

Rodziny pszczele odporne na Varroa

Wynik wieloletniej selekcji przeciwko warozie

Noël De Schrijver
Stef Vleminckx
Dr. Sofie De Groef
Erik Goris



Lubań, kwiecień 2019



Noël De Schrijver
pszczelarz pasjonat
Odpowiedzialny za selekcję VR



Dr. Sofie De Groef
Biolog, Badanie naukowe
Odpowiedzialna za charakteryzację genetyczną VR



Stef Vleminckx
pszczelarz pasjonat, entomolog
Odpowiedzialny za krzyżowanie VR winnych liniach pszczół



Erik Goris
pszczelarz pasjonat, szkolenie pszczelarzy
Odpowiedzialny za śledzenie rozwoju rodzin VR zagranicę



Ogólne efekty leczenia warrozy środkami chemicznymi

Uszkodzenie pszczół

Negatywny wpływ na rodzinę

Niezwalczenie w 100% + oporność na leki

Wszyscy powinni zwalczać w tym samym czasie

Pozostałości w produktach pszczelich

Zabijanie innych mieszkańców ula (mikroorganizmy, owady)

Negatywny wpływ na zdrowie pszczelarza

Co to jest odporność na warozę?

Całość właściwości rodziny pszczelej, pozwalające jej mocno ograniczyć lub wyeliminować infekcję roztocza *Varroa*.

- usunięcie chorego czerwiu (VSH)
- przerwanie cyklu rozwoju roztoczy
- agresja w stosunku do roztoczy
- wyrzucanie roztoczy przez zachowanie czyszczące (Grooming)
- otwieranie (i ponowne pokrycie) krytego czerwiu,
-



Odporność na Varroa

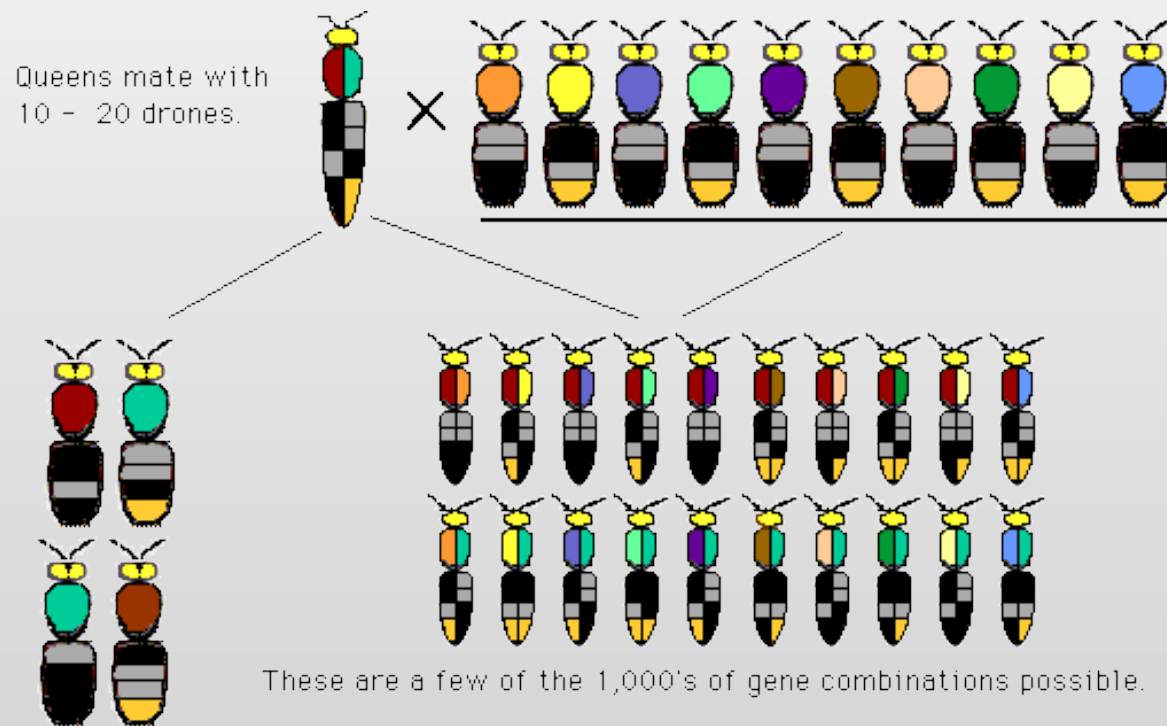
Strategia selekcji

- Noël De Schrijver -

Naturalne VR w rodzinach bez leczenia



Szukanie i selekcja VR: przysłowiowa igła w stogu siana?



<http://www.glenn-apiaries.com/genetics.html>

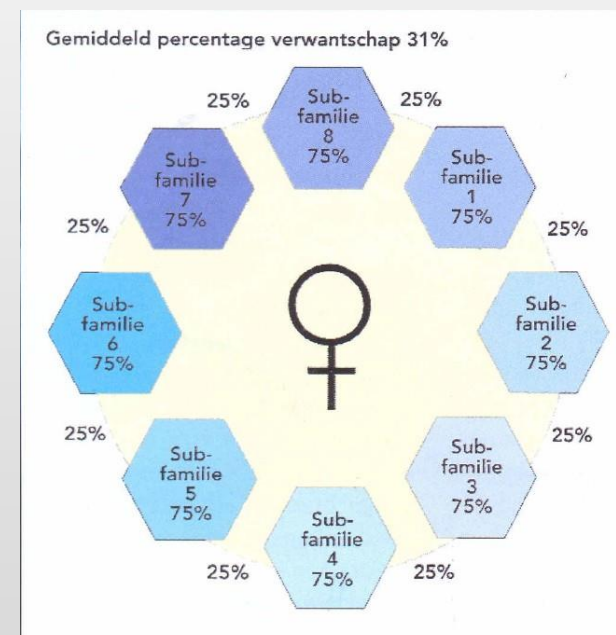


Fig. 8 - Verwantschap tussen de werkers in een bijenvolk waar de moeder gepaard heeft met acht willekeurige darren. De verwantschap binnen iedere subfamilie bedraagt 75%, tussen de subfamilies 25% en de gemiddelde verwantschap voor de hele kolonie is 31%. (naar J. P. van Praagh)

<https://www.konvib.be/artikels-pseudo/artikels-vermeerdering/artikels-koninginnen-selectie/2620-voortplanting-bij-bijeen-apart-geval.html>

1 rodzina składa się z populacji robotnic z tej samej matki ale różnych trutni (pótsiostry).
→ o tym trzeba pamiętać przy ocenie rodzin

Szukanie i selekcja VR: Sztuczne unasienianie matek

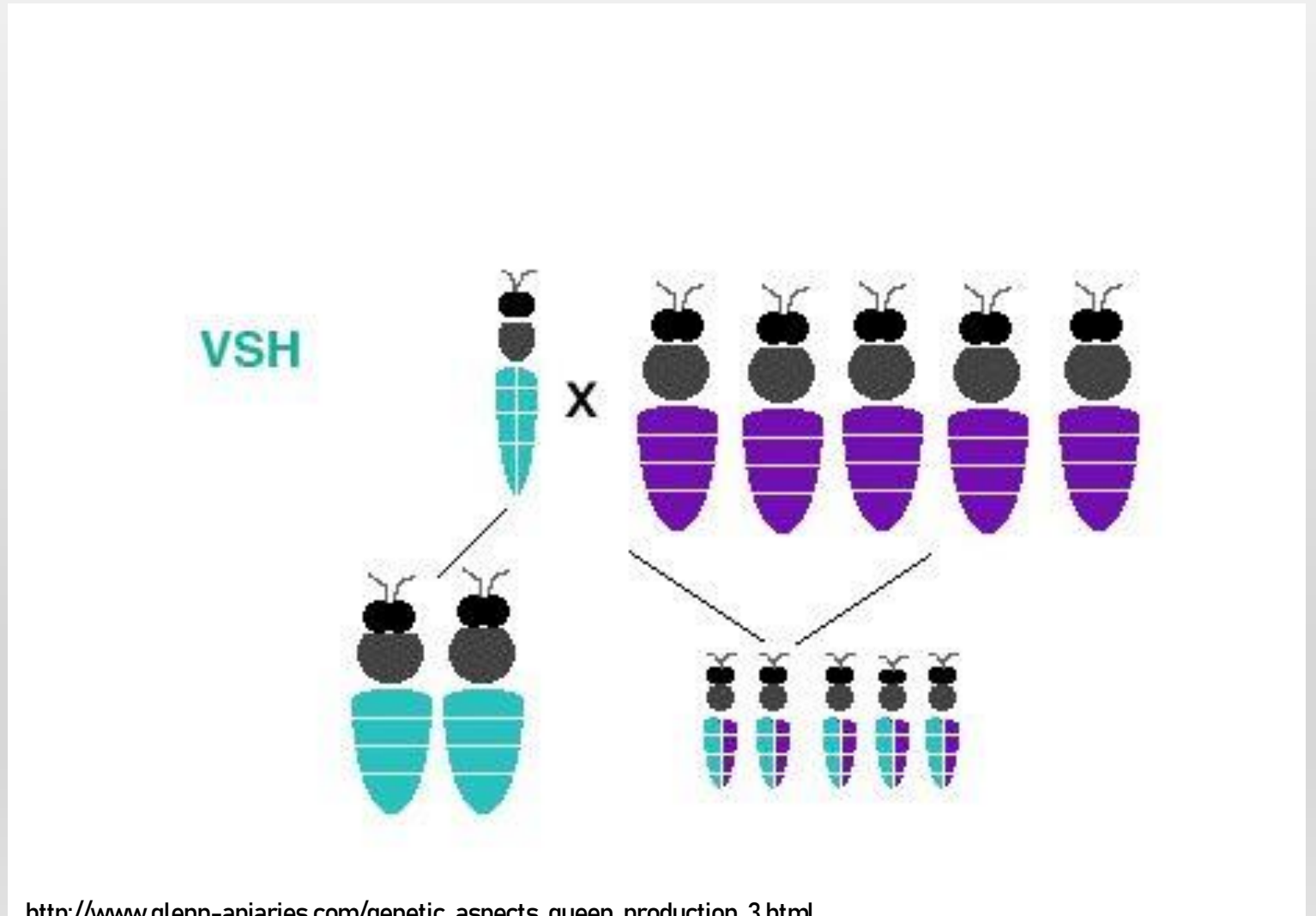


Nasienie od trutni z rodzin VR
→ Kontrolowane unasieniania matek

Unasienianie nasieniem
od 1 lub 2 trutni

→ łatwiej ocenić czy potomstwo jest VR

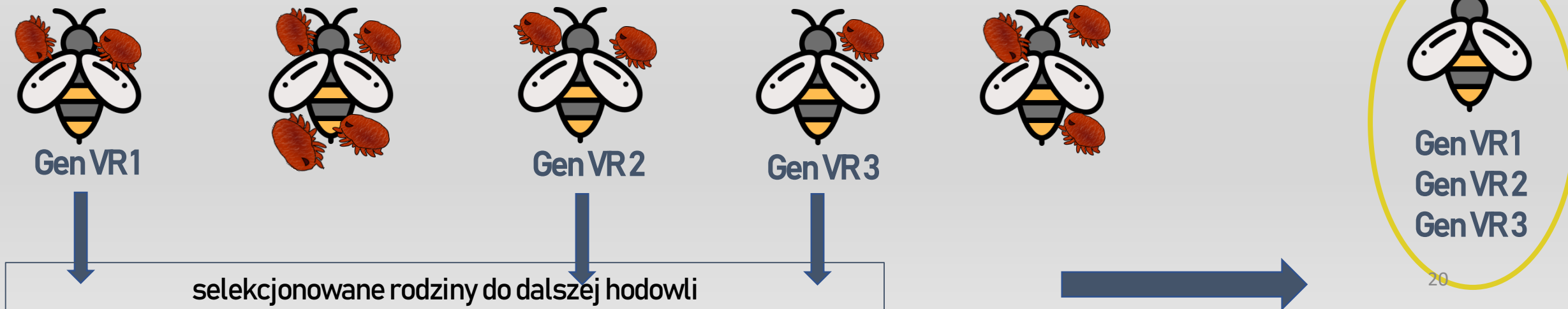
Szukanie i selekcja VR: sztuczne unasienianie



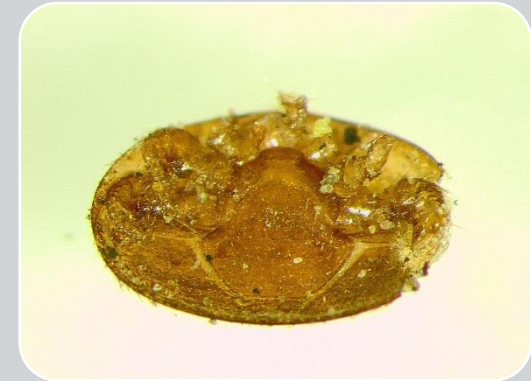
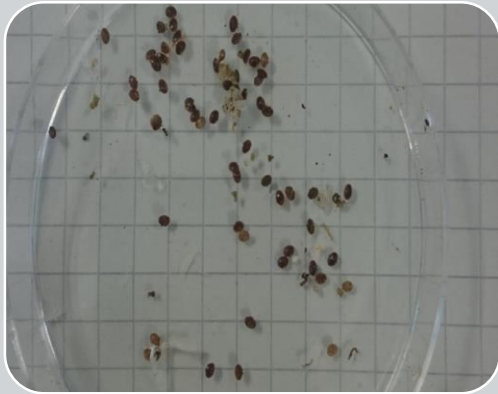
Szukanie i selekcja VR: sprawka genetyki?

