

Verksamhet med bin vid SLU 2013

INGEMAR FRIES, EVA FORSGREN, JOACHIM DE MIRANDA, BARBARA LOCKE

Ekologiska institutionen, SLU

Under 2013 har SLUs bigård vid Hammarby avvecklats då marken skall säljas. Bigårds-huset, som var en relativt enkel byggnad uppfördes för ändamålet 1965 och var i stort behov av omfattande reparationer. Som ersättning har den praktiska delen av biverksamheten fått en egen byggnad mitt på Ultunas campus, med en fin placering i anslutning till den nyanlagda kunskapsparken.

Byggnaden invigdes för sitt nya ändamål med ett Öppet hus den 4:e juni med demonstrationer av bisamhällen, mjödprovning och fiol samt nyckelharpspel av det nybildade spelmannslaget Bidraget. De bisamhällen vi använder kan vi numera inte ha i direkt anslutning till bihuset eftersom allmänheten har tillträde till trädgården. Istället har vi för närvarande en bigård vid institutionsbyggnaden och labbet och en bigård på lite längre avstånd, men fortfarande på universitetets mark.

Delar av året har bemanningen på SLU varit reducerad då Barbara Locke varit stationerad i Avignon för fortsatta studier av resistensmekanismer mot varroakvalster och Eva Forsgren under ett år arbetar i USA (University of Maryland). Uppgiften där är att bygga upp och harmonisera amerikanska laboratoriesystem för storskalig analys av bisjukdomar, framför allt virusdiagnostik. I september 2014 återkommer Eva till SLU.

Glädjande nog hade SLU framgång vid 2013 års utlysning av forskningsanslag från forskningsrådet Formas. Vi har fått fortsatta anslag för att arbeta tillsammans med Alejandra Vasquez och Tobias Olofsson vid Lunds universitet kring bihälsa och symbiotiska bakterier knutna till honungsbiet. Vi har också fått finansiering

för att undersöka om livslängden hos vinterbin och om den totala mikrobsammansättningen har betydelse för resistens mot varroakvalster. I båda projekten rekryterar vi en ny doktorand till verksamheten. Vår grupp kommer då att växa till sammanlagt 8 personer. Dessutom har Matt Webster vid Uppsala universitet, som vi samarbetar med, fått ett Formasanslag för att fortsätta sina genetiska studier av honungsbiet.

FORSKNING

Amerikansk yngelröta

Sedan många år tillbaka har SLU forskat kring diagnosmetoder och spridningsvägar för amerikansk yngelröta. Vi har optimerat odlingsmetoderna och förbättrat provtagningstekniken för att kunna påvisa smitta utan att det finns kliniskt sjuka samhällen. Under 2013 inledde vi ett samarbete med finansiellt stöd från Jordbruksverket (NP) med en yrkesbiodlare där amerikansk yngelröta påträffats, för att se om vi med de diagnosmetoder vi har kan hjälpa odlaren komma till rätta med problemen. Uppläggget går ut på att ta prover på vuxna bin från samtliga samhällen i biodlingen. På labbet konstruerar vi ett samlingsprov från varje bigård och odlar de proverna för bakterien som orsakar amerikansk yngelröta. Påträffas bakterien i mer än enstaka kolonier på odlingsplattorna odlas proverna från samtliga samhällen i den bigården. De samhällen som har höga tal isoleras följande vår och sätts antingen om på mellanväggar eller hålls under speciell uppsikt i en särskild bigård med eget material.

Biodlingen har också delats upp i sektorer; en "ren", smittfri sektor och tre sektorer där sporer påträffas i enstaka samhällen. Material skall inte föras mellan sektorerna. Genom övervakningen är tanken att förebygga kliniska utbrott och om sådana ändå uppträder träder regelverket med bitillsynen in. Sannolikheten att samhällen insjuknar och uppvisar kliniska symptom är störst i den isolerade

bigård dit samhällen med höga sportal förts. Avsikten är att dessa samhällen (om de inte visar kliniska symptom) sedan vintras in på mellanväggar för att minska smittrycket.

Det har redan visat sig att när det är hög sporförekomst i ett bigårdsprov är det oftast något enstaka eller få samhällen i den bigården som har höga värden. Det har också redan visat sig att andel bigårdar där smitta kan påvisas drastiskt har reducerats efter bara en säsong. Försöket fortsätter under 2014 och kommer att redovisas i sin helhet i Bitidningen.

