

**Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU, redovisar här sin verksamhet för åren 2014/2015.**

**Det har varit en mycket aktiv tid med bland annat forskning, diagnosverksamhet och undervisning.**

**AV: EVA FORSGREN, INGEMAR FRIES, JOACHIM DE MIRANDA, BARBARA LOCKE, EMILIA SEMBERG, EKOLOGISKA INSTITUTIONEN, SLU**

# SLU:s verksamhet med bin

Under 2014/15 var vi sammanlagt sju personer i den grupp på SLU som arbetar med olika aspekter på hälsa och sjukdomar hos honungsbin. Gruppen utökades under sommaren 2014 med två nya forskarstuderande/doktorander; Sepideh Lamei som ska studera mjölksyrabakteriers betydelse för bins hälsa, och Srinivas Thaduri som ska studera sammansättningen av mikroorganismer hos den gotländska population av bin som överlevt och klarar sig utan behandling mot varroakvalstret (de så kallade Bondbina). En kortfattad beskrivning av deras respektive projekt kan ni läsa om längre ned i texten.

Diagnostik av de sjukdomar och skadegörare som förekommer i bisamhällen har sedan länge funnits på SLU. Detta arbete utförs på uppdrag av Jordbruksverket som är ansvarig för lagstiftningen kring smittsamma sjukdomar och skadegörare hos honungsbin. År 2011 utsåg EU-kommissionen ett europeiskt referenslaboratorium (EU-RL) för bihälsa i Frankrike, vilket innebär ett krav på samtliga medlemsländer att i sin tur utse nationella referenslaboratorier (NRL). I december 2014 utsåg regeringen SLU till Sveriges NRL för bihälsa. Eftersom det finns ett krav från EU-RL att NRL ska vara ackrediterade, kommer vi att arbeta emot en ansökan om generell ackreditering av labbet enligt ISO 17025, samt av de diagnosmetoder som används för diagnos av i första hand amerikansk yngelröta, en sjukdom som regleras både i svensk och i europeisk lagstiftning. Vi kommer på lång sikt även att arbeta mot en ackreditering för andra

metoder för samtliga för bin relevanta skadegörare och sjukdomsalstrare.

Våra samarbeten både inom och utom Europa fortsätter, och förutom forskning, medverkar vi även i policy-utveckling och spridning av information. Ett exempel på detta är Ingemar Fries medverkan i European Academies Science Advisory Council (EASAC), en expertgrupp som EU-kommissionen nyligen sammankallade för att sammanfatta det aktuella bevisläget om kemiska växtskyddsmedels påverkan på bin (se artikel i Bitidningen maj 2015, sid. 10-11). Ett annat exempel är Eva Forsgren och Joachim de Mirandas deltagande vid ett toppmöte ("Varroa summit") om varroa-situationen i världen som hölls i Maryland, USA februari 2014. I mötet deltog politiker och företrädare för agro-industri, forskningsråd och myndigheter.

## **FORSKNING Amerikansk yngelröta**

Amerikansk yngelröta (som orsakas av den sporbildande bakterien *Paenibacillus larvae*) är en av de mest allvarliga sjukdomarna som finns inom biodlingen. Om sjukdomen får fäste i en biodling eller ett område är den mycket svår att bli av med. Bin har normalt en relativt stor motståndskraft mot sjukdomen, och det är därför först när smittrycket blir för högt som sjukdomssymptom utvecklas. Infekterade, döda larver innehåller miljontals bakteriesporer som kan spridas i en biodling eller ett område. Därför är tidig upptäckt av sjukdomen och bra metoder för att påvisa smitta viktiga för en så bra

kartläggning som möjligt när smittspridning skall begränsas.