- cecha poligenetyczna
- Skumulowany efekt kilku genów
- Geny recesywne : po linii matki oraz trutni

→ chów wsobny



VR – Selekcja



Ilość Varroa

Zachowanie
higieniczne

Grooming, aktywne
uszkodzenie roztoczy

Początek mojej selekcji (2007): Sprawdzenie ilości Varroa

Ilość Varroa

leczenie kwasem
szczawiowym
wszystkich rodzin



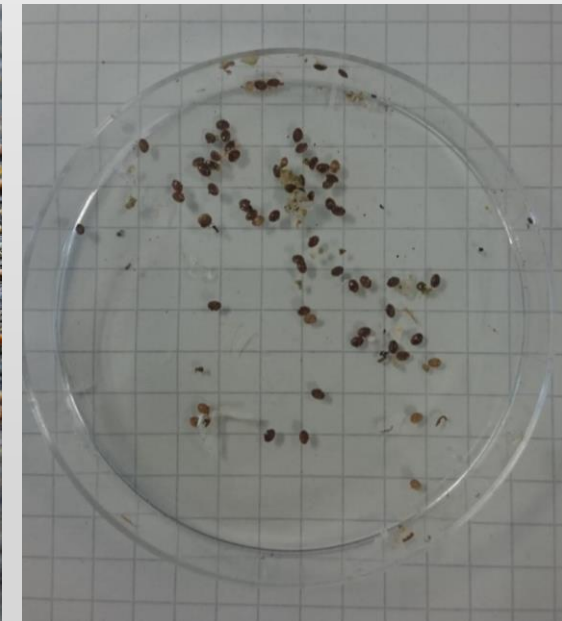
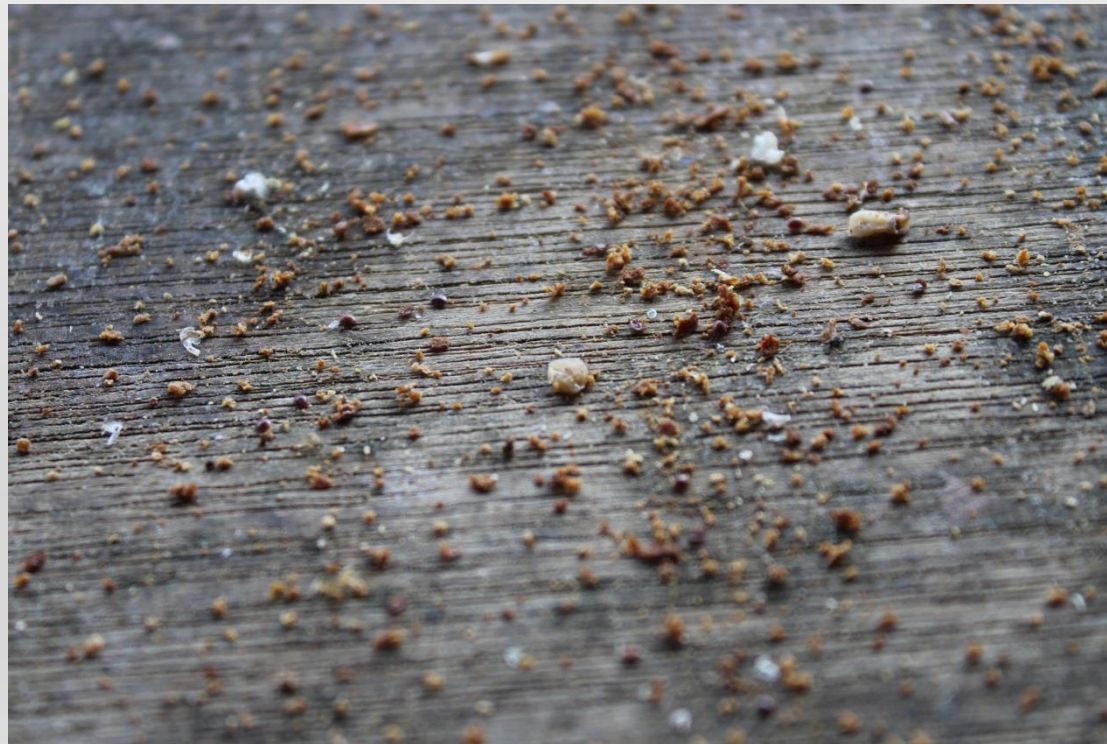
Początek mojej selekcji (2007): Sprawdzenie ilości Varroa

Varroa druk

Ilość Varroa

leczenie kwasem
szczawiowym
wszystkich rodzin

wybrałem 2 rodziny
z najmniejszym zarażeniem



Sprawdzenie zachowania higienicznego

mrożenie
krytego czerwiu
ciekłym azotem



Sprawdzenie zachowania higienicznego

wybrałem rodziny,
które najszybciej
sprzątały
martwe larwy



Tijd



Stwierdzenie groomingu

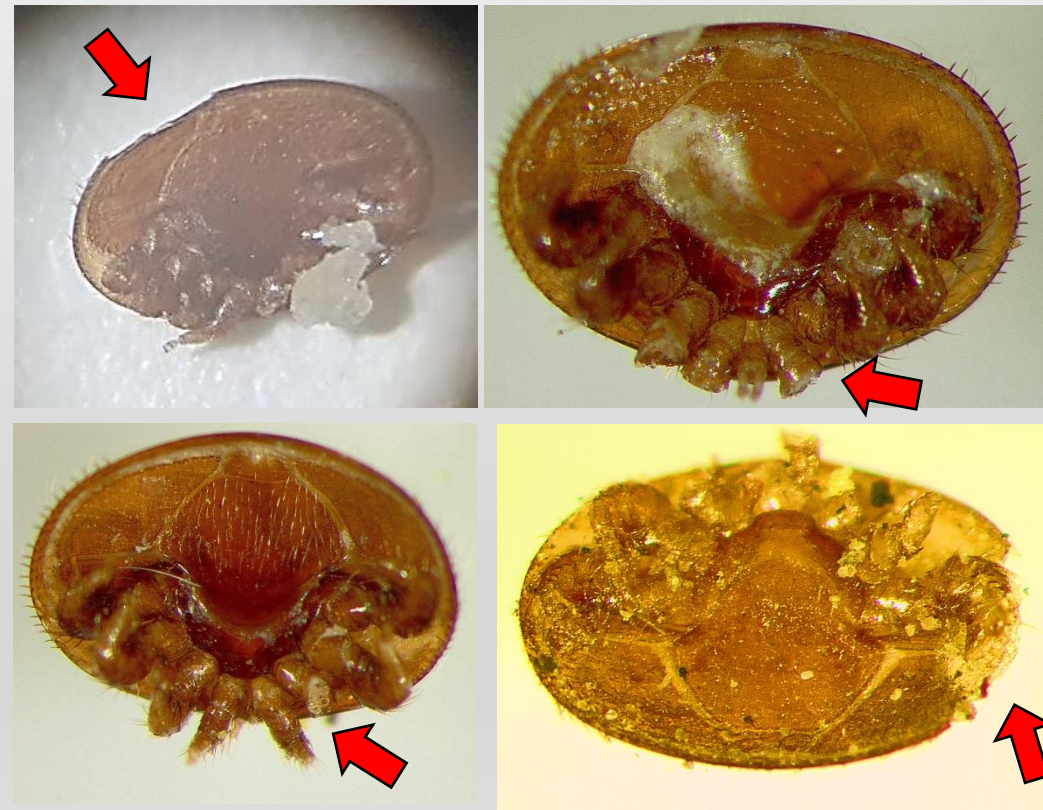
Grooming

Obserwacja
przy wylotku

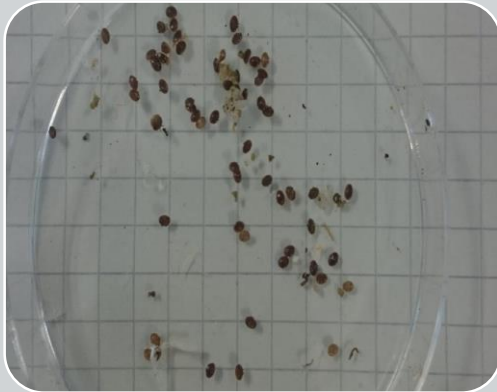


Sprawdzanie uszkodzenia roztocza przez pszczoły

Kontrola
pod mikroskopem
wybrałem rodziny y
które najbardziej
uszkadzają roztoczy



VR – Selekcja : 4 cechy do utrwalenia w rodzinach



Ilość varroa

po kwasie
szczawiowym

**rodziny z małym
osypem**



Zachowanie higieniczne

mrożenie
cierwiu

**rodziny, które
szybko sprzątają**



Grooming

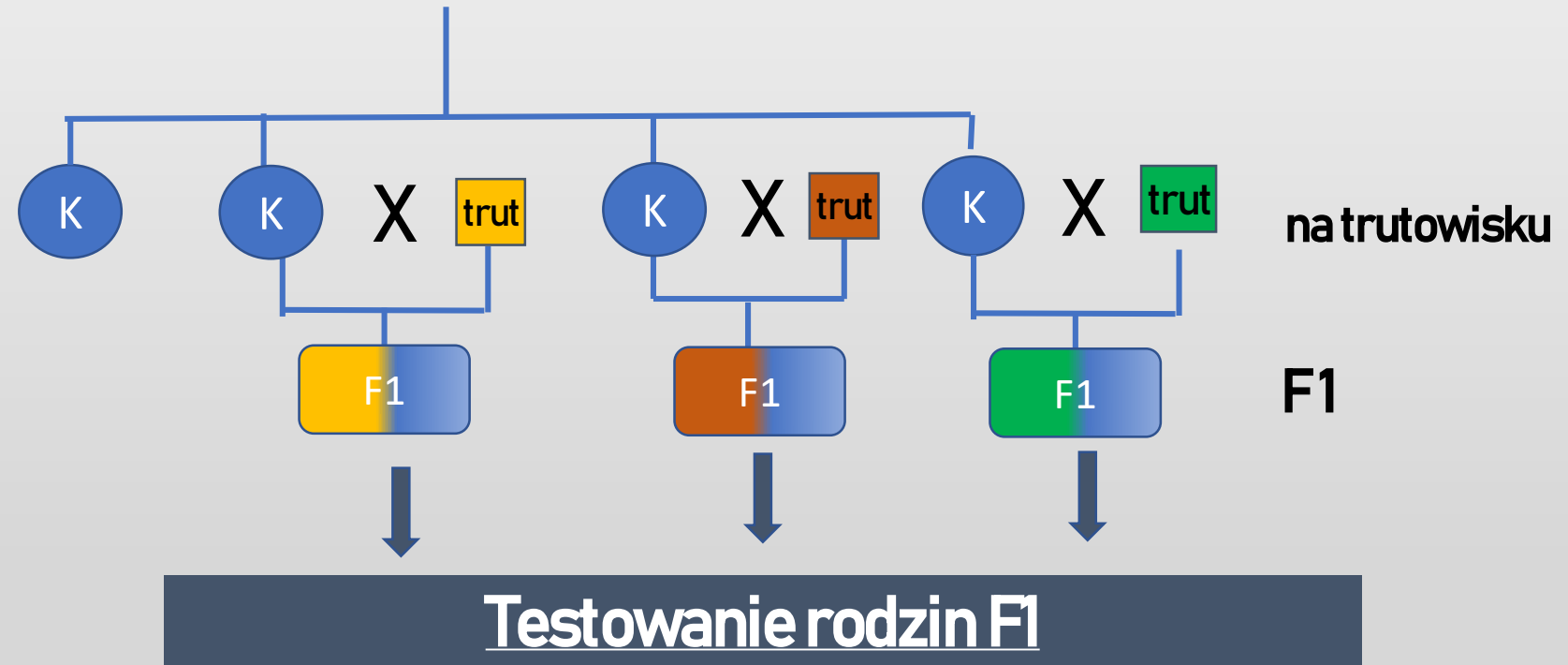
aktywność pszczół przy wylotku
i uszkodzenie roztoczy

**najbardziej aktywne rodziny
najwięcej uszkodzonych roztoczy**



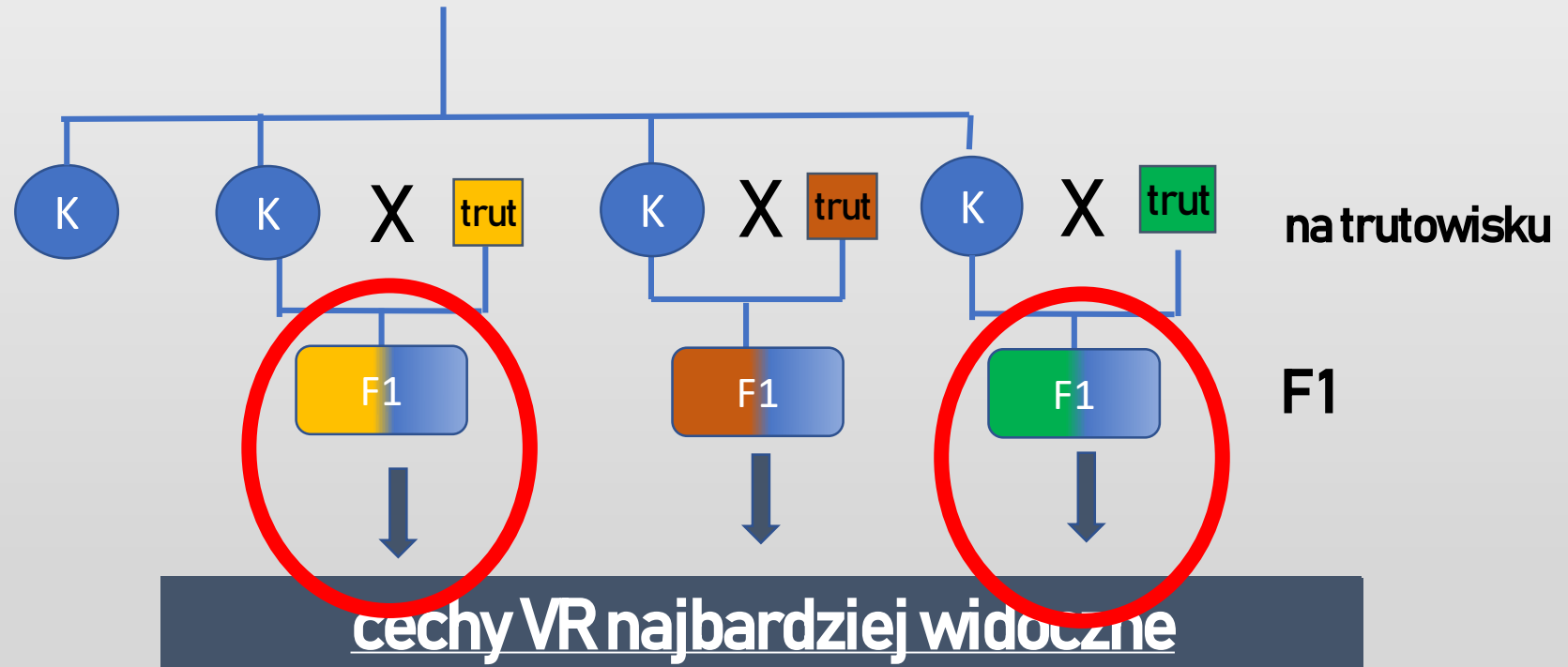
Utrwalenie cech w rodzinach: Selekcja i chów wsobny

Rodzina mateczna



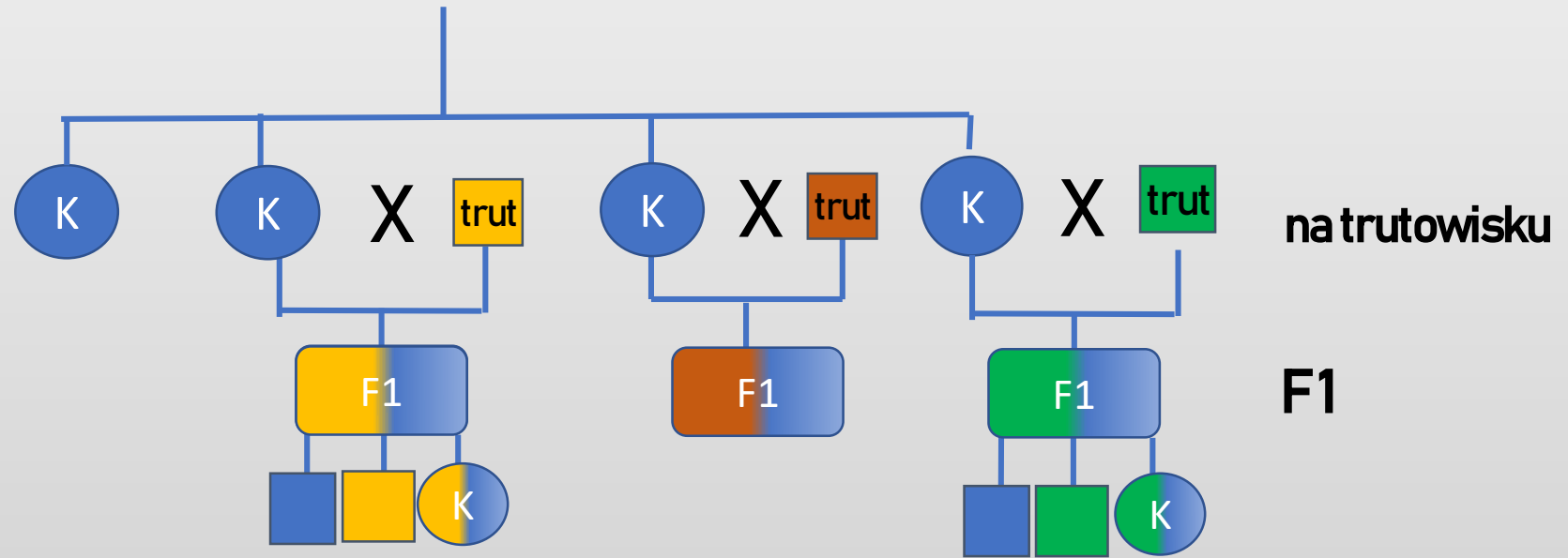
Utrwalenie cech w rodzinach: Selekcja i chów wsobny