Neonikotinoider

Under fältsäsongen 2013 har SLU medverkat i ett stort projekt som handlar om betningsmedel (neonikotinoider) och pollinerare, och som drivs från universitetet i Lund med Maj Rundlöf som projektledare. Jordbruksverket har ordnat med finansieringen via Myndigheten för samhällsskydd och beredskap.

I projektet har man sått 16 olika fält med våroljeväxter och parat dessa i landskapet så att det i varje par finns ett betat och ett obetat fält. I det aktuella fallet betades det med klotianidin, ett mycket giftigt preparat som i små mängder kan påträffas i pollen och nektar. Vid varje fält placerades 6 stycken avläggare med systerdrottningar inom samma par, totalt 96 samhällen, alla tillverkade av Bengt Andréasson. Fälten inom paren var utom flygavstånd för bina vid respektive fält (>4km) och i de allra flesta fall fanns inte heller andra våroljeväxter inom flygavstånd.

Prover har tagits på bina innan de placerats ut vid försöksfälten samt vid intringen. Dessa prover analyseras sedan dels för bekämpningsmedel, dels för sjukdomar och parasiter. Det är analysdelen av projektet som sker på SLU, bl.a. med ett mastersarbete när det gäller eventuell påverkan av exponering från klotianidin på sjukdomsförekomst. Under säsongen så följdes samtliga samhällens utveckling med mätningar av bistryka och yng-



Det nya bibuset har en prominent placering mitt på campus invid den nyanlagda Kunskapsparken. Foto: I. Fries.

elmängd med hjälp av fältassistenter Tomas Carling och Albin Andersson.

Data är under bearbetning och kommer att redovisas på svenska efter att publicering skett internationellt. Klart är emellertid redan att försöksupplägget lyckats i den meningen att vid samtliga betade fält var halten klotianidin i bin, pollen och nektar relativt hög och vid obetade fält fanns ingen klotianidin eller bara mycket små mängder.

Effekter på virusinfektioner efter varroabekämpning

Det har förekommit rapporter både i populär och vetenskaplig litteratur om negativa effekter av Apistanbehandling, men där inte resistens upptått hos kvalstren är sådan behandling fortfarande den mest effektiva för varroakontroll. Vår grupp vid SLU kunde nyligen visa på en sannolik negativ effekt på bins hälsa efter behandling med Apistan. Den omedelbara effekten efter behandlingen var en signifikant ökning av mängden deformed wing virus (DWV), ett virus som sprids med varroakvalstret. Mängderna av black queen cell virus (BQCV) och säckyngelvirus (SBV), två andra virustyper som är vanligt förekommande i svenska bisamhällen ökade också initialt, fastän i mindre grad. Ett pågående projekt (med finansiellt stöd

av Jordbruksverket) syftar till att testa effekterna av två andra vanliga varroabekämpningsmedel (myrsyra samt oxalsyra) i varroafria samhällen infekterade med kontrollerade mängder av DWV, BQCV och säckyngel (SBV). Fältdelen av projektet är avslutat och sammanställning av resultaten pågår och kommer under året att redovisas i sin helhet i Bitidningen.

Bondprojektet

Vi fortsätter att med hjälp av Åke Lyberg hålla liv i de s.k. Bondbina. Efter en dålig övervintring 2012/2013 var vi tvungna att föra till samhällen med reservdrottningar av rätt härstamning och med rätt parning till platsen längst ut på Näsudden där Bondbina numera finns, för att upprätthålla numerären på omkring 15 samhällen. Det är en för bina extrem plats där större delen av dragområdet utgörs av bräckt vatten. Och eftersom en gigantisk landbaserad vindkraftspark förlagts till Näsudden är det minst sagt blåsigt.

Bondprojektet fortsätter för att bevara bin som uppvisat resistensmekanismer mot varroakvalster, samtidigt som vi försöker finna metoder för urval av resistens som är praktiskt genomförbara för biodlare. Tyvärr visade det sig under 2013 att försöken att mäta kvalstertillväxt inom samma säsong genom att ta prover på

levande bin har svårt att fungera i praktiken, främst därför att det ofta inte finns tillräckligt med kvalster vid första mätfallet. Och finns tillräckligt med kvalster löper samhället risk att ta skada till invintringen. Vi undersöker nu om tillväxttakten kan mätas från en säsong till nästa med en mellanliggande bekämpning, för att inte få skador på bina.