Vi har sedan många år tillbaka forskat kring diagnosmetoder och spridningsvägar för amerikansk yngelröta, och förbättrat provtagnings teknikerna för att kunna påvisa smitta (även utan att man kan se sjukdomssymptom) i bisamhället. I samarbete med en yrkesbiodlare har vi använt dessa metoder för att komma till rätta med hans problem med sjukdomen. Vi har tagit prover på vuxna bin från samtliga samhällen i biodlingen på hösten. Prover från de enskilda samhällena har kombinerats i ett samlingsprov från varje bigård och odlats för bakterien som orsakar amerikansk yngelröta. I de fall där bakterien hittats i samlingsprovet, odlades proverna från samtliga samhällen i den bigården. De samhällen som innehöll stora mängder av bakterien isolerades följande vår, och sattes antingen om på mellanväggar eller hölls under speciell uppsikt i en särskild bigård med eget material ("karantän"). Biodlingen delades dessutom upp i sektorer; en "ren", smittfri sektor och tre sektorer där små mängder bakteriesporer påträffats i enstaka samhällen. Material fick inte föras mellan sektorerna. Tanken var att kunna förebygga kliniska utbrott, men självklart trädde regelverket med bitillsynen in om något samhälle uppvisade kliniska symptom. De samhällen i "karantänbigården" som inte visat kliniska symptom vintrades in på mellanväggar för att minska smittrycket.

Resultat från studien visar att när stora mängder av bakterien påvisas i ett ➤



Från vänster till höger: Sepideh Lamei, Eva Forsgren, Ingemar Fries, Barbara Locke, Joachim de Miranda, Srinivas Thaduri.

► bigårdsprov är det oftast något eller några få samhällen i den bigården som innehåller stora mängder av bakterien. Studien har också visat att andelen bigårdar med högt antal bakteriesporer minskat dramatiskt efter att biodlaren följt det rekommenderade karantänsförfarandet. Studien kommer att redovisas i sin helhet i Bitidningen.

### Honungsbi-specifika mjölksyrabakterier

Vår grupp har fått fortsatta forskningsanslag för att arbeta tillsammans med Alejandra Vasquez och Tobias Olofsson vid Lunds universitet kring en unik samling av nyttiga s.k. mjölksyrabakterier som lever i honungsbin och som verkar ha en viktig roll för deras försvar mot sjukdomar. Detta är det projekt som doktoranden Sepideh Lamei kommer att arbeta med, och som syftar till att studera hur dessa ”nyttiga” bakterier påverkar bins sjukdomar. Hon ska försöka utreda deras roll för binas hälsa och försvar mot sjukdomar som amerikansk yngelröta. Vi vet från vår pågående och tidigare forskning att bins

nyttiga mjölksyrabakterier producerar ämnen som har en antimikrobiell verkan, men vi vet inte hur produktionen går till eller hur bina gynnas av det. Sepideh´s arbete är att ta reda på hur dessa substanser tillverkas och hur produktionen kan triggas genom kontakt med sjukdomsframkallande mikroorganismer. Hon ska också karakterisera och beskriva substanser med antimikrobiell verkan. I fält kommer samspelet mellan binas mjölksyrabakterier och sjukdomar att studeras. Ett preparat bestående av levande mjölksyrabakterier och deras verksamma ämnen kommer att utvärderas för eventuella positiva effekter på binas hälsa. Målet är att utreda om preparatet kan användas i förebyggande syfte med avseende på en långsiktig påverkan på sjukdomsframkallande mikroorganismer i bisamhällen. Projektet är tvärvetenskapligt och delas i två huvuddelar; en på mjölksyrabakteriernas verkningsmekanismer, vilket kommer att utföras vid Lunds universitet. En andra del syftar till att undersöka samspelet mellan sjukdomsframkallande mikroorganismer och mjölksyrabakterier i bisamhällen i fält. Det arbetet utförs vid

SLU och i samarbete med biodlare.

### Virus

Vi har, tillsammans med kollegor från USA och Frankrike, karakteriserat ytterligare två virusarter hos honungsbin. En av arterna, *Apis mellifera filamentous virus* (AmFV), är en gammal ”kändis” från tidigare forskning i 1970-talet, och liknar virus av typen Baculovirus. Olika Baculovirusarter är ganska vanliga hos insekter och används ibland vid bekämpning av skadegörare. AmFV är ganska vanligt förekommande, även i Sverige, men utan märkbar effekt på vare sig individ eller samhällsnivå. Detta virus verkar inte överföras av varroakvalstret.