Rodzina mateczna



Utrwalenie cech w rodzinach: Selekcja i chów wsobny

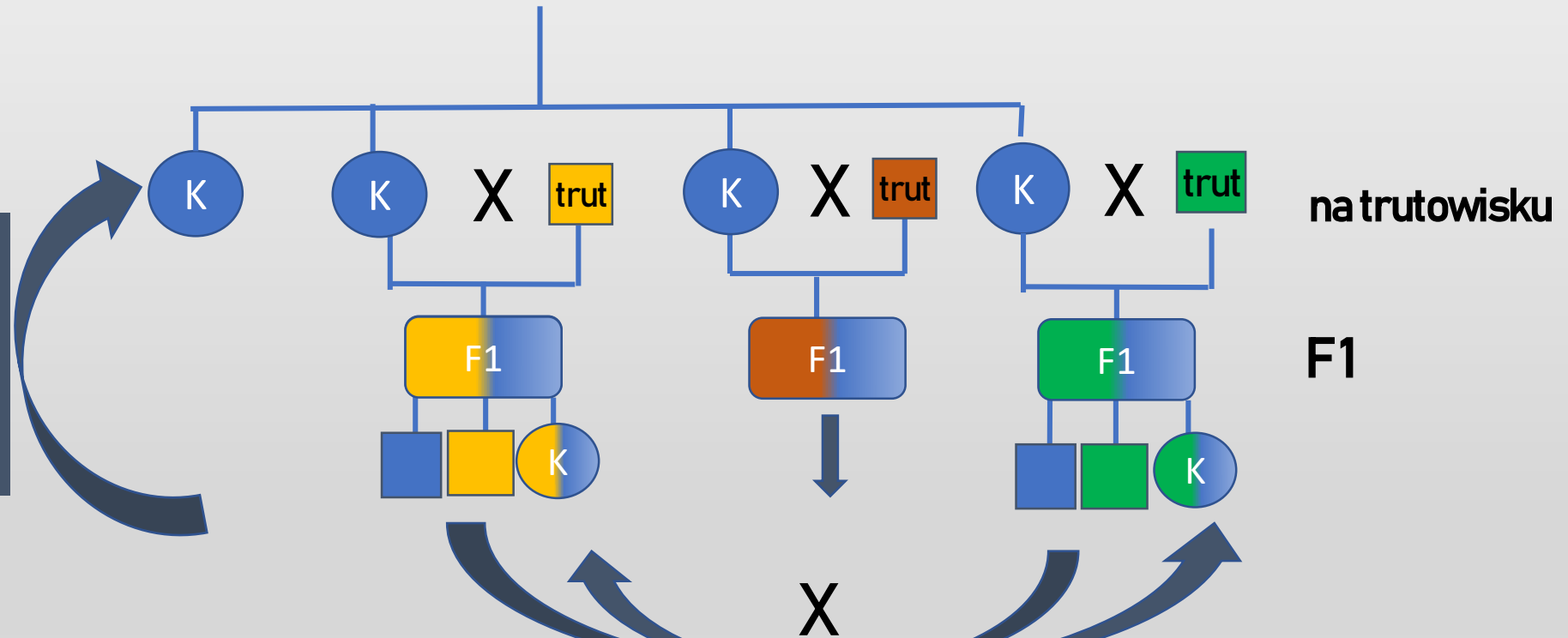
Rodzina mateczna



Utrwalenie cech w rodzinach: Selekcja i chów wsobny

Rodzina mateczna

krzyżowanie z F0
Sztuczne unasienie
z trutniami
najlepszych rodzin F1



krzyżowanie między siostrami

Sztuczne unasienie trutniami z najlepszych rodzin F1

Świadomy brak leczenia rodzin

= wynik selekcji i kryterium selekcji



VR volk 22-12-2018

Następstwa VR

- **Nie ma potrzeby leczenia** przeciwko Varroa
- Rodziny **są silne przed zimowlą**
- **Normalny rozwój** larw
- mniej chorób, przeniesionych przez Varroa (**zgnilec, nosema?**)

Następstwa braku leczenia

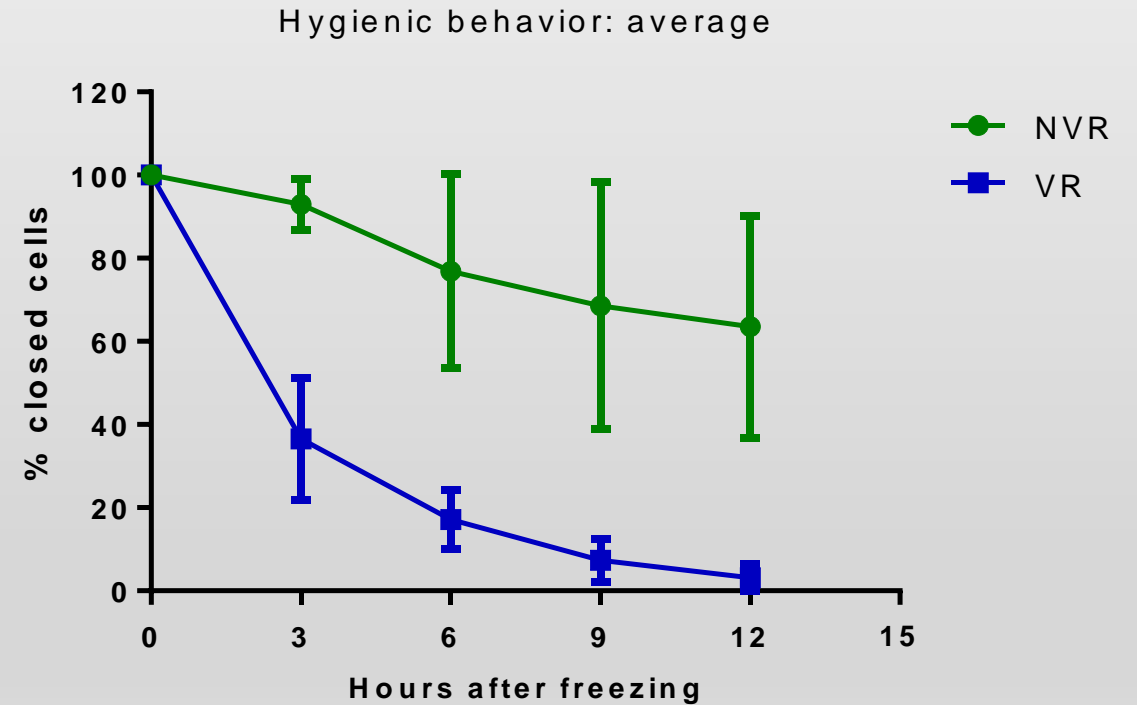
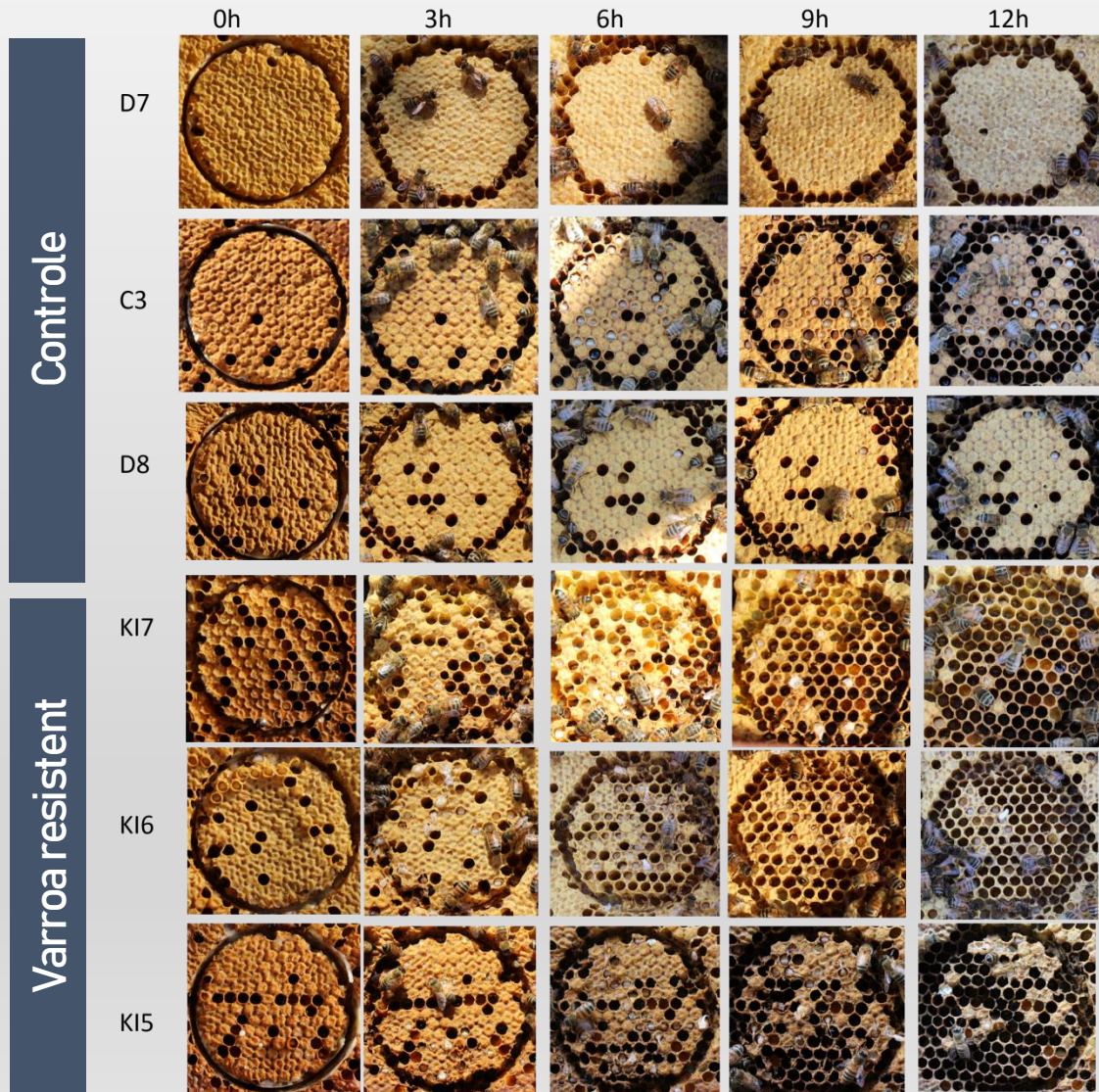
- **Mniejsze koszty** dla pszczelarza
- **Lepszy stan zdrowia**
- Brak kontaktu z chemią **szkodliwą dla pszczelarza**
- Zmiany innych mieszkańców ula



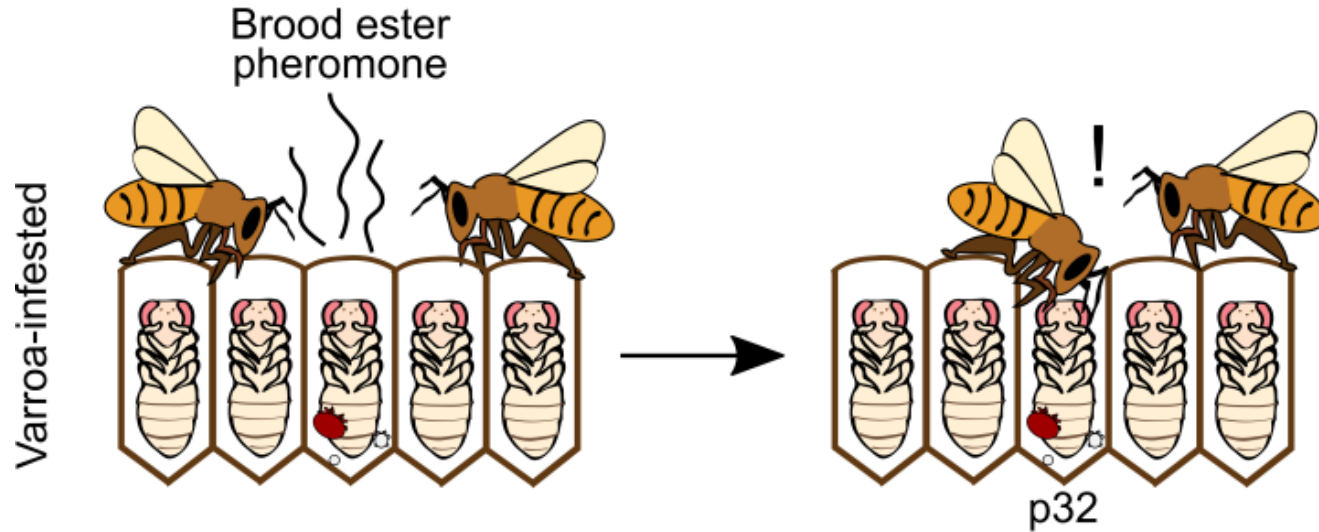
Wyniki po 10 lat selekcji i hodowli VR?

- Sofie De Groef -

1. Zachowanie higieniczne



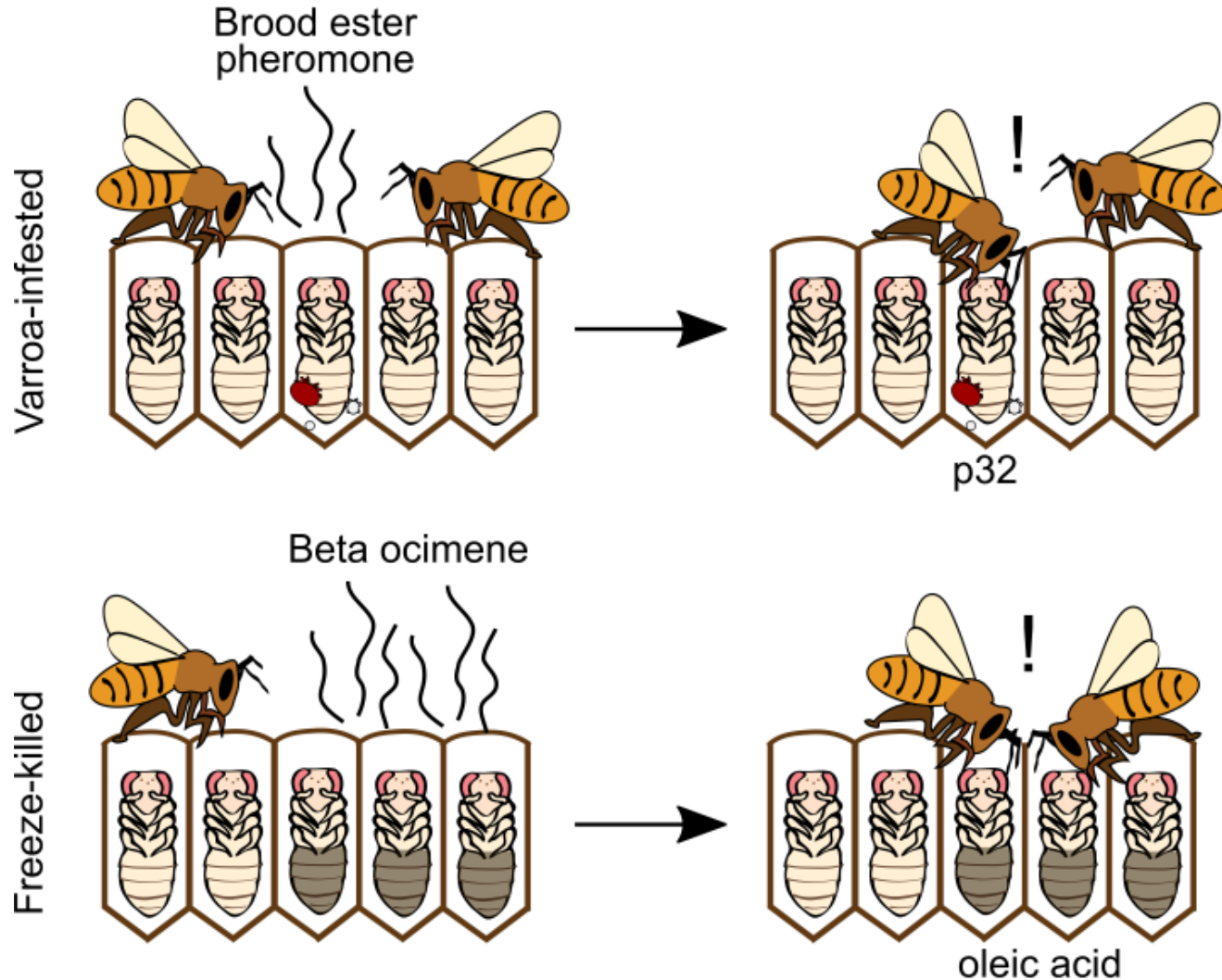
1. Zachowanie higieniczne



Here is a hypothetical sequence of events: first, the pheromone vital sign calls out to the hygienic workers, triggering their attention; next, upon uncapping and closer inspection *via* direct contact with the brood, the non-volatile death cue becomes detectable much like it is among ants and termites. With the bee season getting underway, we are looking forward to testing these ideas and hopefully put to rest the death cue *vs.* vital sign debate.

