

Waarom de bijen sterven: een vergeten oorzaak

Mike Allsopp werkte al als bijenonderzoeker bij het *Plant Protection Research Institute of Agricultural Research Council* in Stellenbosch, Zuid-Afrika, aan het lastige probleem van de parasitaire *capensis* werksters. Toen werd, in 1997, de Varroamijt voor het eerst in Zuid-Afrika vastgesteld (Allsopp, 2001). Hij besloot om zijn aandacht te richten op de nieuwe plaag en de verspreiding van de mijt te onderzoeken als onderwerp voor zijn Master's Degree (Allsopp, 2006). Daardoor hebben we nu gedetailleerde kennis over de eerste jaren van de *Varroa*-invasie in Zuid-Afrika. De Varroamijt verspreidde zich snel en bereikte hoge dichtheden, tot wel 50.000 mijten per volk, maar al na enkele jaren nam de infectiegraad snel af totdat, na 3 tot 5 jaar voor *A.m.capensis* en 5 tot 7 jaar voor *A.m. scutellata*, de Varroa in Allsopp's woorden "*niet meer dan een arbitraire aanwezigheid*" was. De hoge infectiegraad met de mijten, zonder dat dit vaak tot sterfte van een volk leidde en later onderzoek naar het Deformed Wing Virus (Souza et al.2020) , laten zien dat de bijen in Zuid Afrika al snel resistentie tegen het DW-virus hadden ontwikkeld. Minder goed gedocumenteerd, maar op dezelfde manier verliep de kolonisatie van Varroa in Zuid Amerika (van Alphen & Fernhout, 2020).

Noordelijk Halfrond

In schril contrast daarmee staat de situatie in West-Europa en Noord-Amerika, waar de Varroamijt en de ermee geassocieerde virussen na meer dan veertig jaar nog altijd grote sterfte veroorzaakt onder de bijen, ondanks de behandeling met chemische middelen. Dit roept de vraag op waarom natuurlijke selectie het probleem wel snel oploste in Zuid-Afrika en Zuid-Amerika, maar niet op het Noordelijke halfrond. Aanvankelijk dacht ik dat het antwoord op deze vraag nogal triviaal was. Immers, zowel in Zuid-Afrika als in Zuid-Amerika zijn hoge dichtheden van in het wild levende honingbijen en gehouden bijen worden er niet zo intensief gemanaged als in het Noorden. Bijna alle ingrepen van bijenhouders in bijenvolken remmen of voorkomen de natuurlijke selectie. Bovendien zijn er in Europa en in grote delen van Noord-Amerika veel minder in het wild levende bijenvolken. Deze verschillen tussen het zuidelijk en het noordelijk halfrond zouden de verschillen in de evolutie van resistentie tegen Varroa kunnen verklaren.

Het mysterie van de verdwenen allelen

Toch blijkt dat niet het hele verhaal te zijn. De Zweedse onderzoeker Ingmar Fries (2003, 2006) besloot om in een groot experiment de vraag te onderzoeken of natuurlijke selectie zou leiden tot resistentie tegen Varroa en tegen de geassocieerde virussen wanneer imkers niet langer ingrepen in het lot van bijenvolken. Hij verzamelde 150 bijenvolken, zowel Buckfast, ligustica en carnica om een zo groot mogelijke diversiteit te garanderen en plaatste ze op een geïsoleerd schiereiland aan de zuidkant van Gotland. De volken werden vervolgens met Varroa geïnfecteerd en verder grotendeels aan hun lot overgelaten. De resultaten van het experiment waren spectaculair maar onverwacht. In de 4 jaar die het experiment duurde werden er 38 zwermen geproduceerd. Maar de mortaliteit was zo groot dat er uiteindelijk maar 13 volken overbleven. De grote sterfte en de constatering dat ook in de overgebleven volken geen allelen voor Varroa specifiek hygiënisch gedrag (VHS) aanwezig waren doet vermoeden dat deze allelen ook niet voorkwamen in de populaties waaruit de 150 volken afkomstig waren. De 13 volken bleken ernstig te zijn ingeteeld en bleven klein. Ze waren niet

resistent tegen Varroa, maar wel Varroa tolerant, althans in het korte Zweedse seizoen. De volken bleken wel resistent tegen het DW-virus.