Det andra viruset kallas *Bee Macula-like virus* (BeeMLV) och misstänks att vara ett virus som är nytt för bin, men tidigare funnits hos något annat värdjur. Vårifrån det kommer är dock oklart. Viruset är förknippat med varroa-förekomst, och har hittats i stor utsträckning i Frankrike, Belgien och USA, men ännu inte i Skandinavien eller Storbritannien. Infektionen leder inte till några sjukdomssymptom,

beteendeförändringar eller förluster, så slutsatsen för är att BeeMLV förmodligen inte har någon betydelse för biodlingen.

Slutligen har vi genom experiment kunnat visa att vissa varianter av Deformed wing virus (DWV), som bara förekommer tidigt i puppornas utveckling, kan förknippas med deformerade vingar hos vuxna bin. Vingarna bildas tidigt i puppstadiet och det är den speciella varianten av viruset som påverkar vingutvecklingen och senare ger upphov till förkrympta vingar hos de vuxna bina. Hos vuxna bin har dessa tidiga varianter av DWV försvunnit.

### Effekter på virusinfektioner efter varroabekämpning

Behandling med acaricider (kemiska medel som dödar kvalster) som exempelvis Apistan är fortfarande en av de mest effektiva behandlingarna för kontroll av varroa. Det har dock på senare tid publicerats rapporter om negativa effekter av behandlingen. Vår tidigare forskning har visat en eventuell negativ hälsoeffekt på bin efter behandling med tau-fluvalinat (den aktiva kemikalien i Apistan); ett i Sverige registrerat läkemedel för varroa. Resultat från den studien visade en omedelbar, mätbar effekt efter behandlingen; en markant ökning av mängden DWV. Mängderna Black queen cell virus (BQCV) och säckyngel, Sacbrood virus (SBV), två andra virusarter som är vanligt förekommande i svenska bisamhällen ökade också initialt, fastän i mindre grad. Efter ett tag minskade mängden DWV gradvis, förmodligen på grund av att virusöverföring via kvalstret avtog när mängden varroa minskade. Svårigheterna med den studien var att kunna skilja på de två faktorer som samtidigt kan påverka mängden virus, nämligen överföringen via kvalstret och eventuellt den kemiska behandlingen i sig själv.

Det nya, uppföljande studien har syftat till att fylla dessa informationsluckor genom att testa effekterna av Apistan och två andra vanliga varroabekämpningsmedel (myrsyra och oxalsyra) i varroafria samhällen infekterade med kontrollerade mängder av DWV, BQCV och säckyngel (SBV). Fyra grupper om 4 samhällen vardera (samtliga fria från varroa, men infekterade med DWV) har behandlats med antingen fluvalinat-remisor (Apistan),

myrsyra, oxalsyra eller ingen behandling (kontrollgrupp). Samhällena har under säsongen provtagits och analyserats med avseende på DWV, BQCV och SBV. Mängden virus i öppet yngel, täckt yngel samt vuxna bin har på detta sätt kunna följas under och efter behandling.

Effekter från Apistan på nivåerna av DWV har inte kunnat styrkas, men däremot har en ökning av mängden BQCV samt SBV efter Apistan-behandling återigen observerats i vuxna bin. När det gäller myrsyrabehandling ser man en tillfällig ökning av mängden BQCV, men ingen ökning av SBV eller DWV. Oxalsyrabehandlingen visar ingen effekt på virusnivåerna. En mer detaljerad sammanställning av projektet kommer att publiceras i Bitidningen.

### Bondbin

Det så kallade "Bondprojektet" fortsätter med syftet att bevara de bin som uppvisat resistensmekanismer mot varroa-kvalster. Dessa bin används också till många olika forskningsprojekt med syftet att undersöka mekanismerna bakom resistensfenomenet. Här beskrivs några av de projekt som pågår för närvarande. Vi försöker samtidigt att hitta sätt att göra dessa resistenta bin mer praktiskt användbara i biodlingen.