<https://alisonmcafeeblogs.wordpress.com/2017/03/05/hygienic-behaviour-its-all-about-the-necromones/>

1. Zachowanie higieniczne



Here is a hypothetical sequence of events: first, the pheromone vital sign calls out to the hygienic workers, triggering their attention; next, upon uncapping and closer inspection *via* direct contact with the brood, the non-volatile death cue becomes detectable much like it is among ants and termites. With the bee season getting underway, we are looking forward to testing these ideas and hopefully put to rest the death cue *vs.* vital sign debate.

<https://alisonmcafeeblogs.wordpress.com/2017/03/05/hygienic-behaviour-its-all-about-the-necromones/>

1. Zachowanie higieniczne

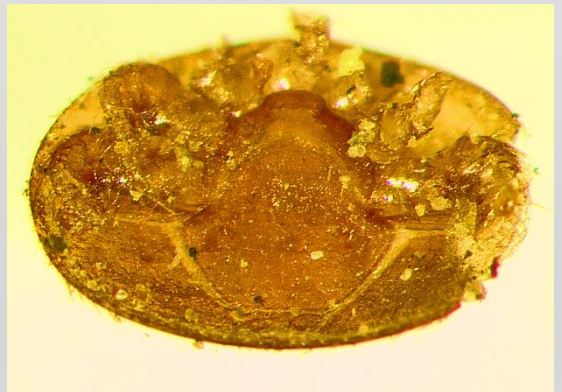


2. Grooming



3. Uszkodzenie roztoczy

Criteria zoals in Nganso BT, *et al* 2017.



Co znajdziemy?

dorośle samice

- żywe
- żywe, ale uszkodzone
- martwe
- martwe i uszkodzone

młode roztocza (blade)

- żywe
- żywe, ale uszkodzone
- martwe
- martwe i uszkodzone

- uszkodzają nogi, pancerz, płyty chitynowe

3. Uszkodzenie roztocza



Beschadigde mijten als hulpmiddel

→ Hoog percentage mijten met beschadigingen (>50%)

=

lagere nood aan behandeling van het volk

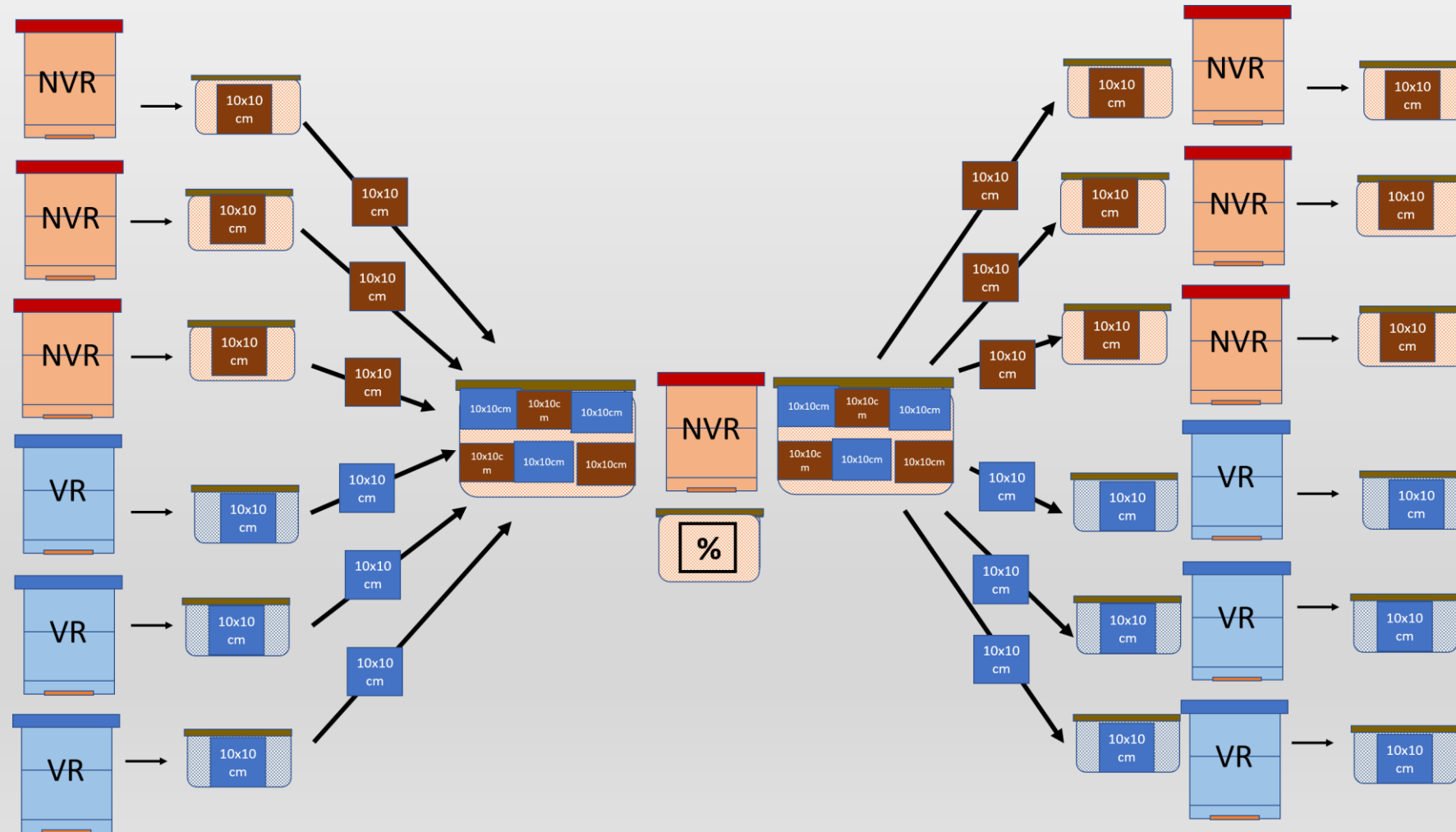
4. Eksperyment: reakcja pszczoły VR na zaatakowany czerw

Wiemy że:

pszczoły VR sprzątają mrożony czerw

chcieliśmy wiedzieć czy też rozpoznają i sprzątają varroa w żywym czerw

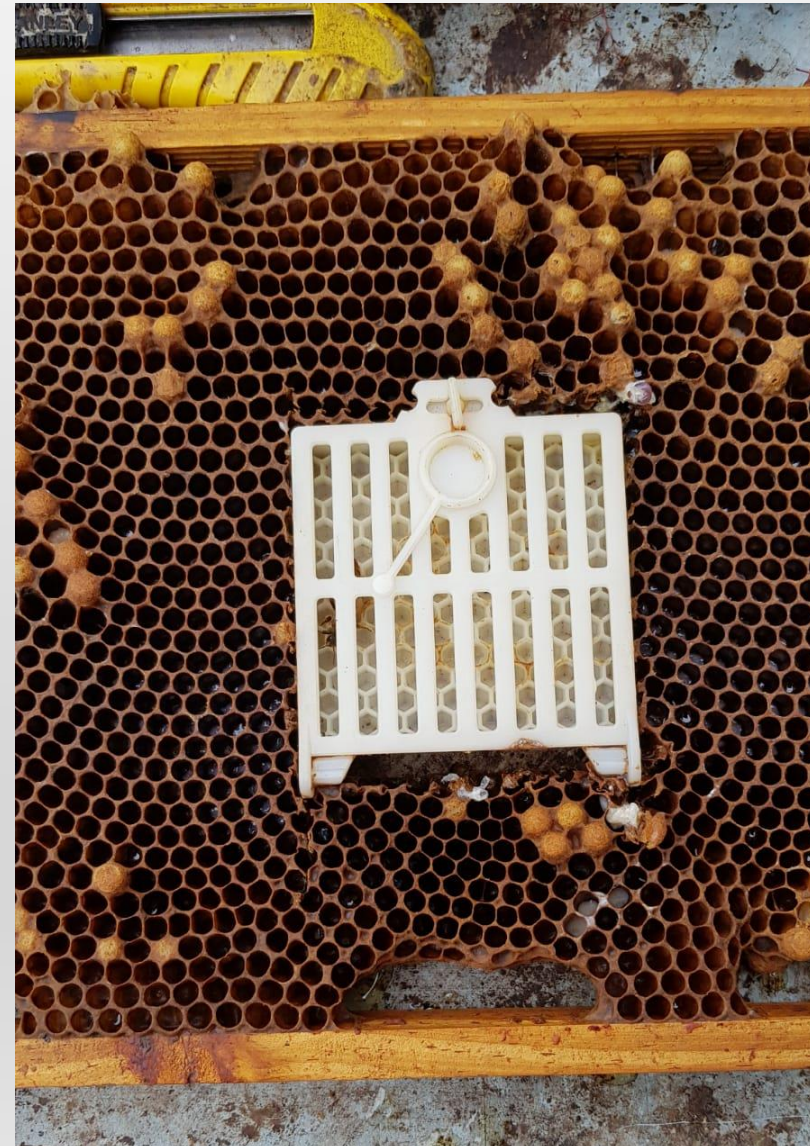
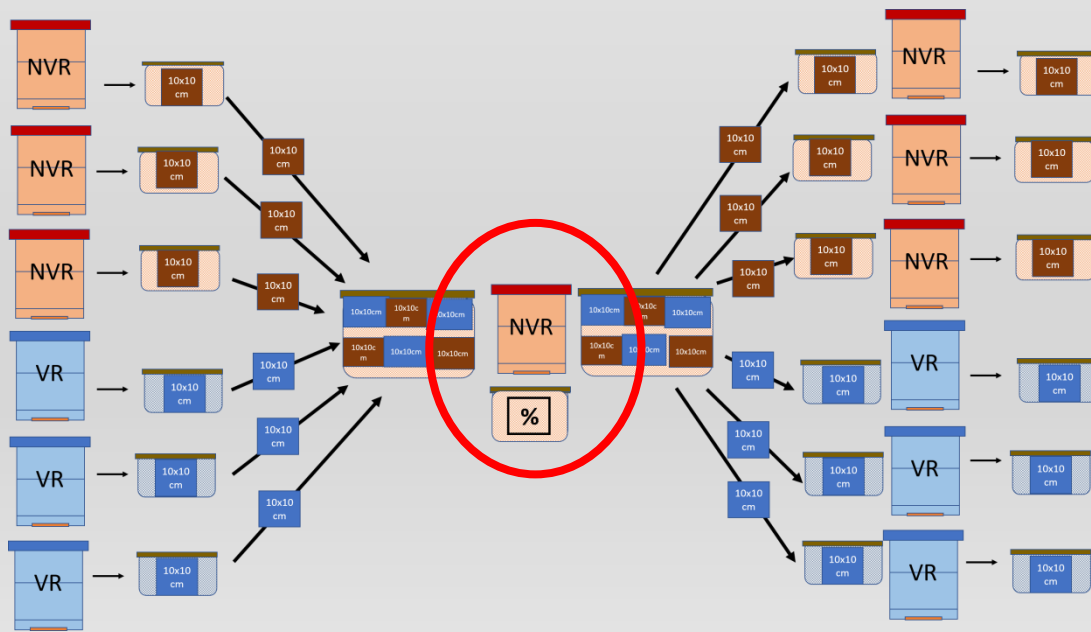
4. Eksperyment: reakcja pszczoły VR na zaatakowany czerw

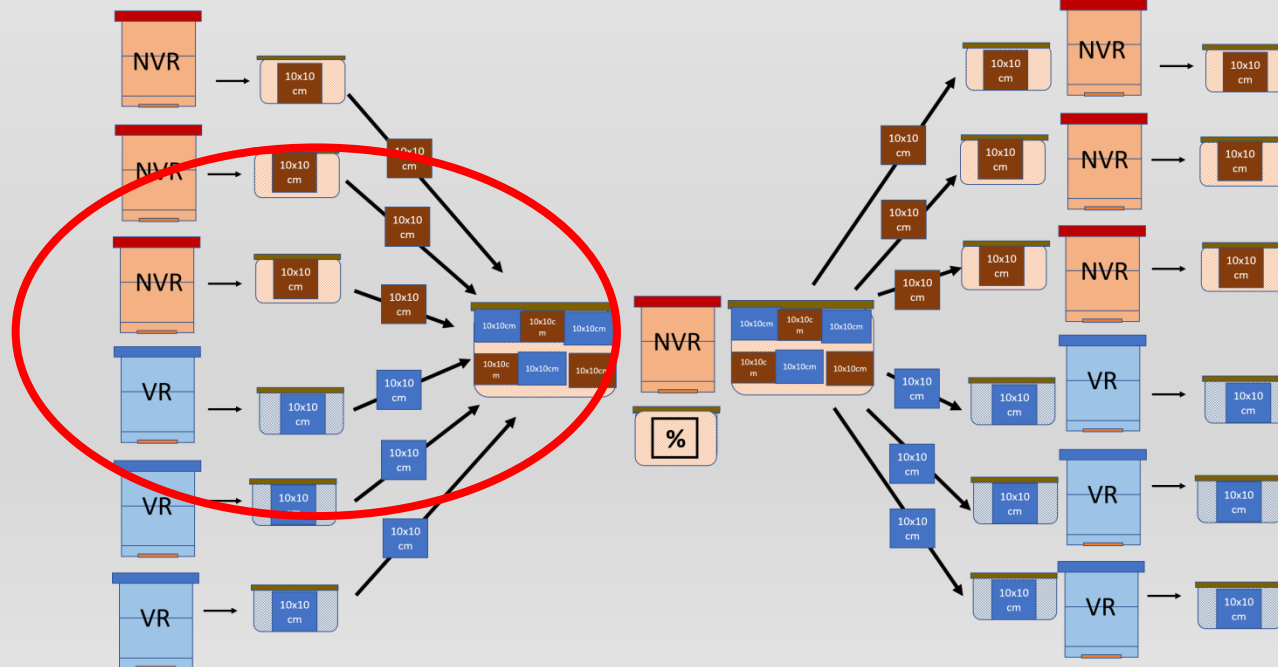
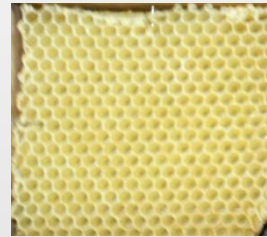
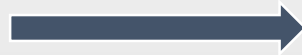


zamknięcie matki w ulu NVR

dni -7 - 0

- ul NVR zamknięcie matki na 7 dni
- 40% larw z varroa
- osyp : 50 szt. dziennie





dzień 1 – 7
7 DNI

dzień 8 – 12
5 DNI

dzień 13 – 18
5 DNI



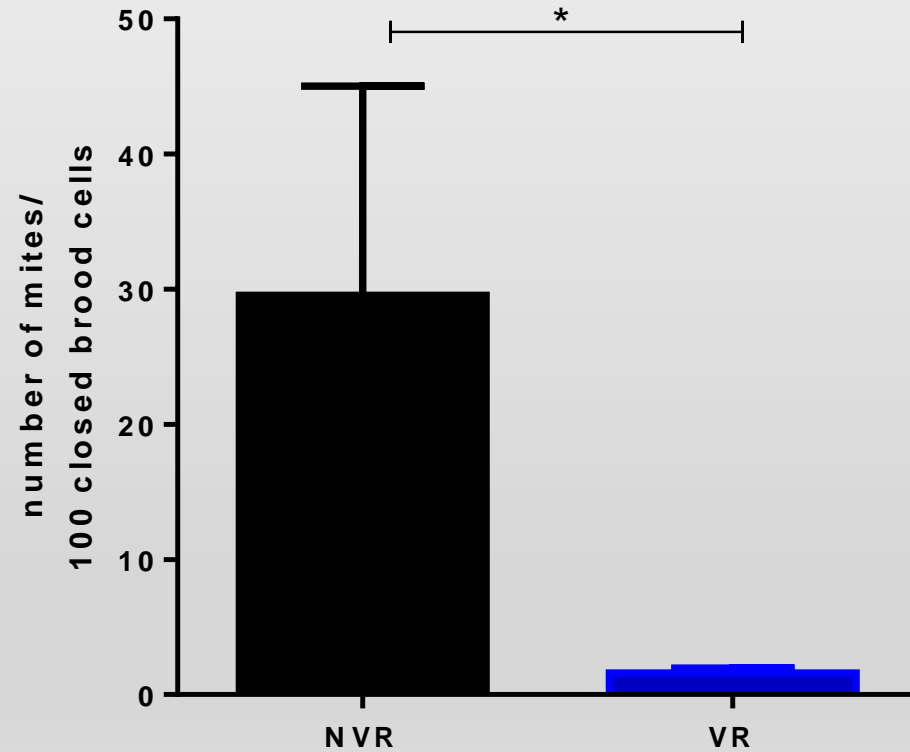
matka VR lub NVR czerwi
na ramce we własnej rodzinie