Via det nationella honungsprogrammet fick vi möjlighet 2013 att inleda samarbete med Bert Thrybom för att 2014 dels undersöka varroaresistens hos de VSH-bin (Varroa Sensitive Hygiene) han förfogar över, dels undersöka hur Bondbin och VSH-bin i kombination klarar sig mot varroakvalster.

Det är klart att virusinfektioner är en viktig del av problemen med *Varroa* för biodlingen i sin helhet. Men hur är det med bin som uppvisar viss resistens mot varroakvalster? Är de också mer resistent eller toleranta mot virusinfektioner? Svaret ser ut att vara 'ja', men på oväntat sätt. Studier som snart publiceras visar på en stor skillnad mellan *Varroa*-resistenta 'Bond' bin och icke-resistenta bin vad gäller nivåerna av SBV och BQCV virus, men då bara mot slutet av säsongen. Under sommaren fanns nästan ingen skillnad i infektionsnivå men mot hösten blev skillnaderna dramatiska. Märkligt nog fanns ingen skillnad

över någon del av säsongen på nivåerna av DWV, det mest skadliga virus som överförs av kvalstret, och som är direkt ansvarig för vinterförluster på grund av höga kvalsterangrepp. Vi tror att det inte är en tillfällighet att skillnader i virusmängd dyker upp på hösten. Det är då de långlivade vinterbina produceras, vars främsta uppgift är att överleva vintern och få igång samhället igen följande vår. Den idén ska undersökas i ett nytt projekt om huruvida livslängden av (vinter) bin är en del av överlevnaden hos 'Bond' bin, och hur överlevnaden eventuellt påverkas av den mikrobiella sammansättningen i bina, inklusive patogener. Binas genuttryck kommer också att analyseras för att identifiera bigener knutna till binas livslängd och mikrobiella infektioner, och kommer att kopplas till genetiska studier av den gotländska bipopulation före och efter angrepp av *Varroa*.

Symbionter och nosema

I tidigare undersökningar har vi visat att de symbiotiska bakterier (LAB) som forskare i Lund identifierat i binas honungsblåsa, motverkar både amerikansk yngelröta och europeisk yngelröta när larver som föds upp på labb får sjukdomsbakterierna med och utan tillsats av LAB. Nu har vi gått vidare för att undersöka om de symbiotiska bakterierna också kan motverka nosemaparasiten. Eftersom det är *Nosema apis* som fortfarande dominerar i svenska bin så är det den parasiten vi arbetat med.

För att producera bin med olika mängd LAB fodrade vi en dag gamla bin med produkten Symbiotic enligt fabrikantens anvisningar, men formulerad med eller utan tillsats av bakterier, till bin från tre olika bisamhällen. Provtagning av

binas honungsblåsor (n=6) före fodringen visade ingen skillnad i mängden LAB. Provtagning efter fodring i fyra dagar visade högsignifikant större mängd LAB när fodret haft tillsatta bakterier

Efter fyra dagar fodrades bin antingen med sockerlösning eller med sockerlösning med tillsats av 1 miljon nosemasporer per ml. Varje bi (36 från varje samhälle) fodrades med 10 mikroliter och fick således 10 000 sporer per bi, en dos som normalt ger infektion i varje bi. Bina fördelades i burar med 12 bin i varje bur, alltså tre burar med bin per samhälle och fick fortsatt samma foder som tidigare. Efter åtta dagar i inkubator (+30 °C) undersöktes mellantarmen hos samtliga bin och sporer räknades i haemocytometer. Försöket i sin helhet upprepades en gång.

Resultaten tyder inte på att nivån på LAB i enskilda bin påverkar om de blir infekterade av nosemaparasiten. Inte heller verkar behandlingen påverka mängden sporer som produceras i enskilda bin (se figur 1).