In de ruim 40 jaren dat Varroa in West-Europa voorkomt is resistentie tegen het DW-virus behalve in het Gotlandexperiment nog maar een keer elders gevonden: in België (). Ook de allelen voor DW-virusresistentie zijn dus extreem zeldzaam in gehouden bijen. De afwezigheid of, in ieder geval de extreme zeldzaamheid van zulke allelen maakt de evolutie van resistentie tegen Varroa door natuurlijke selectie in Europa erg moeilijk, zoals het experiment van Fries laat zien.

De inheemse zwarte honingbij, die door zijn langdurige impopulariteit minder heeft blootgestaan aan selectie door bijentelers lijkt er iets beter voor te staan. Aan het begin van een selectieprogramma voor Varroa-resistentie van de bijen van de Mellifica-groep rond Chimay, België, toonden 18 van de 32 volken geen enkel teken van resistentie. Van de 14 andere volken hadden de meeste een hoge VSH-expressie. Daarom is het aantal volken zonder VSH-expressie te groot voor een polygeen bepaalde eigenschap zoals VSH. Dat wil zeggen dat ook in sommige zwarte bijenpopulaties de allelen voor resistentie zijn verdwenen. Dit artikel legt uit waardoor de resistentieallelen uit de honingbijenpopulaties in Europa (en waarschijnlijk ook in Noord-Amerika) zijn verdwenen. Daarvoor kijken we eerst naar de wapens die bijen door natuurlijke selectie hebben ontwikkeld tegen infectieziekten

Hoe bijen zich verdedigen tegen infectieziekten

Door hun sociale levenswijze zijn honingbijen kwetsbaarder voor infectieziekten dan veel andere dieren. De hoge nesttemperatuur, de vele contacten tussen bijen in een volk en het frequent uitwisselen van voedsel maken dat pathogenen zich snel in een volk kunnen verspreiden. De eerste verdedigingslinie is die van antibiotische stoffen in plantenharsen die door de bijen zijn verzameld om propolis te maken. Een natuurlijk bijennest is omgeven door een envelop van propolis. Omdat ook in nectar en stuifmeel antibiotische stoffen zitten is dit voedsel tegelijkertijd een medicijnkast. Het belangrijkste wapen van honingbijen en de laatste verdedigingslinie bestaat uit immuunsysteem van de bijen.

Bijen worden aangevallen door een verscheidenheid aan soorten van bacteriën, schimmels, microsporidia en virussen. Ieder van die soorten heeft een korte generatietijd en populaties die vele malen groter zijn dan die van de bijen. Ze produceren daardoor vaak nieuwe mutanten, waarvan een deel de bestaande immuun-responsen kunnen doorbreken. De vraag is daarom hoe bijen zich kunnen wapenen tegen nieuwe varianten van pathogenen.

De twee belangrijke wapens van honingbijen in de evolutie van resistentie

Honingbijen kunnen zich tegen nieuwe pathogenen verdedigen doordat ze deel uit maken van een hele grote populatie, die een reservoir vormt van, vaak zeldzame, erfelijke varianten. Hieronder wordt beschreven hoe de bijen die zeldzame erfelijke varianten kunnen rekruteren. Bovendien hebben honingbijen een heel efficiënte methode om zulke varianten te combineren met andere genen in nieuwe resistente genotypen.

Het paringsgedrag

Natuurlijke selectie heeft het paringsgedrag gedrag van bijen gevormd. Darren en koninginnen ontmoeten elkaar op darrenverzamelplaatsen bij gunstige weersomstandigheden. Emmanuelle Baudry (2018) onderzocht waar de darren op zo'n verzamelplaats vandaan komen. De ontmoetingsplaats die ze onderzocht bleek bevolkt te

zijn door darren afkomstig uit wel 240 verschillende volken en er waren wel 12.000 darren aanwezig. De gebroeders Ruttner (1972) lieten zien dat de darren uit een volk verschillende darrenontmoetingsplaatsen bezoeken. Annette Jensen (2005) toonde aan dat de darren waar een koningin mee paart tot op 15 km van het nest van de koningin kunnen komen. Deze evidentie laat zien dat bijen onder natuurlijke omstandigheden deel uitmaken van een zeer grote *panmictische* populatie (Een panmictische populatie is een populatie waarin elk individu een gelijke kans heeft om te paren met elk ander individu.) In een grote gezonde bijenpopulatie bestaan er van de meeste genen verschillende varianten, *allelen* genaamd. Soms vind je van een gen wel 37 varianten (Hassett et al. 2018). Sommige allelen zijn algemeen, andere komen minder vaak voor of zijn ronduit zeldzaam. In kleine populaties gaan zeldzame allelen vaak door toeval verloren, wanneer ze niet doorgegeven worden aan de volgende generatie. In grote panmictische populaties kunnen zeldzame allelen heel lang behouden blijven. Algemene allelen zijn algemeen geworden door natuurlijke selectie. Ze zijn daarom waarschijnlijk op dit moment belangrijk voor de vitaliteit van de populatie. Allelen worden zeldzaam gedurende een periode dat ze geen selectief voordeel opleveren. Als het gaat om allelen van genen die betrokken zijn bij het immuunsysteem, kan een zeldzaam allel weer belangrijk worden om een nieuw pathogeen te bestrijden.