Via det nationella honungsprogrammet fick vi 2014/15 medel för att inleda ett samarbete med Bert Thrybom för att dels undersöka varroa-resistens hos de VSH-bin (Varroa Sensitive Hygiene) han förfogar över, men också för att undersöka hur Bond-bin och VSH-bin i kombination klarar sig mot varroa-kvalster.

Syftet med Barbara Lockes projekt (som finansieras av forskningsrådet Formas), är att försöka förstå de mekanismer som gör att varroa-kvalstret förökar sig sämre i Bond-bisamhällen. En mängd varierande experiment pågår där man med olika infallsvinklar jämför dessa populationer av bin med andra, "kvalsterkänsliga" bin. Bland annat görs försök för att undersöka om de lättflyktiga organiska föreningar som angripna puppor utsöndrar kan hämma eller fördröja kvalstrets äggläggning. En annan väg för att undersöka egenskaperna hos dessa bin är att testa dem för VSH-beteende, analysera ärftligheten hos denna egenskap och undersöka dess potential för avel.

Det pågår även diverse genetiska analyser av Bond-bina i samarbete med Matthew Webster från Uppsala Universitet. Han har kartlagt hela deras genom både före och efter den naturliga urvalsfasen (den period då kvalsterresistens selekterades fram) av experimentet. Skillnader i genomet före och efter kan kopplas till olika aspekter av resistensen, och kan förhoppningsvis användas i ett riktat avelsarbete. Vi kommer även att jämföra drottningar från andra europeiska kvalsterresistenta populationer, för att se hur mycket av resistensen som är rent genetisk och hur mycket som är lokal anpassning som inte kan överföras till andra miljöer.

Det doktorandprojekt som Srinivas Thaduri arbetar med rör också Bond-bina. Tidigare studier har visat att det är stora skillnader i dessa bin jämfört med andra när det gäller mängden patogener, särskilt i slutet av säsongen. Det är ju då som vinterbina (vars hälsa har stor betydelse för en lyckad övervintring) utvecklas. Projektet undersöker om sammansättningen av patogener och andra mikroorganismer hos bina påverkar livslängden hos det enskilda biet och leder till att resistenta samhällen överlever vintern medan de icke-resistenta dör. Man kommer också att undersöka vilka genetiska faktorer som är inblandade i samspelet mellan sammansättning av mikroorganismer och genetiska förändringar.

### Neonikotinoider

I ett fältförsök med vårraps som gjordes sommaren 2013 i samarbete med Sveriges frö- och oljeväxtodlare, biodlarorganisationerna och forskare från SLU och Lunds universitet visade det sig att humlor och solitära, "vilda" bin far illa av växtskyddsmedel av typen neonikotinoider. Det har däremot inte i försöket gått att belägga några mätbara effekter på samhällsnivå (populationsutveckling, yngelsättning, mängd bin etc.) av medlen på honungsbin. Studien har publicerats i den högt rankade vetenskapliga tidskriften "Nature", och en sammanfattning på svenska finns att läsa i Bitidningen för juni 2015.

I mastersstudenten Julia Goss' arbete har prover av bin från experimentet också analyserats med avseende på skillnader mellan de bin som utsatts för drag från klotianidin-betat eller från obetat ➤



► rapsutsäde i mängd/förekomst av varroakvalster, nosema och olika sorts virus, som indirekt mått av binas immunkompetens, men inga sådana skillnader kunde påvisas. Analys av sjukdomsförekomst hos de insamlade humlorna från experimentet pågår också, och fler undersökningar av insamlat material från experimentet är planerat.