Det är inte orimligt att stora mängder goda bakterier i binas tarmsystem skulle kunna påverka sjukdomens infektionsförmåga. När nosemasporerna gror är de beroende av rätt kemisk miljö och bakteriernas ämnesomsättning producerar en rad produkter som påverkar den kemiska miljön. Vi kan emellertid inte visa en sådan effekt i laborieförsök. Resultaten skall tolkas med försiktighet vad gäller den verkliga effekten på bisamhällen av att gynna symbionter i bisamhällen eftersom det inte är säkert att det går att överföra laborieförsök på enskilda bin eller larver till effekter på samhällsnivå i fält. Vi kommer i ett nytt projekt tillsammans med

forskarna i Lund undersöka om den naturliga variationen av symbionter på något vis samvarierar med sjukdomsförekomst i bisamhällen och om tillförsel av symbionter i bisamhällen påverkar olika sjukdomsalstrare, inklusive nosema, bakteriesjukdomar och virusinfektioner.

BEE BOOK

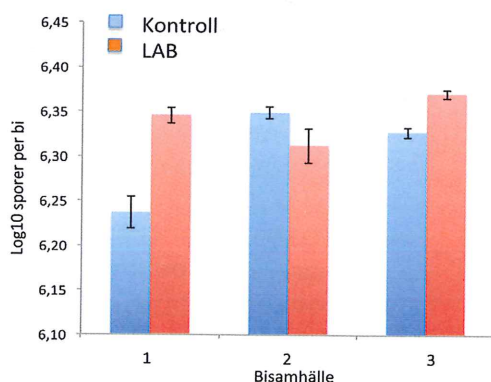
Under 2013 publicerades ett jättearbete, COLOSS BEEBOOK, med tre av SLU's forskare som huvudförfattare för var sitt kapitel, om nosema, virus samt europeisk yngelröta. Dessutom med medverkan i en rad andra kapitel. COLOSS BEEBOOK är en unik satsning som syftar till att standardisera metoder för forskning om honungsbiet. Det är en praktisk handbok där nära 1700 standardmetoder inom alla områden för forskning om honungsbiet (*Apis mellifera*) finns sammanställda. Handboken består av 31 olika fackgranskade kapitel skrivna av 234 ledande forskare från 34 olika länder. Kapitlen beskriver metoder för att studera honungsbiet biologi, metoder för att förstå hur skadedjur och patogener fungerar i bisamhället, och metoder för avel av honungsbin. Projektet är uppdelat i tre volymer: COLOSS BEEBOOK, Volym I: Standardmetoder för forskning kring det europeiska honungsbiet *A. mellifera*, Volym II: Standardmetoder för forskning kring honungsbiet parasiter och patogener; och Volym III: Standardmetoder för forskning kring honungsbiet produkter. Volym I och II har publicerats i två specialnummer av tidskriften av Journal of Apicultural Research som Open Access och finns tillgängliga på nätet:

<http://www.ibra.org.uk/articles/JAR-52-1-2013-BEEBOOK>
<http://www.ibra.org.uk/articles/52-4-2013-BEEBOOK>

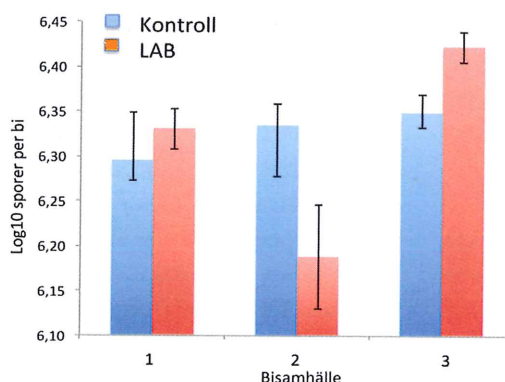
Arbetet illustrerar en oöverträffad grad av internationellt samarbete som nätverket COLOSS har genererat. Resterande volym III om honung och andra produkter kommer att publiceras under 2014.

Redaktörer och författare hoppas att BEEBOOK kommer att fungera som ett referensverktyg för forskning om honungsbiet för forskare över hela världen och arbetet kommer suc-