Het gedrag om met veel mannen te paren heet polyandrie. Bij honingbijen is er sprake van extreme polyandrie: jonge koninginnen paren met wel 10 tot 20 verschillende darren en ze gebruiken het sperma van al die darren om hun eieren mee te bevruchten. Dat zorgt ervoor dat de werksters in een volk de kinderen zijn van veel verschillende vaders en dus verschillen in erfelijke eigenschappen. Dat kan de verspreiding van pathogenen in een volk beperken.

Het maken van nieuwe genotypen

Het tweede wapen dat bijen hebben in de strijd tegen nieuwe pathogenen is het maken van nieuwe genotypen. Dat gebeurt bij de productie van eicellen: cellen met twee sets chromosomen (diploïde cellen) produceren dan de haploïde (met één set chromosomen) eicellen. In dat proces komen de overeenkomstige chromosomen naast elkaar te liggen. Ze breken op bepaalde plaatsen en de brokstukken worden tussen de chromosomen uitgewisseld. Op die manier ontstaan dan nieuwe combinaties van allelen. Het proces heet recombinatie. Het komt voor bij alle organismen die zich seksueel voortplanten, en zelfs bij een aantal organismen die geen seksuele reproductie kennen.

De extreme recombinatie frequentie van honingbijen

Geen enkele diersoort heeft zo'n hoge recombinatiefrequentie als de honingbij. Recombinatie bij honingbijen gebeurt meer dan tien keer zo vaak als bij zoogdieren. Dat roept de vraag op waar die hoge frequentie goed voor is. Het is gebleken dat recombinatie een erfelijk bepaald eigenschap is, die blootstaat aan natuurlijke selectie. Door recombinatie kunnen gunstige allelen van verschillende genen bij elkaar worden gebracht op hetzelfde chromosoom. Omdat het ook kan gebeuren dat een bestaande goede combinatie door recombinatie juist wordt verbroken, bestaat er een optimale recombinatiefrequentie. Akira Sasaki en Yoh Iwasa (1987) onderzochten hoe de optimale recombinatiefrequentie afhangt van de sterkte van de selectie door pathogenen. Ze vonden dat de recombinatiefrequentie toeneemt met een toenemende bedreiging door pathogenen. We kunnen op basis hiervan concluderen dat honingbijen meer dan andere dieren bedreigd worden door pathogenen. En dat is precies wat we verwachtten op basis van hun levenswijze.

Une arme à double tranchant

De panmictische populatiestructuur en de extreem hoge recombinatiefrequentie vormen samen een tweesnijdend zwaard in de strijd van honingbijen tegen nieuwe bacteriële of virusinfecties. Via het paringsgedrag kunnen nieuwe zeldzame allelen gerekruteerd worden, die dan door recombinatie met nuttige allelen van andere genen kunnen worden gecombineerd in nieuwe genotypen. Op die manier kunnen honingbijen compenseren voor de langzamere reproductie en de lagere populatiedichtheid in vergelijking met die van bacteriën en virussen.

De kunstmatige selectie van rasbijen

Nu we weten hoe een natuurlijke populatie van honingbijen resistentie kan ontwikkelen tegen een nieuwe ziekteverwekkers, kunnen we onderzoeken wat er misgaat in de teelt van rasbijen. Door imkers gewenste eigenschappen van een bijenvolk zijn een hogere honingopbrengst, een lagere agressie, rustig gedrag, een verminderde neiging tot zwermen en hygiënisch gedrag zijn allemaal gedragseigenschappen. Gedragseigenschappen worden als regel door veel verschillende genen beïnvloed, ze zijn zogenaamd polygeen. Professionele bijentelers werken vaak met een aantal verschillende selectielijnen, die dan later kunnen worden gecombineerd om zo de erfelijke variatie te waarborgen. Selectie voor gewenste eigenschappen is goed mogelijk. We kennen allemaal wel voorbeelden van zuivere carnica- of Buckfast-volken die aan de gewenste eigenschappen voldoen. Maar de geslaagde selectie heeft een prijs: het gaat ten koste van de weerbaarheid van de geselecteerde bijen tegen nieuwe ziekten.

