden? In de literatuur vind je wel wat informatie over antivirale immuniteit bij insecten. Had dit hier iets mee te maken?

In 2013 werd door Jorgen Ravoet een artikel gepubliceerd over de pathogeenlast van de werksters op de Vlaamse bijenstanden en de associatie met de wintersterfte (zie zijn PLOS ONE-publicatie die eveneens vrij toegankelijk is). We beschikten dus over de gegevens van honderden bijen-

standen wat betreft o.a. de viruslast. Het viel ons op dat sommige bijenvolken de volle laag hadden gekregen en soms wel met vijf of meer verschillende virussen waren geïnficeerd. Andere kolonies waren dan weer mild geïnficeerd met slechts twee of drie virussoorten. De hypothese was dat de bijen immuun tegen virussen zijn. Zo werd besloten om deze monsters aan een nieuwe, diepgaande analyse te onderwerpen. We wilden weten of deze immuniteit in beide groepen even actief was. De antivirale immuniteit waarnaar onze aandacht uitging was de zgn. RNA-interferentie of RNAi. Deze immuniteit is erop gericht om het genetisch materiaal van de virusdeeltjes in een cel op te ruimen. Het probleem was dat we niet goed wisten op welk deeltje van die RNAi response we moesten mikken. Vandaar dat we eerst zeer ruim zijn gaan screenen met een 'tool' die we eveneens in het BEEDOC-project hadden ontwikkeld, met name de colorimetrische DNA-chip. Ja... ik weet het, mijn verhaal begint té technisch te worden. Dus ik sla een stukje over en ik kom snel tot de essentie van dit onderzoek: we kwamen tot de bevinding dat bij bijen met een zware viruslast de antivirale immuniteit op 'uit' staat. Bij bijen die weinig of geen virussen hebben functioneert de antivirale immuniteit wel goed. Deze onderzoeksresultaten van mijn postdoctoraal medewerker dr. Lina De Smet worden later gepubliceerd in het tijdschrift Entomological Science.

Het mag dus duidelijk wezen: bijen zijn in staat om zich tegen virussen teweerge te stellen. De ontbrekende schakel in mijn redenering is nog dat we niet weten of dit een overerfbaar kenmerk is. Moeten we hiervan het bewijs te hebben alvorens een selectieprogramma uit te ontwerpen? Ik denk het niet. In Denemarken heeft men jaren geselecteerd op bijenvolken met een lage nosealast en het gevolg is dat ze nu over nosemaresistente volken beschikken. Het mechanisme wordt nu door de onderzoekers blootgelegd.



Prof. Dirk de Graaf bij één van zijn doctorandi. Foto Severien Van Dam

Het heeft o.a. iets te maken met een proces van celdood dat door de parasiet wordt afgeremd en waaraan de resistente volken minder onderhevig zijn (Kurze e.a., 2015). Dus, je hoeft niet alles uit te vlooien alvorens met selectiewerk te starten, zo lijkt mij. Het zou onheus zijn te claimen dat het idee van virusresistentie alleen in Gent is geboren. De groep van prof. Joachim de Miranda heeft reeds in 2014 de mogelijke link gelegd tussen varroa-tolerantie van de Gotland-bijen in Zweden en hun lagere viruslast (Locke, 2015). Vooral de concentratie deeltjes van zakbroedvirus en Black Queen Cell Virus waren aanmerkelijk lager. In hun studie bleek ook dat deze Gotland-bijen beter de winter doorkwamen. En dat is uiteindelijk de essentie van het verhaal. Ik bedoel, onze inspanningen op het gebied van varroatolerantie en eventuele virusresistentie hebben uiteindelijk een gemeenschappelijk doel, namelijk bijenkolonies te kweken die veerkrachtiger zijn en niet ten onder gaan tijdens de winter.

De manier waarop we dit nu in ons selectiewerk gaan aanpakken is vrij eenvoudig. We bieden de telers en hun klanten de mogelijkheid om teeltmoeren of hun nakomelingen te laten testen op viruslast. Dat zal gebeuren door analyse van de eitjes uit darrenbroed. We zetten hiervoor een uitgebreide procedure op poten waarbij gegarandeerd kan worden dat de eitjes in een koude-keten het lab in Gent bereiken. We stellen de inzender in kennis van het resultaat, maar ook de andere telers en gebruikers. Er zal met grote transparantie gecommuniceerd worden over de teeltprestaties van de moeren en we zullen de eventuele klanten van deze selectiewerkgroep aanraden om telkens voor een moeder te kiezen die virusvrij is. Door dit langere tijd vol te houden, hopen we dat met de jaren het aandeel van virusvrije moeren zal toenemen en hopelijk parallel hiermee het aantal volken dat zonder problemen de winter doorkomt. Zoals bekend is dit in Vlaanderen een ernstig probleem,

maar met dit werk en met de vele andere initiatieven die we in dit Vlaams bijenteeltproject nemen, hopen we het tij te kunnen keren. ●

Literatuur

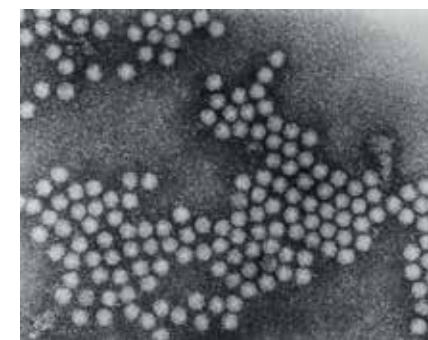
- Kurze, C., Le Conte, Y., Dussaubat, C., Erler, S., Kryger, P., Lewkowski, O., Müller, T., Widder, M., Moritz, R.F.A., 2015. Nosema Tolerant Honeybees (*Apis mellifera*) Escape Parasitic Manipulation of Apoptosis. PLOS ONE <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0140174>.
- Locke, B., 2015. Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. Apidologie DOI: 10.1007/s13592-015-0412-8.
- Ravoet J., Maharramov J., Meeus I., De Smet L., Wenseleers T., Smaghe G., de Graaf D.C. (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.