Experiment I



Experiment II

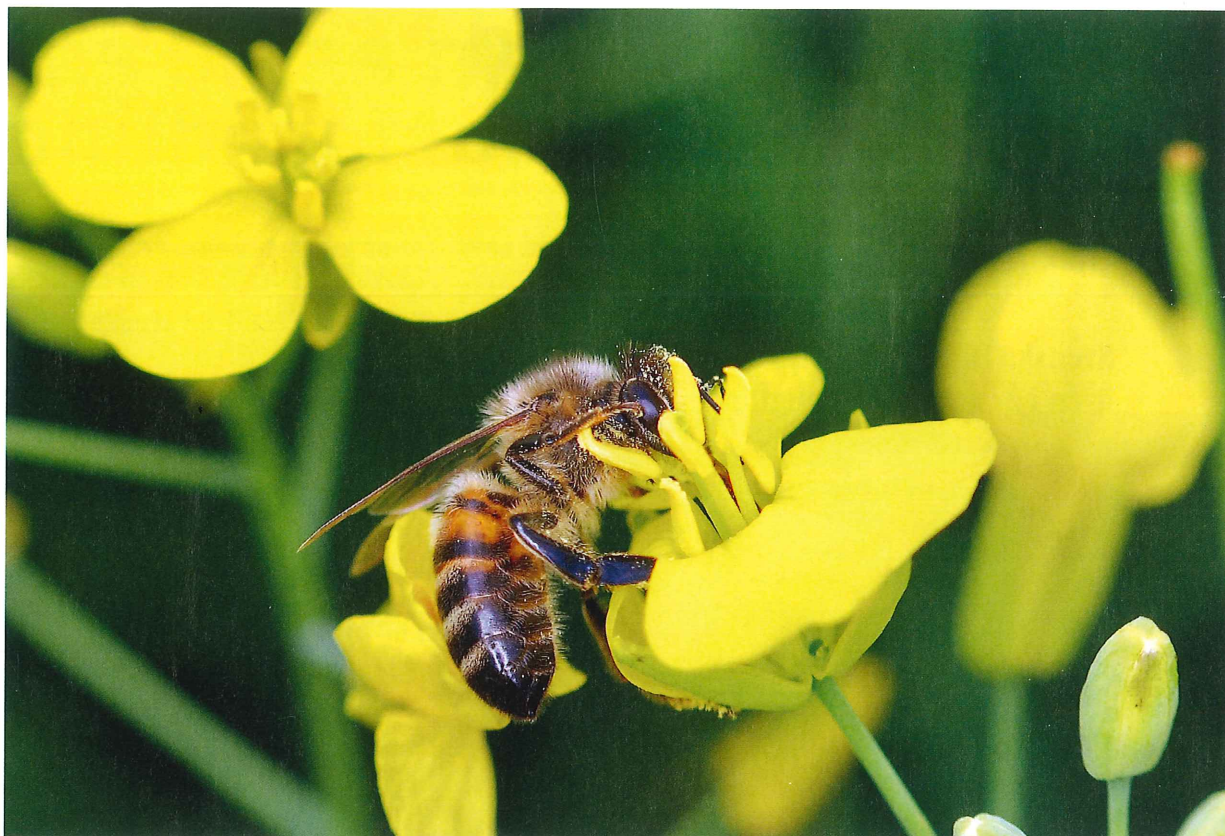


Figur 1. Sporproduktion i enskilda bin över åtta dagar efter fodring med och utan tillsats av symbionter (LAB) i fodret före och efter infektion. Varje stapel representerar medelvärdet i 30 bin från tre olika burar. De vertikala strecken anger medelfelet.

cessivt att uppdateras via nätet för att hela tiden hållas uppdaterat om nya utvecklingar.

DIAGNOS- VERKSAMHET

Under 2013 var antal prov som skickades in för analys ovanligt lågt, totalt 269 prov. Inget av dessa prov avsåg import av drottningar från "icke EU-land". Tre prov avsåg kontroll av följebin vid införsel av drottningar inom EU. Dessa följebin analyserades med avseende på trakekvalster (*Acarapis woodi*) som lyckligtvis ännu inte har påvisats i Sverige.



Bin som flyger på våroljeväxter exponeras för låga halter av bl.a. klotianidin som används för att beta utsädet. Foto: A. Andersson.

UNDERVISNING

Forskarutbildning

Under 2013 hade vi ingen doktorand antagen till forskarutbildningen i vår grupp. Barbara Locke försvarade sin avhandling som handlar om varroakvalster och resistensmekanismer hos honungsbin i september 2012. Under 2014 har vi fått medel till att anställa två doktorander; en med fokus på mjölksyrabakteriers betydelse för bins hälsa samt ytterligare en doktorand med fokus på mikrobiella och genetiska faktorer av betydelse till överlevnad av *Varroa*-resistenta Bondbin.