Het verlies van zeldzame allelen

Selectie voor gewenste eigenschappen is het nemen van een kleine steekproef uit een grote populatie. Om, bijvoorbeeld, de honingopbrengst te verhogen worden koninginnen geteeld van volken die een hogere honingopbrengst hadden dan de andere volken in een populatie. Deze procedure wordt dan herhaald met de volken van de geteelde koninginnen, en dat wordt nog een aantal generaties herhaald. Omdat de allelen van genen niet allemaal even algemeen zijn, is de kans dat een allel wordt meegenomen in de selectie niet voor ieder allel gelijk. Algemene allelen hebben een grotere kans om in de steekproef te komen dan zeldzame allelen. Daardoor verdwijnen de zeldzame allelen bij voortgaande selectie. Dat geldt niet alleen voor de allelen van genen betrokken bij de eigenschappen waarop wordt geselecteerd, maar ook voor de zeldzame allelen van alle andere genen.

Paringsstations

Om de geselecteerde eigenschappen van rasbijen te behouden, is het noodzakelijk dat jonge koninginnen paren met darren van hetzelfde ras. Rasbijen kunnen om die reden geen deel uitmaken van een panmictische populatie. De beperkte grootte van de populatie op het paringsstation maakt dat zeldzame allelen nog steeds door toeval verloren kunnen gaan. Veel van de door bijentelers gebruikte technieken zijn ook kleine steekproeven uit een grotere populatie. Bijvoorbeeld de teelt van de koninginnen uit een klein aantal jonge larfjes die overgeplaatst worden in koninginnencellen, of het gebruik van kunstmatige inseminatie, soms met het zaad van maar een enkele dar. (Inseminaties met het zaad van een dar (SDI, of single drone insemination) worden gebruikt om de erfelijkheid bij honingbijen te

onderzoeken. De techniek is niet bedoeld voor selectie, zoals in Nederland gebeurt bij de Stichting Arista. Het gebruik van de techniek bij selectie leidt tot zeer snel verlies van zeldzame allelen).

Veel rasbijen worden al decennialang op deze manier doorgekweekt. Het resultaat wordt gevormd door bijen die weliswaar de door de imker gewenste eigenschappen hebben, maar die niet langer beschikken over de erfelijke variatie om te kunnen reageren op nieuwe pathogenen of nieuwe varianten van al aanwezige ziekteverwekkers.

Andere kosten en baten van selectie

Toen Anthony Nearman en Dennis van Engelsdorp (2023) een experiment uit de jaren 1970 herhaalden ontdekten tot hun verassing dat de mediane levensduur van honingbijen in de VS sinds de jaren 1970 is afgenomen, van een gemiddelde van 34,3 dagen tot 17,7 dagen. Ze wijten het verschil aan de Varroamijt en de daarmee geassocieerde virussen en aan de negatieve effecten van de chemische bestrijding van Varroa. Er is echter een alternatieve hypothese: dat selectie voor hogere honingproductie geleid heeft tot een sneller metabolisme, waardoor de bijen korter leven. Een sneller metabolisme maakt ook het overleven van de winter moeilijker en zou dus kunnen bijdragen aan de wintersterfte.

De darrenplaag

Als het verdwijnen van de erfelijke variatie die bijen resistent zouden kunnen maken tegen ziekten zich zou beperken tot rasbijen, dan zou de schade nog te overzien zijn. Helaas is het zo dat in West Europa wilde honingbijen erg zeldzaam zijn geworden, zodat die wilde populatie niet meer kan functioneren als een reservoir van erfelijke variatie.

De houders van rasbijen sturen hun ongepaarde koninginnen naar een paringsstation maar laten alle darren die ze produceren gewoon vrij vliegen. Daardoor wordt de inheemse zwarte honingbij bedreigd in haar voortbestaan. De massale invasie van exotische darren die jaar op jaar wordt herhaald hindert bovendien de natuurlijke selectie voor resistentie tegen bacteriën en virussen in de vrij parende bijenpopulatie. De exotische darren hebben immers de allelen die voor resistentie zouden kunnen zorgen verloren. Houders van rasbijen zouden moeten voorkomen dat hun darren ongecontroleerd kunnen paren.