- wycięcie czerwiu 3 VR i 3 NVR
- 6 kawałków w jednej ramce
- ramka trafia do rodziny NVR
- varroa atakuje czerw
- pszczoły kryją czerw

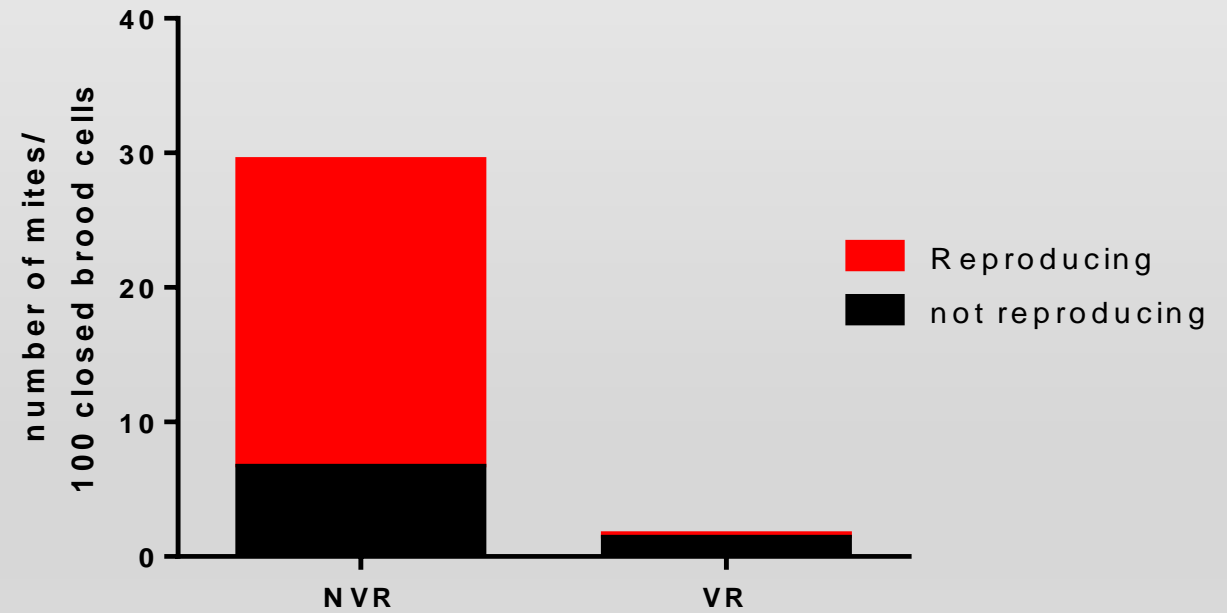
wszystkie 6 kawałków
trafia ponownie do
własnej rodziny

- 5 dni czasu na sprzątanie atakowanego czerwiu
- **Potem liczenie roztoczy w całej ramce**

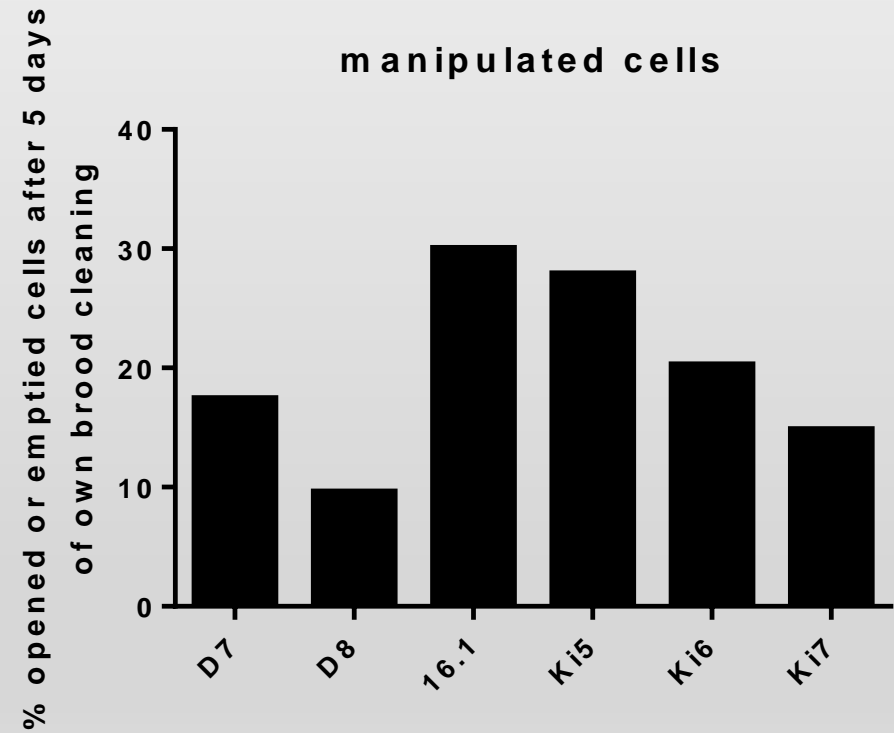
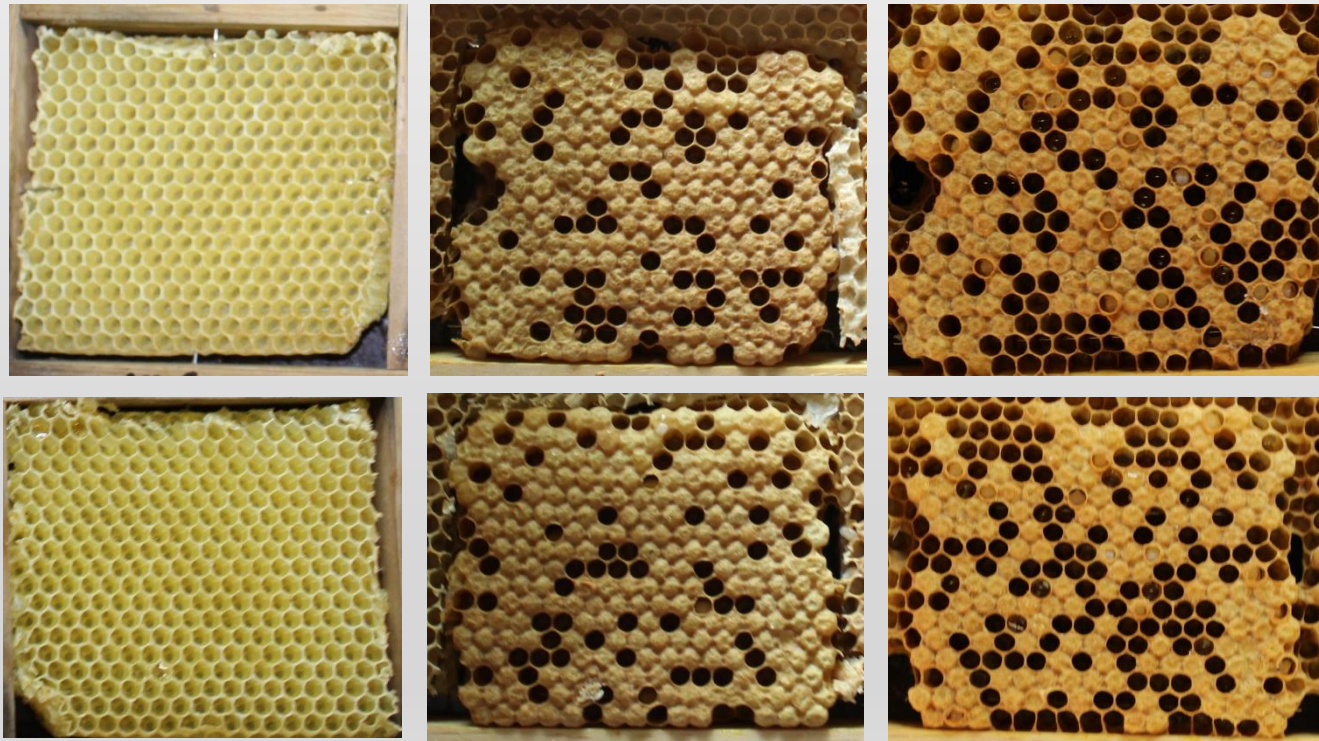
Pytanie1: Ile zostaje roztoczy na 100 komórek?



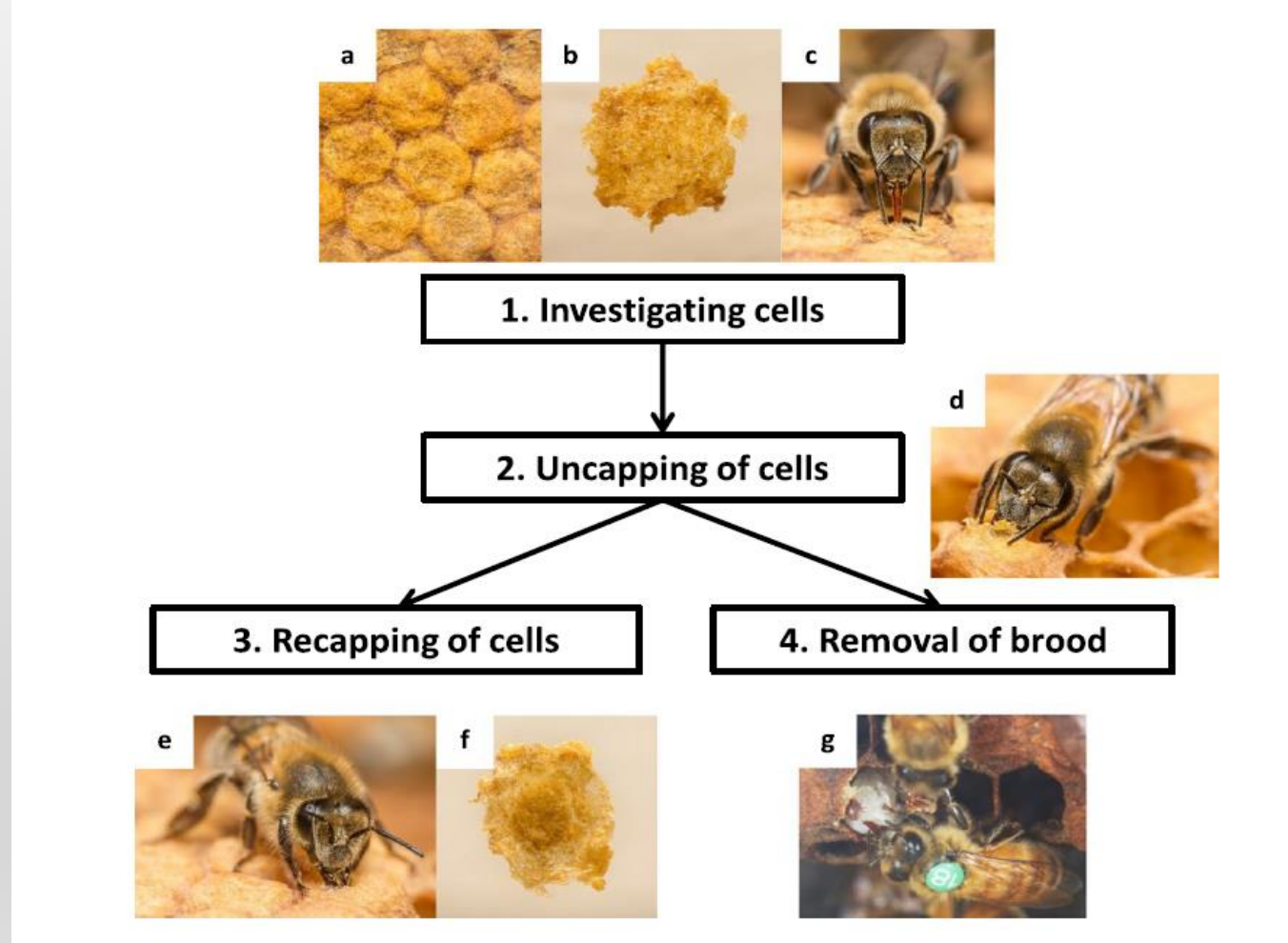
Pytanie 2: Czy te roztocza są zdolne do reprodukcji?



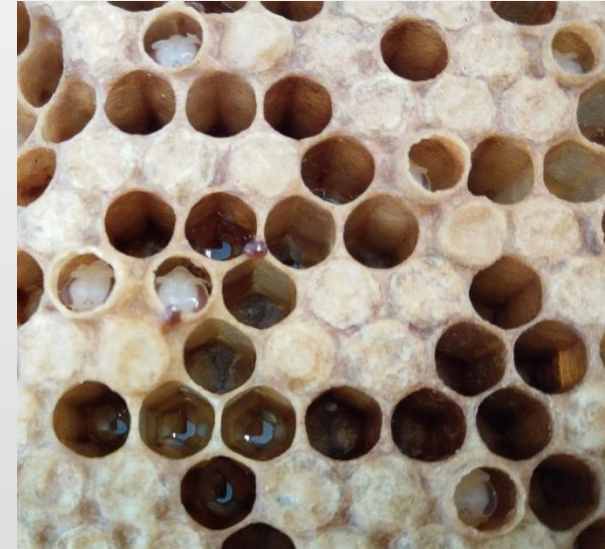
Pytanie3: Czy pszczoły otwierały komórki?