Grundutbildning

Våren 2013 gavs den årliga grundkursen "Bees apiculture and pollination" vid institutionen för ekologi. Kursen som motsvarar 7,5 högskolepoäng pågår i 5 veckor heltid (hela maj och in i juni), ges på engelska då flera utbytesstudenter varje år väljer att gå kursen. Det var 23 studenter som examinerades 2013. 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 våren 2014 och 2015.

PUBLICERING 2013

För den som är intresserad kan artiklar som har ett DOI nummer laddas ner fritt från nätet genom att söka på detta nummer.

- de Miranda JR, Bailey L, Ball BV, Blanchard P, Budge G, Chejanovsky N, Chen Y-P, Gauthier L, Genersch E, De Graaf D, Ribière M, Ryabov E, De Smet L, van der Steen JJM (2013) Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52(4): DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.22
- Dietemann V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson DL, Locke B, Delaplane KS, Wauquiez Q, Tannahill C, Frey E, Ziegelmann B, Rosenkranz P, Ellis JD (2013) Standard methods for Varroa research. *Journal of Apicultural Research* 52(1): 1-54. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.09
- Evans JD, Schwarz RS, Chen Y-P, Budge G, Cornman RS, De La Rúa P, de Miranda JR, Foret S, Foster L, Gauthier L, Genersch E, Gisder S, Jarosch A, Kucharski R, Lopez D, Lun CM, Moritz RFA, Maleszka R, Muñoz I, Pinto MA (2013) Standard methodologies for molecular research in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52(4): DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.11
- Forsgren E, Budge GE, Charrière J-D, Hornitzky M (2013). Standard methods for European foulbrood research. In: Dietemann V, Ellis JD, Neumann P (Eds) *The COLOSS BEEBOOK, Volume II: standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research*. *Journal of Apicultural Research*, 52(1): <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.12>
- Forsgren, E, Fries, I (2013) Temporal study of *Nosema* spp. in a cold climate. *Envi-*

- ronmental Microbiology Reports* 5, 78-82. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2012.00386.x
- Fries, I, Chauzat, M-P, Chen, Y-P, Doublet, V, Genersch, E, Gisder, S, Higes, M, McMahon, DP, Martín-Hernández, R, Natsopoulou, M, Paxton, RJ, Tanner, G, Webster, TC, Williams, GR (2013) Standard methods for *Nosema* research. *Journal of Apicultural Research* 52(1), DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.14
- Fries I, Kristiansen P (2013) Urval för varroaresistens. *Bitidningen* 112 (jan/feb), 11-14.
- Fries I (2013) Afrikanskt projekt om bihälsa. *Bitidningen* 112 (nov/dec) 12-13.
- Fries I (2013) Förtjänt biodlare får utmärkelse. *Bitidningen* 112 (mars) 11.
- Human, H, Brodschneider, R, Dietemann, V, Dively, G, Ellis, JD, Forsgren, E, Fries, I, Hattjina, F, Hu, F.-L, Jaffe, R, Jensen, AB, Koehler, A, Magyar, JP, Ozkrym, A, Pirk, CWW, Rose, R, Strauss, U, Tanner, G, Tarpy, DR, van der Steen, JJM, Vaudo, A, Vejsnaes, F, Wilde, J, Williams, GR, Zheng, H-Q (2013) Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research* 52, DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.10
- Locke B., Fries I. (2013) Bondprojektet. *Bitidningen* 112 (mars) 8-11.
- Pirk CWW, de Miranda JR, Kramer M, Murray T, Nazzi F, Shutler D, van der Steen JJM, van Dooremalen C (2013) Statistical guidelines for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research* 52(4). DOI: 10.3896/IBRA.1.52.4.13
- Stevanovic, J, Simeunovic, P, Gajic, B, Lacic, N, Radovic, D, Fries, I, Stanimirovic, Z (2013) Characteristics of *Nosema ceranae* infection in Serbian honey bee colonies. *Apidologie* 44, 522-536.
- Williams, GR, Alaux, C, Costa, C, Csaki, T, Doublet, V, Eisenhardt, D, Fries, I, Kuhn, R, McMahon, DP, Medrzycki, P, Murray, TE, Natsopoulou, ME, Neumann, P, Oliver, R, Paxton, RJ, Pernal, SF, Shutler, D, Tanner, G, van der Steen, JJM and Brodschneider, R (2013) Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research* 52, DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.04