Heterozygotie is geen goede maat voor gezonde bijen

Om te laten zien waarom dit geen goede maat is gebruiken we het voorbeeld van Hassett et al. (2018) van een gen met 37 allelen in de populatie van de Ierse zwarte bijen. Stel nu dat door selectie 27 zeldzame allelen verloren gaan en dat de 10 die overblijven allemaal met een frequentie van 0,1 voorkomen. Dan heeft maar op de tien darren hetzelfde allel als de koningin. De kans is dan 1/10 dat een bevrucht ei in die situatie homozygoot is, dus de kans op heterozygotie is dan 0,9. Dat is een hoge waarde, terwijl 73 % ($27/37 * 100$) van de allelen verloren zijn gegaan tijdens de selectie!

Waarom de bijen sterven

De bijen sterven dus niet alleen vanwege het gebruik van insecticiden of het gebruik van herbiciden waardoor de weide- en akkerbloemen zijn verdwenen, of door de fragmentatie van natuurlijke biotopen. Ze sterven vooral omdat er geen grote panmictische populaties

van honingbijen meer bestaan en omdat de allelen die nodig zijn voor resistentie tegen nieuwe ziekten voor een groot deel zijn verdwenen ten gevolge van de selectie door bijentelers.

De oplossing

Als bijenhouders alleen de inheemse ondersoort zouden houden is het mogelijk om de panmictische populatiestructuur te herstellen, die nodig is om de bijen weerbaar te houden tegen nieuwe ziekten. Dan zouden de hobby imkers hun bijen natuurlijke bruidsvluchten moeten laten maken

Als we er bovendien voor kunnen zorgen dat de inheemse honingbijen als wilde soort terugkeren naar onze bossen, dan hebben we naast de bijen van de hobby imkers ook de wilde bijen die dan deel uitmaken van een grote panmictische populatie. Beroepsimkers kunnen dan gebruik maken van bijen die geselecteerd zijn op de voor hun professie gewenste eigenschappen, zolang ze maar selecties gebruiken van de inheemse ondersoort. Als de geselecteerde bijen van de beroepsimkers kwetsbaar worden voor ziekten kunnen ze de verloren allelen terughalen uit de panmictische populatie.

References

- Allsopp, M. 2001. Varroas in Africa_ a serious threat. Proc. 37th Int. Apic. Congr., 28 Oct – 1 Nov 2001, Durban, South Africa
- Alphen JJM van and Fernhout BJ. 2020. Natural selection, selective breeding and the evolution of resistance of honeybees (*Apis mellifera*) against Varroa. Zoological Letters 6:6 doi.org/10.1186/s40851-020-00158-4
- Baudry E; Solignac M; Garnery L; Gries M; Cornuet JM; and Koeniger N. 1998. Relatedness among Honeybees (*Apis mellifera*) of a Drone Congregation. Proceedings: Biological Sciences , Vol. 265, No. 1409, pp. 2009-2014
- Fries I; Imdorf A and Rosenkranz P. 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honeybee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. Apidologie 37:564-570.
- Fries I; Hansen H; Imdorf A and Rosenkranz P 2003. .Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. Apidologie 34: 389–397
- Hassett J; Browne KA; McCormack GP; Moore E; Native Irish Honey Bee Society; Soland G; Geary M. 2018. A significant pure population of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) remains in Ireland. Journal of Apicultural Research 57: 337–350.
- Nearman A & van Engelsdorp D. 2023. Water provisioning increases caged worker bee lifespan and caged worker bees are living half as long as observed 50 years ago. Nature-Scientific Reports 12: DOI: [10.1038/s41598-022-21401-2](https://doi.org/10.1038/s41598-022-21401-2)
- Ruttner H & Ruttner F 1972. Untersuchungen über die Flugaktivität und das Paarungsverhalten der Drohnen.-Apidologie 3: 203-232.

Sasaki A & Iwasa Y 1987. Optimal Recombination Rate in Fluctuating Environments. *Genetics* 115: 377-388

Souza SF de; Allsopp M and Martin SJ. 2020. Deformed wing virus prevalence and load in honeybees in South Africa. *Archives of Virology* 166: 237 – 241.