Att vi valt att undersöka effekten av neonikotinoider på binas patogener eller sjukdomsalstrare är inte slump; samtliga tidigare laboratorieförsök har visat att om man matar bin med låga, icke-dödliga mängder av neonikotinoider ökar dödlighet på grund av patogener. Den effekten kunde man dock bara observera i samband med ganska höga mängder virus (BQCV) och/eller nosema. Redan sjuka bin påverkas alltså betydligt mer av neonikotinoider än friska bin.

## DIAGNOSVERKSAMHETEN

Under år 2014 inkom 355 prover från bitillsynen varav lite mer än en tredjedel bestod av biprover för odling av bakterien som orsakar amerikansk yngelröta, AFB, detta efter att ett utbrott av AFB på Gotland upptäckts på sensommaren 2014. Att ta biprover för odling ingår normalt sett inte inom ramen för bitillsynen, men i detta fall tog Stockholms länsstyrelse (har ansvar för bitillsynen på Gotland) beslut om att provta samtliga bigårdar som kommit i kontakt med den först smittade bigården för att snabbt få en överblick på var smittan fanns. En beskrivning av utbrottet av AFB på Gotland och hur prover av vuxna bin användes för att spåra sjuka bisamhällen finns i Bitidningens januari-februari nummer 2015.

Referenslaboratoriet i Frankrike (EURL) anordnar regelbundet kurser för att höja kunskap och beredskap hos de nationella laboratorierna, och Eva Forsgren har genomgått träning för att kunna identifiera de i Europa anmälningspliktiga *Tropilaelaps*-kvalstret (*Tropilaelaps* spp), lilla kupskalbaggen (*Aetina thumida*) och Sammetsgetingen (*Vespa velutina*). Emilia Semberg har gått kurs i ISO-standard 17025 inför laboratoriets ansökan om ackreditering.

## UNDERVISNING

### Utbildning på forskar- och masternivå

Under 2014 blev två nya doktorander

(Sepideh Lamei och Srinivas Thaduri) antagna till forskarutbildningen i vår grupp som beskrivits tidigare i texten.

Vi har också haft två mastersstudenter, Julia Goss och Dimitry Wintermantel, som arbetat med prov från neonikotinoid-experimentet som beskrivits tidigare i texten.

## Grundutbildning

Våren 2014 och våren 2015 gavs den årliga grundkursen "Bin, biodling och pollinering" vid institutionen för ekologi. Kursen motsvarar 7,5 högskolepoäng poäng pågår i 5 veckor heltid (hela maj och in i juni) och ges på engelska, då flera utbytesstudenter från olika länder varje år väljer att gå kursen. Det var 21 respektive 14 som deltog i kurserna som gav 2014-15. Första halvan av kursen innehåller en del som ägnas åt vilda bin, humlor och pollinering, med mycket exkursioner och artkunskap. Andra delen av kursen ägnas uteslutande åt honungsbin och biodling. Bikursen kommer även att hållas under våren 2016.

En inspirerande berättelse från kursen skriven av en av eleverna kan man hitta i Gadden nr 3, 2015, sidorna 24-25.

## Publicering 2014/15

Blanchard P, Guillot S, Antúnez K, Köglberger H, Kryger P, de Miranda JR, Franco S, Chauzat M-P, Thiéry R, Ribière M (2014) Development and validation of a real-time two-step RT-qPCR TaqMan<sup>®</sup> assay for quantitation of Sacbrood virus (SBV) and its application to a field survey of symptomatic honey bee colonies. *Journal of Virological Methods* 197, 7-13

Bommarco, R, Fries, I (2014). Flyger en osäker framtid till mötes. *Biodiversa* 19(1), 5

Doublet V, Labarussias M, de Miranda JR, Moritz RFA, Paxton RJ (2014) Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental Microbiology* 17, 969-983

Erler S, Denner A, Bobiş O, Forsgren E, Moritz R F A (2014). Diversity of honey stores and their impact on pathogenic bacteria of the honeybee (*Apis mellifera*). *Ecology and Evolution* 4 (20), 3960-3967