5. Recapping (odkrycie i ponowne krycie czerwiu)



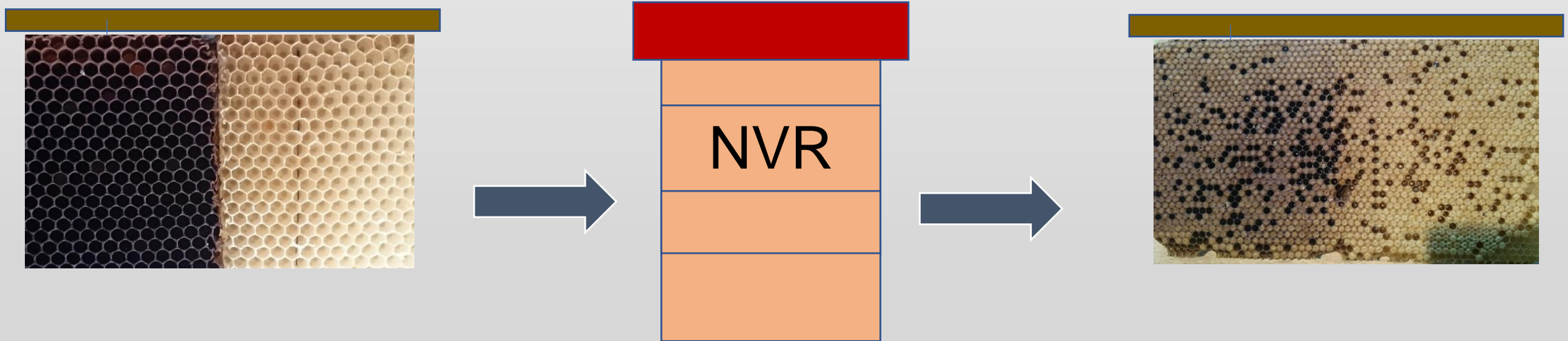
5. Recapping



6. Eksperyment: czy varroa preferuje stare czy nowe plastry?

Matka NVR zaczerwi ramkę starego i nowego plastra. Czekamy aż czerw jest kryty.

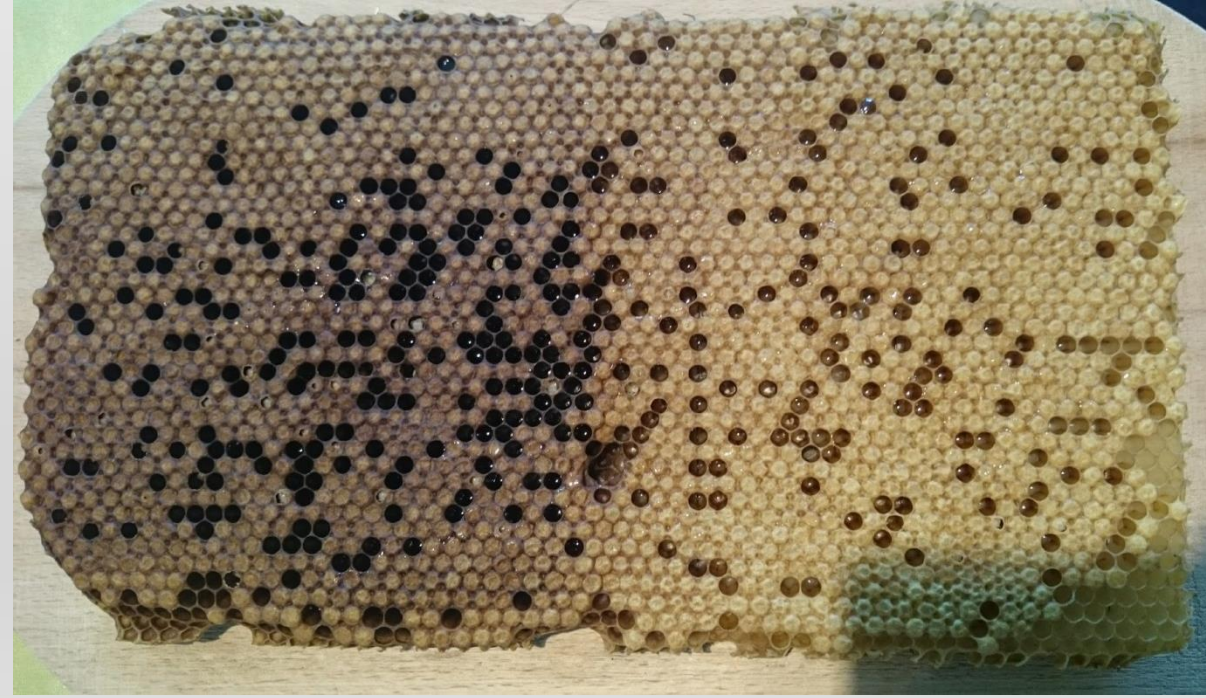
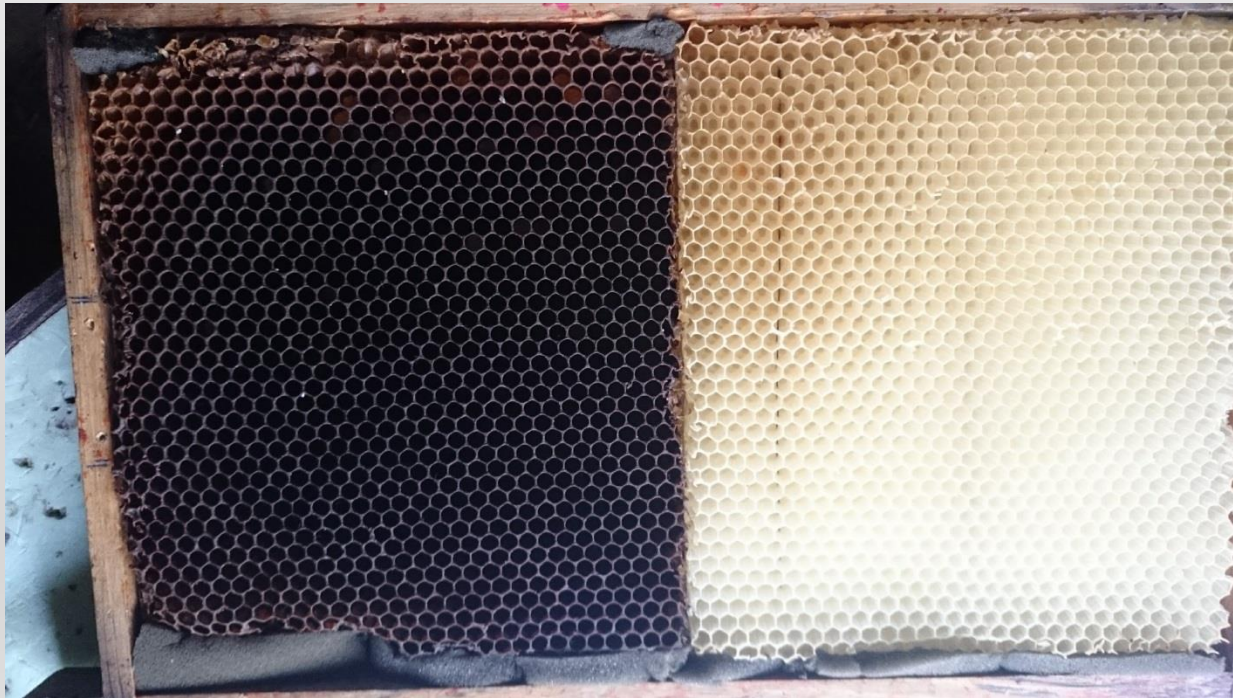
→ czy roztocza chowają się bardziej w starych czy nowych plastrach?



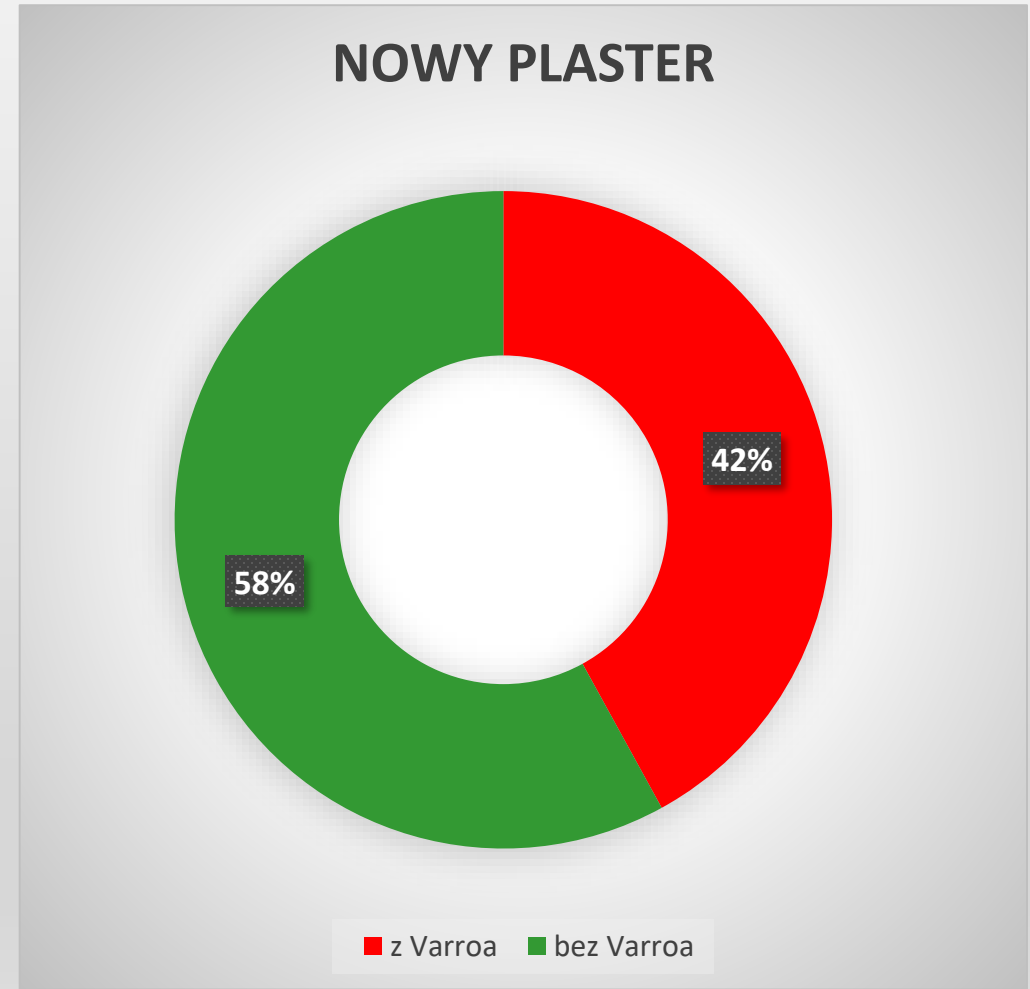
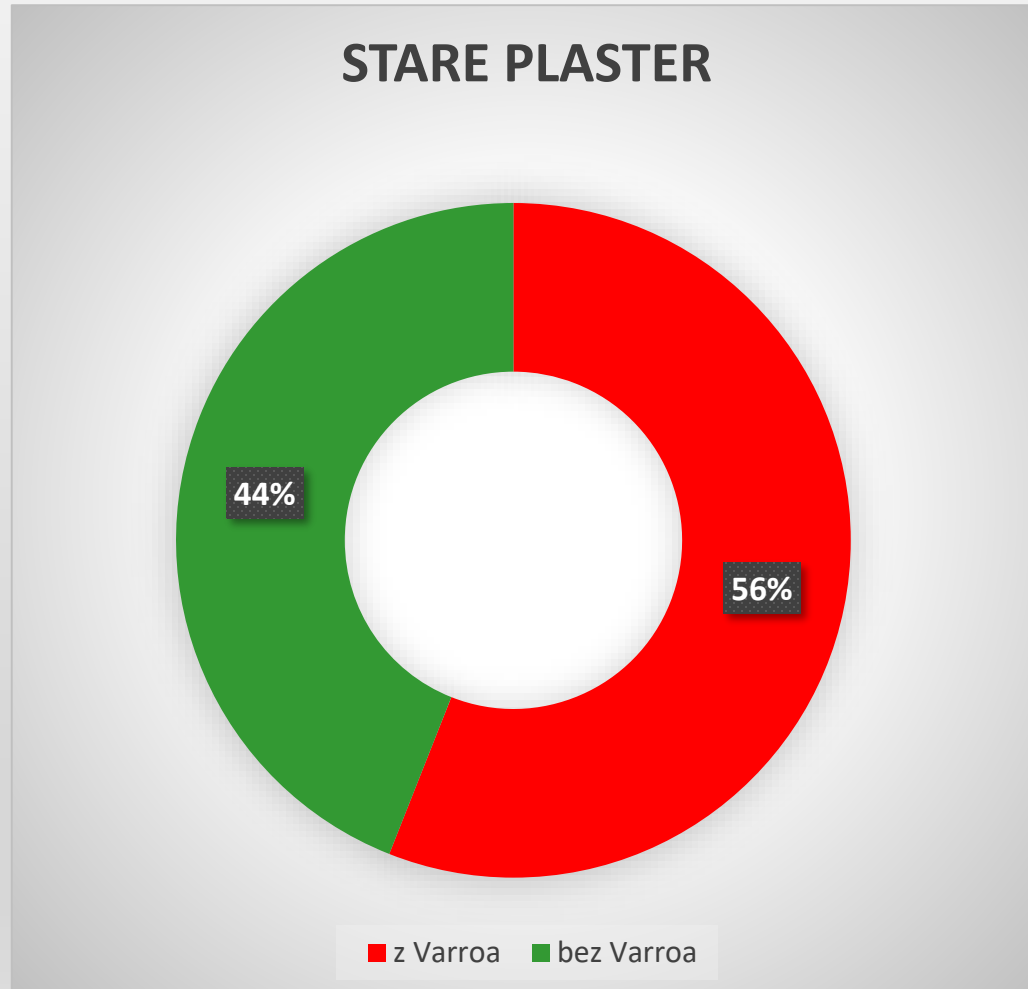
ANALIZA: ile roztoczy?

Eksperyment: czy varroa preferuje stare czy nowe plastry?

Matka NVR zaczerwi ramkę starego i nowego plastra. Czekamy aż czerw jest kryty.

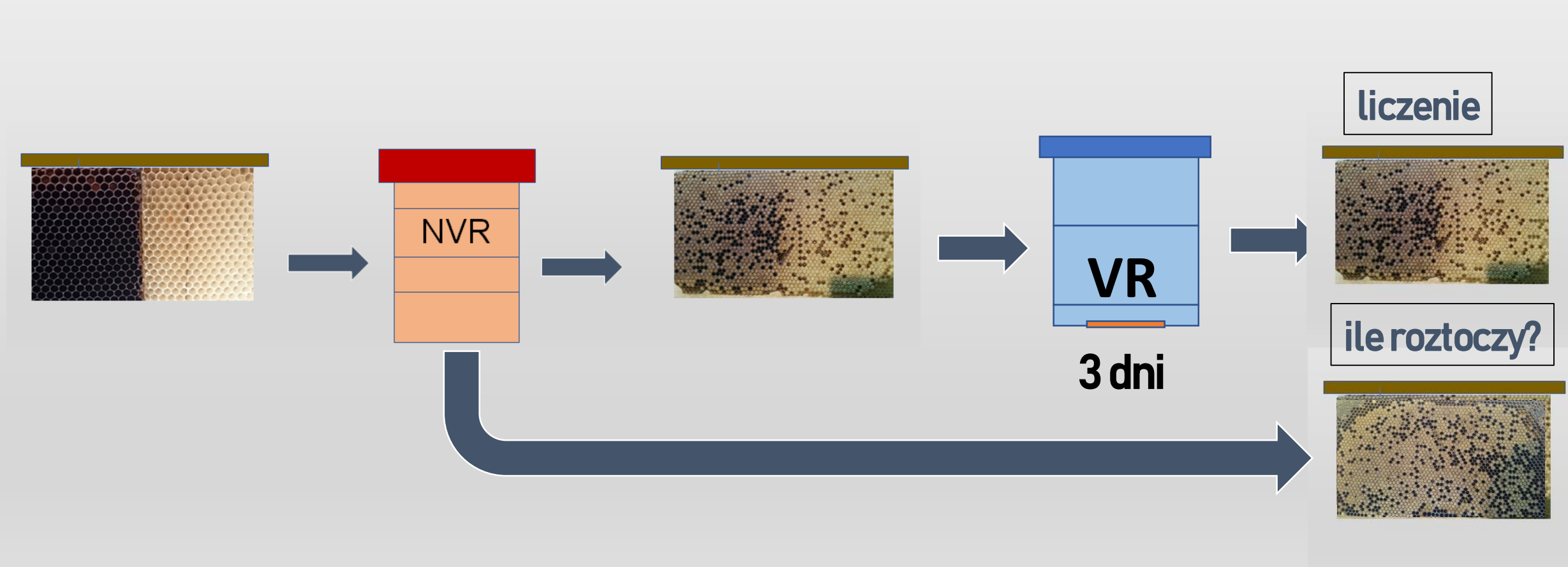


Eksperyment: czy varroa preferuje stare czy nowe plastry?