Bescherming van honingbijen tegen DWV-infectie

Henk van der Scheer

In zowel dit nummer van Bijenhouden als in beide vorige nummers zijn artikelen bijeengebracht over onderzoek naar varroaresistentie bij onze westerse honingbij, *Apis mellifera*. Opmerkelijk, want varroamijten zijn niet de belangrijkste stressoren. Omstreeks 1985, kort na de insleep van die mijten in ons land, kwamen ze soms in grote aantallen – meer dan 20.000 stuks in het najaar – in bijenvolken voor, zonder duidelijke schadesymptomen te veroorzaken zoals bijen met misvormde vleugels en wintersterfte. Wel beperkten de activiteiten van de mijten de levensduur van de bijen en hadden besmette volken meestal nog maar een paar jaar te leven als de mijten niet werden bestreden.

Door te leven van de hemolymf van bijen raakten de varroamijten echter ernstig besmet met het verkrukelde-vleugelvirus (Deformed Wing Virus, DWV), een virus dat altijd in geringe mate in bijenvolken voorkomt. Dat virus bestaat uit verschillende stammen, met als hoofdtypen A, B, en C, en die kunnen ook allemaal in varroamijten vóórkomen en zich in die mijten vermeerderen. Alleen stam A wordt echter in verband gebracht met varroa en wintersterfte. Als een ernstig besmette moedermijt een pop aanprikt om hemolymf op te zuigen, dan brengt ze duizenden DWV-deeltjes over. Als dat stam A betreft, dan ontstaat een bij met misvormde vleugels en een verkort achterlijf. De belangrijkste stressor van honigbijen is dus in feite DWV-stam A.



Virusdeeltjes uit aardappel, lijkend op DWV
Foto: PRI, bijen@wur

Ook in Engeland probeerden bijenhouders resistentie in hun volken te krijgen door de varroamijten niet meer te bestrijden. In de meeste gevallen lukte dat niet en gingen de volken dood, maar bij een bijenhouder in Swindon in het midden van Engeland lukte dat wél. Ondanks de aanwezigheid van veel varroamijten die ernstig besmet waren met DWV overleven die volken al een paar jaar. Nader onderzoek door Mordecai e.a. (2015) bracht aan het licht dat de DWV-deeltjes in mijten en bijen van deze volken overwegend behoorden tot stam B en niet ziekteverwekkend waren. Slechts in 1 van de 30 bijenmonsters werden ook deeltjes van stam A gevonden naast deeltjes van stam B en C, maar in het betreffende volk zagen die deeltjes kennelijk geen kans om 'de baas' te worden en het volk ziek te maken. In de mijtenmonsters werden vaker virusdeeltjes van stam A gevonden naast die van stam B en C, maar altijd waren de deeltjes van B en C in de meerderheid. Daarnaast konden de deeltjes van stam A niet succesvol worden overgebracht van de mijten naar de bijen. Naast virusdeeltjes van de drie stammen werden er ook deeltjes gevonden die ontstaan waren uit kruisingen tussen die stammen. Sommige daarvan



waren meer ziekteverwekkend voor honingbijen dan deeltjes van stam A zelf. Toch overheersten in de volken in Swindon virusdeeltjes van stam B en die voorkomen dat ziekteverwekkende DWV-deeltjes de bijen kunnen infecteren en ziek maken. Ze beschermen de bijen. Overigens verscheen al eerder een publicatie van Strauss e.a. (2013) over hetzelfde fenomeen in vier bijenstanden in Zuid-Afrika. Ook daar beschermden virusdeeltjes van DWV-stam B de bijen tegen infectie door de ziekteverwekkende stam A. Het verschijnsel van bescherming wordt wel vaker gezien bij andere ziekteverwekkers en gastheren, waaronder planten en dieren, inclusief de mens. Het wordt bescherming genoemd tegen een superinfectie door nauw verwante ziekteverwekkers – *superinfection exclusion* in het Engels.

Volgens de onderzoekers in Engeland lijkt het besmetten van bijenvolken met varroamijten die zelf besmet zijn met DWV-stam B, een goede optie om via biologische bestrijding het huidige probleem varroa/DWV de baas te worden. ●

Literatuur

- Mordecai, G.J., Brettell, L.E., Martin, S.J., Dixon, D., Jones, I.M. en Schroeder, D.C., 2015. Superinfection exclusion and the long-term survival of honey bees in Varroa-infested colonies. The ISME Journal, online 27 October 2015: 1-10. Doi: 10.1038/ismej.2015.186.
- Strauss, U., Human, H., Gauthier, L., Crewe, R.M., Diemann, V. en Pirk, C.W.W., 2013. Seasonal prevalence of pathogens and parasites in the savannah honeybee (*Apis mellifera scutellata*). Journal of Invertebrate Pathology 114: 45-52.