Forsgren E, Laugen AT (2014) Prognostic value of using bee and hive debris samples for the detection of American

foulbrood disease in honey bee colonies. *Apidologie* 45, 10-20

Forsgren E, Shi W, Ding G, Liu Z, Van Tran T, Thi Tang P, Anh Truong T, Quyet Dinh T, Fries I (2015). Preliminary observations on possible pathogen spillover from *Apis mellifera* to *Apis cerana*. *Apidologie* 46, (3) 265-275

Fries, I (2014). Varroakvalstret; det största hotet mot honungsbiet. *Biodiversa* 19(1), 8-9

Fries, I (2014). Microsporidia, Honey bees and Colony Collapse Disorder. In: *Microsporidia: Pathogens of opportunity* (Eds. Weiss, L.M., Becnel, J.J.). Wiley Blackwell, Ames, Iowa, USA, 571-577

Fries, I (2014). Microsporidia. In: *Bee health and veterinarians*. (Ed. Ritter, W.). OIE, Paris, France. 125-129.

Fries, I (2015). Svensk studie visar att vilda bin far illa av växtskyddsmedel. *Bitidningen* 6, 6-10

Fries, I (2015). Ekosystemtjänster och neonikotinoider. *Gadden* 2, 4-5

Fries, I (2015). Oberoende rapport visar på risker med neonikotinoider. *Bitidningen* maj, 10-11

Fries I, Bommarco R, Rundlöf M, Smith H, Rahbek-Pedersen T (2015) Svensk studie visar att vilda bin far illa av växtskyddsmedel. *Bitidningen* 6, 6-10

Fries I, Kristiansen P (2015). Bitillsyn med nya möjligheter. *Bitidningen* 114, 1/2, 8-9

Gauthier L, Cornman S, Hartmann U, Cousserans F, Evans JD, de Miranda JR, Neumann P (2015) The *Apis mellifera* filamentous virus genome. *Viruses* 7, 3798-3815

Hartmann U, Forsgren E, Charrière J-D, Neumann P, Gauthier L (2015). Dynamics of *Apis mellifera* filamentous virus (AmFV) infections in honey bees and relationships with other parasites. *Viruses* 7, 2654-2667

Lattorff, H M G, Buchholz, J, Fries, I, Moritz, R F A (2015). A selective sweep in a *Varroa destructor* resistant honeybee (*Apis mellifera*) population. *Infection Genetics and Evolution* 31, 169-176

Locke B, Forsgren E, de Miranda J (2014). Virus infection dynamics in *Varroa destructor* mite-resistant honeybees (*Apis mellifera*) suggest an additional tolerance and resistance to viruses. *PLoS One* 9 (6) e99998

de Miranda JR, Cornman RS, Evans JD, Semberg E, Haddad N, Neumann P,



*Bisamhällen vid SLU.*

*Foto: Barbara Locke*

Gauthier L (2015) Genome characterization, prevalence and distribution of a Macula-like virus from *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Viruses* 7, 3586-3602

Meeus I, de Miranda JR, de Graaf DC, Wäckers F, Smaghe G (2014) Effect of oral infection with Kashmir bee virus and Israeli acute paralysis virus on bumblebee (*Bombus terrestris*) reproductive success. *Journal of Invertebrate Pathology* 121, 64-69

Mondet F, de Miranda JR, Kretsch-

mar 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-Pathogens* 10, e1004323

Niu J, Cappelle K, de Miranda JR, Smaghe G, Meeus I (2014) Analysis of reference gene stability after Israeli acute paralysis virus infection in bumblebees *Bombus terrestris*. *Journal of Invertebrate Pathology* 115, 76-79.

Retschnig G, Williams GR, Mehmman MM, Yañez O, de Miranda JR, Neumann P (2014) Sex-specific differences in pathogen susceptibility in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS-ONE* 9(1), e85261

Rundlöf M, Andersson G K S, Bommarco R, Fries I, Hederström V, Herbertsson L, Jonsson O, Klatt B K, Pedersen T R, Yourstone J, Smith H G (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affect wild bees. *Nature Letter*, doi:10.1038/nature14420