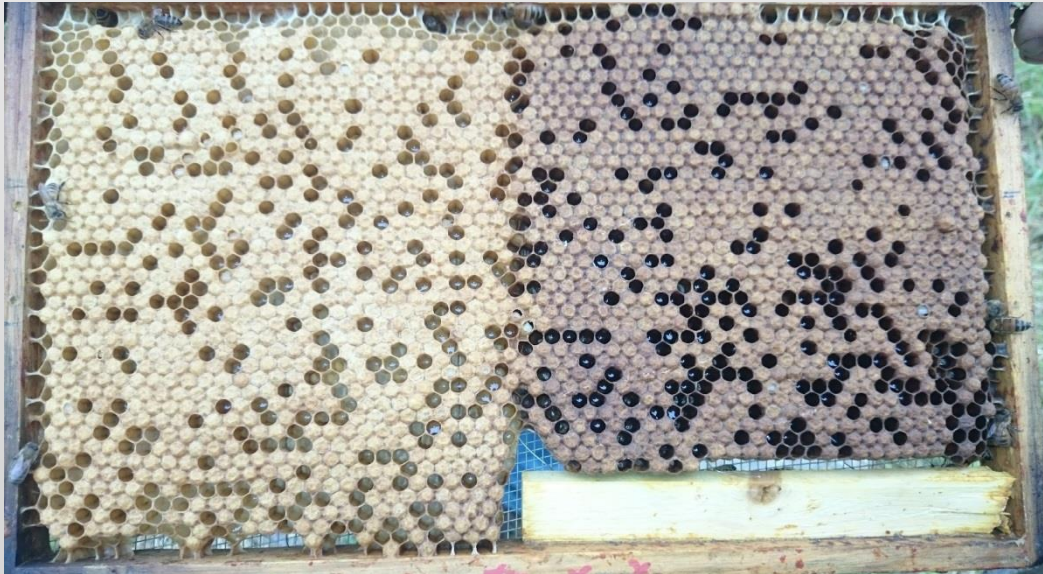
Eksperyment: Czy pszczoły VR znajdą roztocza bez względu na wiek plastra?

liczenie roztoczy po 3-dniowym pobycie plastrów w ulu VR



Eksperyment: Czy pszczoły VR znajdą roztoczy bez względu na wiek plastra?

liczenie roztocza po 3-dniowym pobycie plastrów w ulu VR



NOWY PLASTER

STARE PLASTER

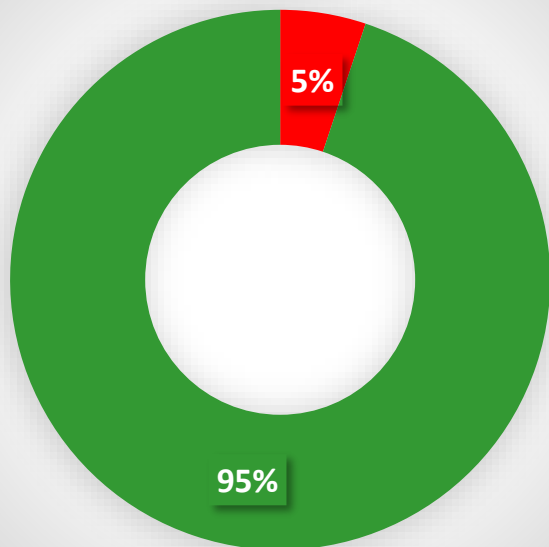


KONTROLA

Eksperyment: Czy pszczoły VR znajdą roztocza bez względu na wiek plastra?

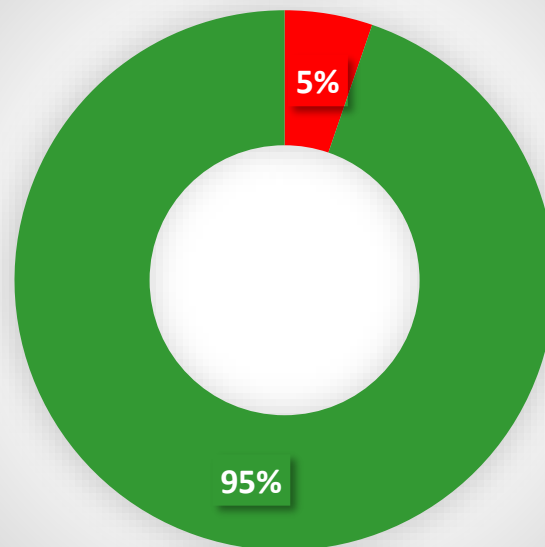
liczenie roztocza po 3-dniowym pobycie plastrów w ulu VR

STARE PLASTRY



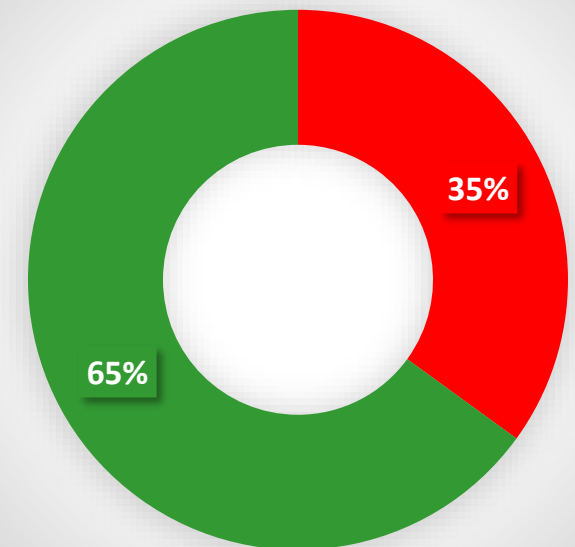
■ z varroa ■ bez varroa

NOWE PLASTRY



■ z varroa ■ bez varroa

KONTROLA



■ z varroa ■ bez varroa

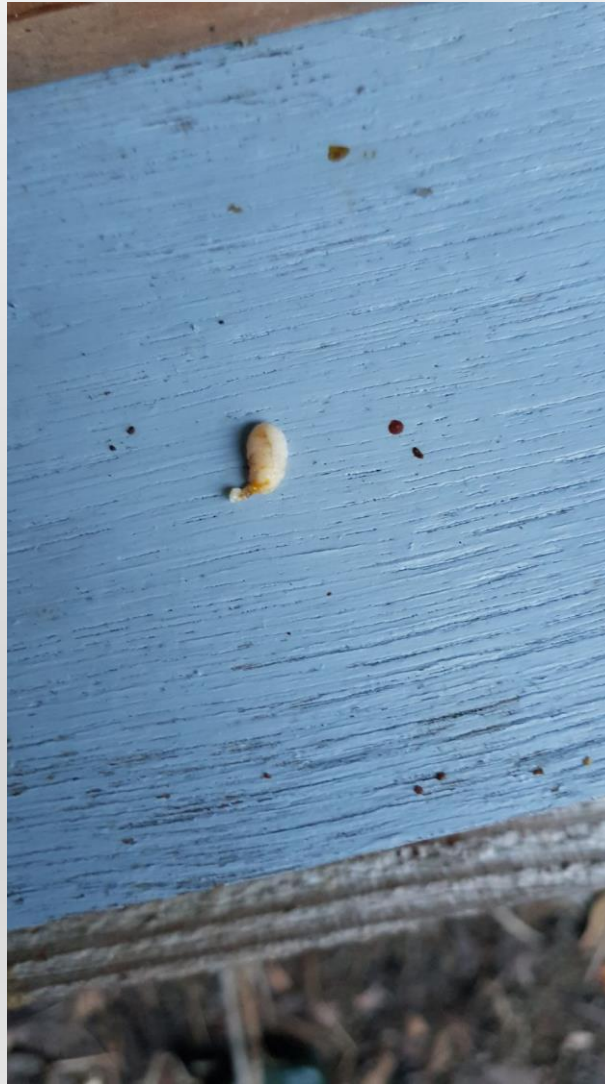
WNIOSKI Z EKSPERYMENTÓW:

1. **Zachowanie higieniczne: pszczoły VR**
 1. rozpoznają chore / martwe larwy pod zasklepem
 2. sprzątajają martwe larwy w mniej niż 12 godzin
 3. zachowanie grooming przy wylotku
 4. roztocza są często wyraźnie uszkodzone
2. Pszczoły VR otwierają i ponownie zamykają kryty czerw (recapping)
3. Pszczoły VR znajdą roztocza tak samo dobrze w nowych jak w starych plastrach.

7. widoczny zachowanie higieniczne



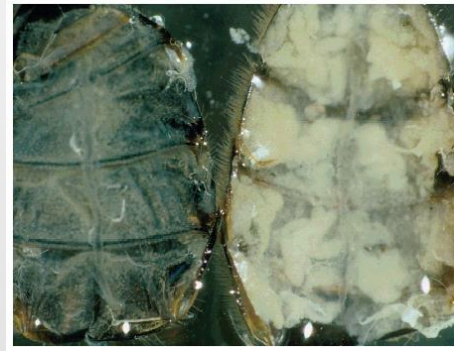
7. widoczne zachowanie higieniczne



części larw na wylotce



Varroa żywi się ciałem tłuszczowym



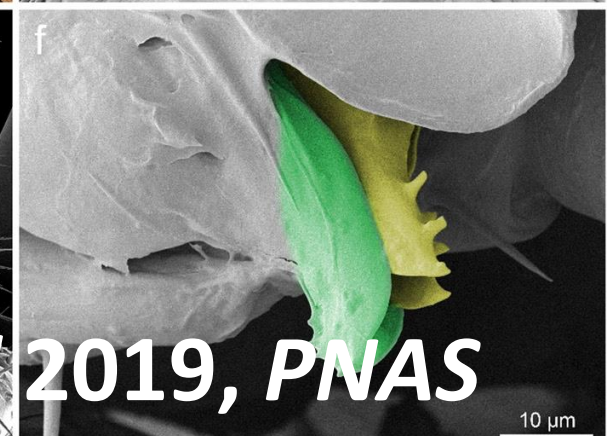
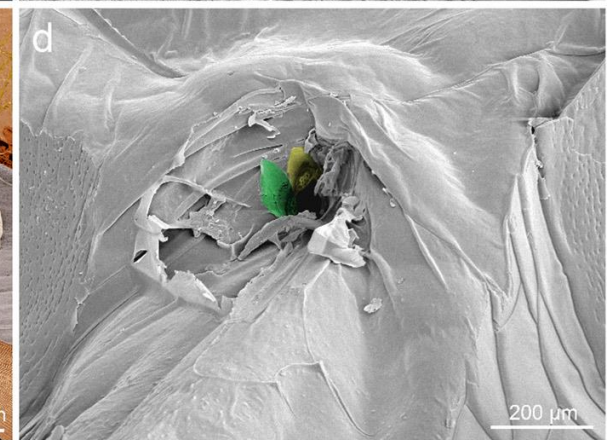
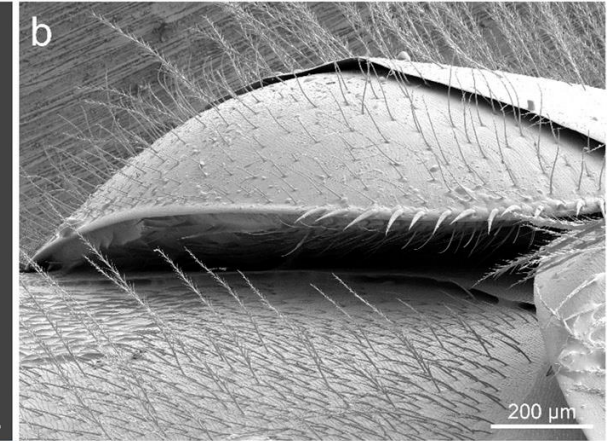
Ciało tłuszczowe:

zapas energii

odporność na choroby

Odtruwanie po pestycydach

Ważne w zimowli



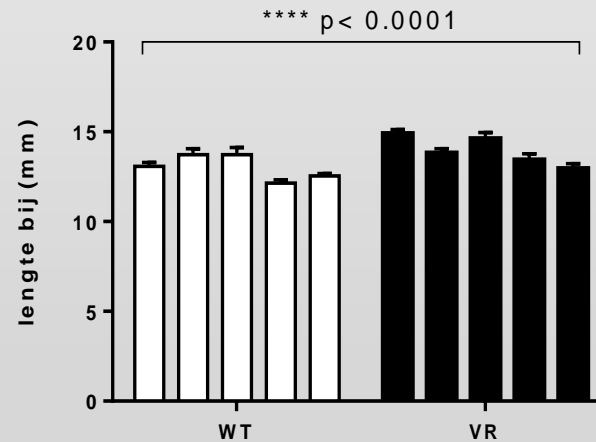
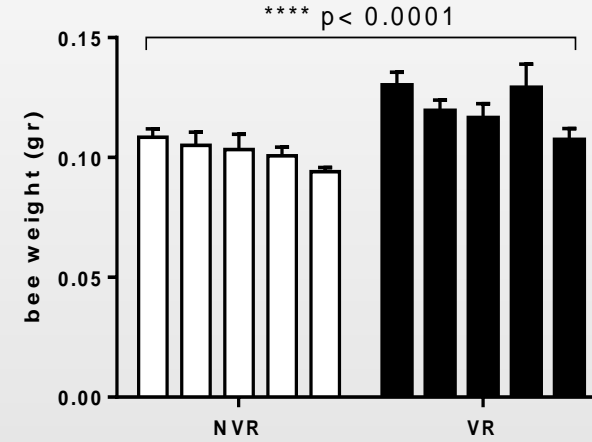
Ramsey *et al* 2019, PNAS

2. Pszczoły VR są większe



NVR

VR



Regular TWO-WAY ANOVA			
Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary
Interaction	2.235	0.5712	ns
Row Factor	9.336	0.0204	*
Column Factor	19.91	< 0.0001	****

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary
Interaction	6.930	0.0227	*
kast	26.56	< 0.0001	****
resistentie	14.44	< 0.0001	****

3. Jak reagują na roztocza?



3. Jak reagują na roztocza? VR



3. Jak reagują na roztocza? VR

VR



VR

3. Jak reagują na roztocza? NVR



Cechy pszczoł VR:

1. widoczne zachowanie higieniczne
2. pszczoły VR są większe i cięższe od innych
3. pszczoły VR mają wstręt do roztocza

Badania genetyczne

Można badać kawałek skrzydełka matki, aby stwierdzić czy ma geny VR

Dlaczego to takie ciekawe?

1. Dla naukowca: aby lepiej rozumieć jak VR działa
2. Dla hodowcy matek: łatwa kontrola czy matka jest VR, czy nie
3. Dla pszczelarza-praktyka: czy muszą leczyć rodzinę, czy jest VR



Literatura

Apis cerena Varroa resistance

T. Ji, L. Yin, Z. Liu, F. Shen and J. Shen, 2014, Genetics and molecular research High-throughput sequencing identification of genes involved with varroa destructor resistance in the eastern honeybee *Apis cerena*.

Apis mellifera syriaca: Varroa resistance

Next generation sequencing of *Apis mellifera* syriaca identifies genes for resistance and beneficial bee keeping traits, *Insect Science*, 2015

Grooming

Mollah Md. Hamiduzzaman¹ · Berna Emsen² · Greg J. Hunt³ · Subhashree Subramanyam⁴ · Christie E. Williams^{4,5} · Jennifer M. Tsuruda⁶ · Ernesto Guzman-Novoa, 2017, Behavioural genetics, Differential Gene expression associated with Honeybee Grooming behavior in response to varroa mites.

Hygienic behavior

Le conte Y, Alaux C, Martin JF, Harbo JR, Harris JW, Dantec C, Severac D, Cros-arteil S, Navajas M, 2011, *Insect molecular biology*, Social immunity in honeybees: transcriptome analysis of varroa hygienic behavior.

Gempe T, Stach S, Bienefeld K, Otte, M, Beye M, Behavioral and molecular studies of quantitative differences in hygienic behavior in honeybees. *BMC*, 2016

GWAS

Spötter A, Gupta P, Mayer M, Reinsch N, Bienefeld K, Genome wide association study of a varroa-specific defence behavior in honeybees, 2016, *Journal of heredity*



Selekcja rodzin odpornych na Varroa (VR)

- Stef Vleminckx -

Jak szukamy odpowiednich rodzin?

1. Zakup matek u innych hodowców Buckfast.



K1



K2



K3



K4



K5

Jak szukamy odpowiednich rodzin?

2. równoległe start odktądów → porównanie rozwoju.



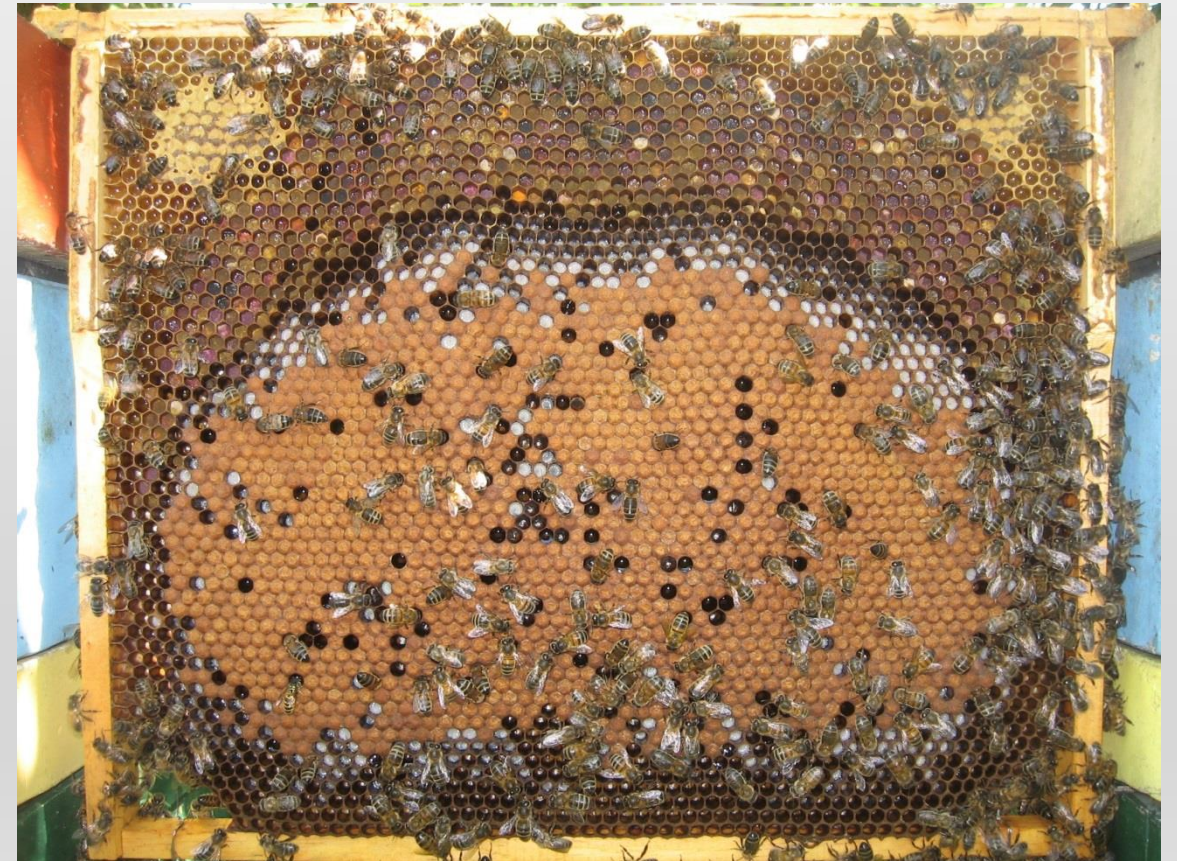
Jak szukamy odpowiednich rodzin?

3. Łagodność



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

4. układanie gniazda przez matkę i wpływ węzy



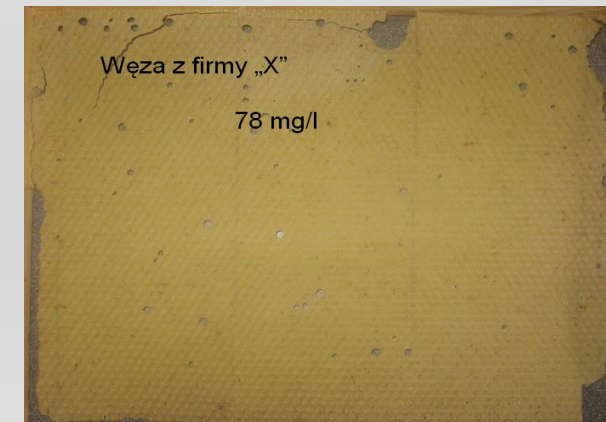
Jak szukamy odpowiednich rodzin?

4. układanie gniazda przez matkę i wpływ węzy



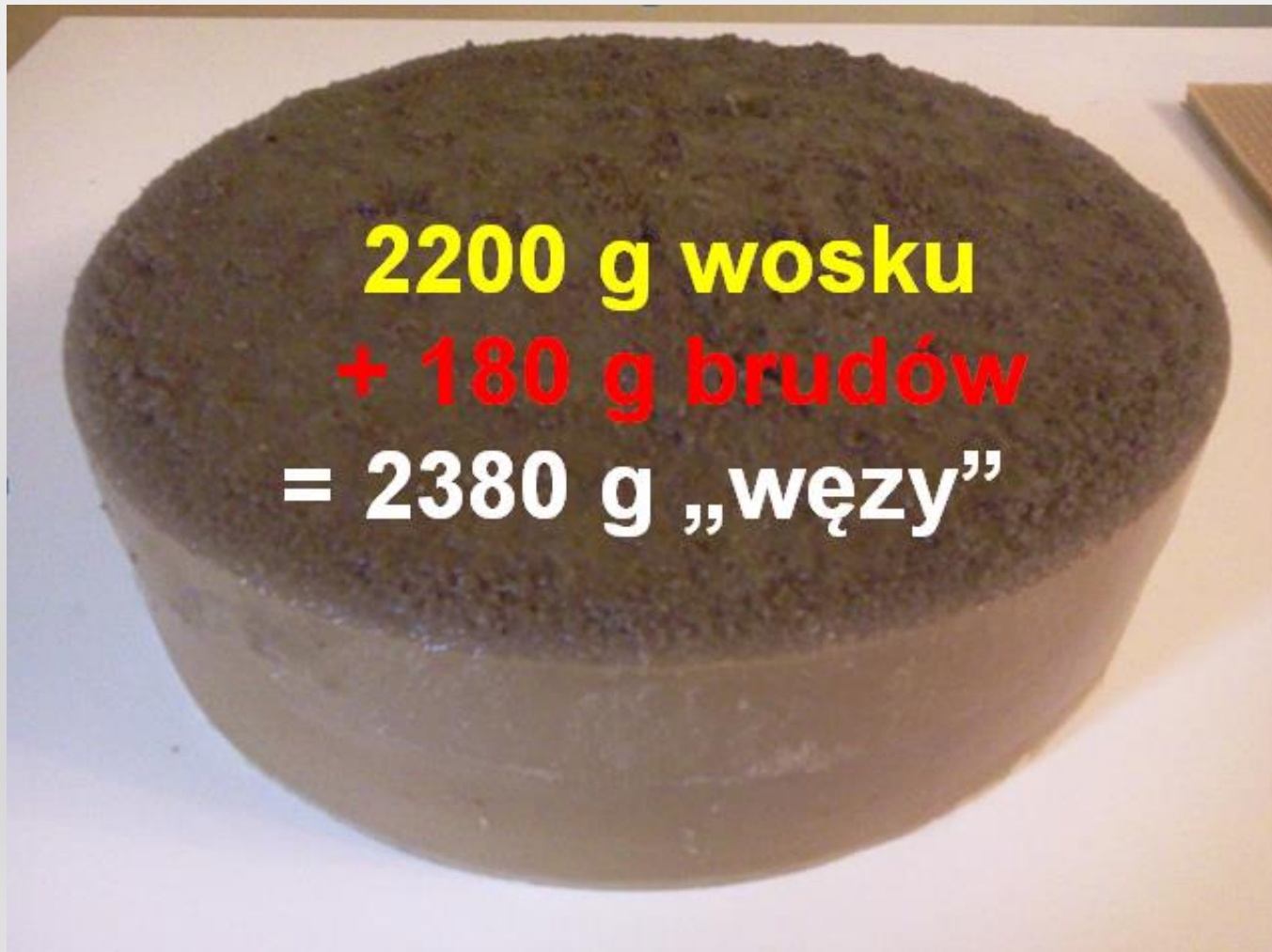
Jak szukamy odpowiednich rodzin?

4. układanie gniazda przez matkę i wpływ węzy



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

4. układanie gniazda przez matkę i wpływ węzy



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

5. Trzymanie się plastrów



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

6. Dynamika rozwoju rodzin



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

7. rojliwość



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

8. ilość i różnorodność pyłku



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

9. Ilość miodu



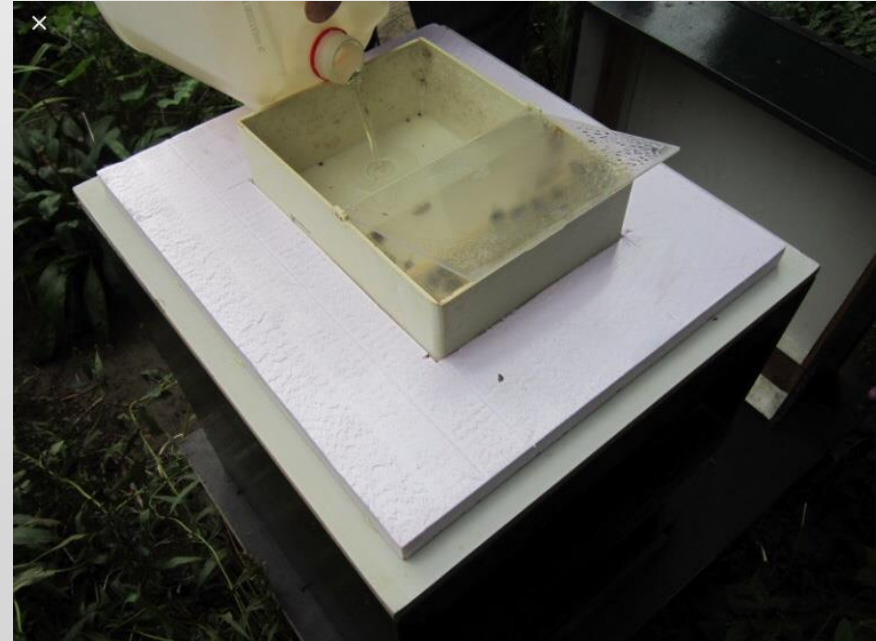
Jak szukamy odpowiednich rodzin?

10. Odkładanie propolisu



Jak szukamy odpowiednich rodzin?

11. Zimowanie





VR Projekty

1. **Polska – Peter Vanhoof, Krzysztof Jezierski, Erik Goris**
2. **Hodowla matek – Noël De Schrijver, Stef Vleminckx –**

1. Polska



1. Polska



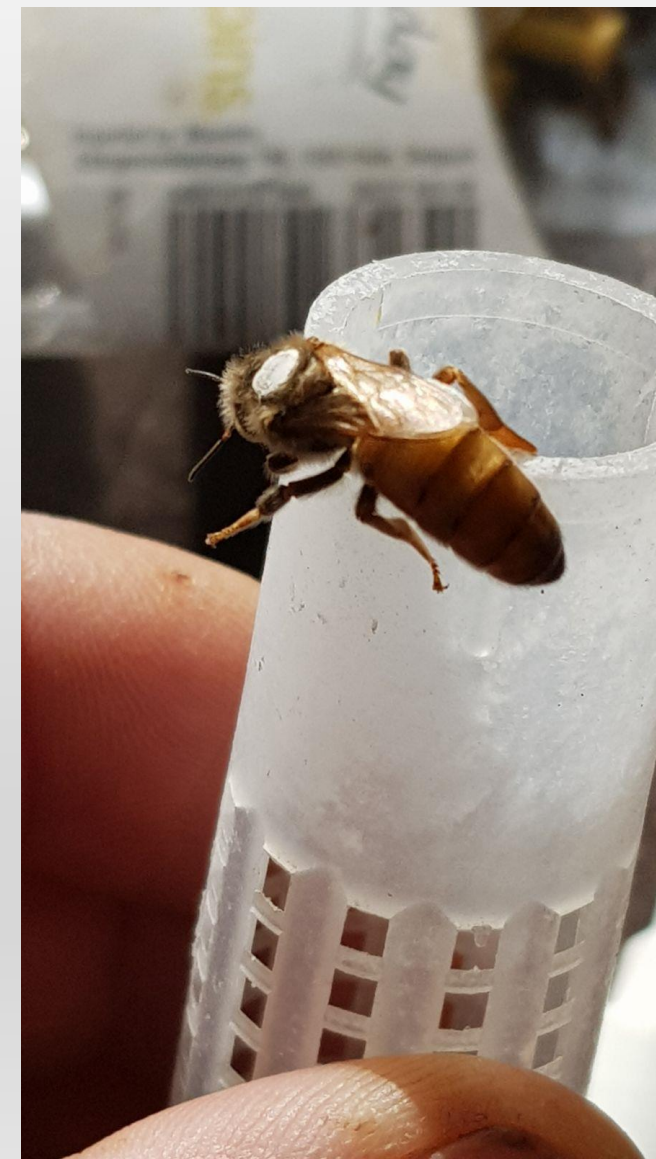
1. Polska: widzieliśmy recapping u polskich pszczół



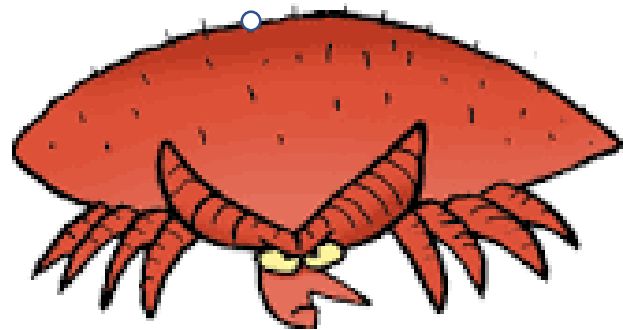
1. Polska: widzieliśmy uszkodzonych roztocza w Polsce



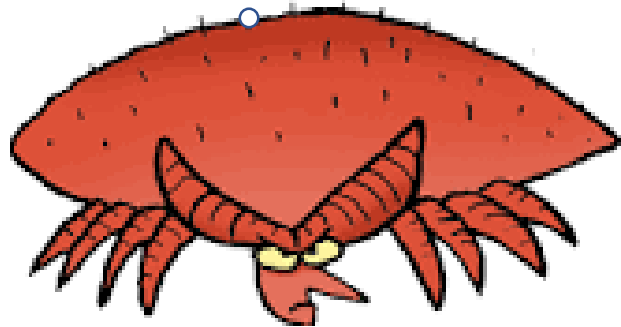
2. Hodowla matek



**świat jest dla
wytrwałych!**



**świat jest dla
wytrwałych!**



**pełna racja
chłopie!**





Buckfast Queens

Uw Buckfast koninginnen & bijen,
geselecteerd op **VARROA RESISTENTIE.**

Kontakt

- Peter Vanhoof
- Tel: 513 776 441
- organic.forest.pl@gmail.com