



BEE DOC

UE-projet sur la santé des abeilles

Septième programme-cadre (7e PC)

Prof. Dr. Dirk de Graaf



Septième programme-cadre (7e PC)
Alimentation, agriculture et pêche, et biotechnologie
PROJET DE COLLABORATION
FP7-KBBE-2009-3

La santé des abeilles: identification des parasites des abeilles et des maladies émergentes et ré-émergence de pathogènes et d'expliquer les mécanismes intimes et les raisons de la mortalité accrue des abeilles



Les détails des appels

Emergence de nouvelles ou ré-émergence de pathogènes bien connus, ainsi que les interactions avec des infections endémiques et le parasitisme, dans différentes régions d'Europe.

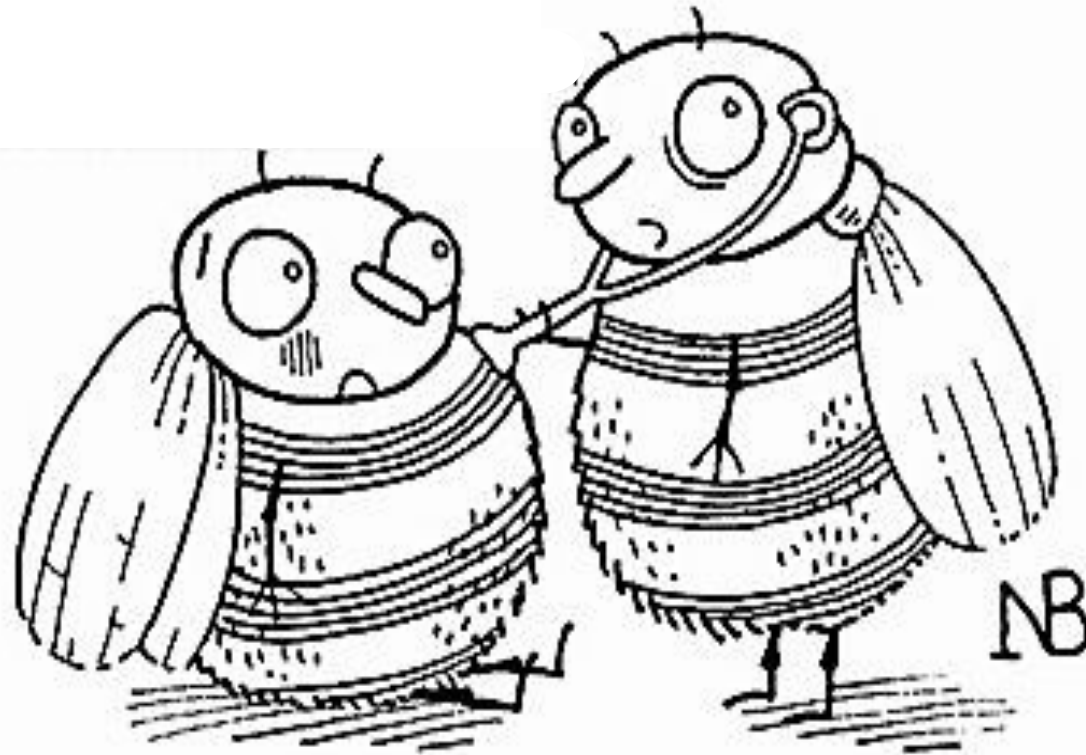
Connaissances en génomique du génome d'abeille et de certains agents pathogènes (comme les virus) sera utilisé pour différencier et d'explorer l'interaction hôte-pathogène.

Accent particulier sur la maladie Nosema (*N. apis* et *ceranae*), les virus et les répercussions de l'infestation par *Varroa destructor*.

Les facteurs environnementaux, y compris l'exposition chronique aux pesticides, ainsi que des pratiques d'élevage et de gestion.



BEE DOC



"You've got Hepatitis Bee."

BEes in Europe and the Decline Of Colonies



Les partenaires



- 1 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- 2 Queen's University Belfast
- 3 Sveriges Lantbruksuniversitet
- 4 Eidgenössisches Volkswirtschaftsdepartement
- 5 Institut National de la Recherche Agronomique
- 6 Universiteit Gent
- 7 Institut po organichna himiya s Centar po fitohimiya
- 8 Umeå Universitet
- 9 Universität Hohenheim
- 10 Consejo Superior de Investigaciones Cientificas
- 11 Slovenská Akadémia Vied

WP1 (forfait de travail 1) Les interactions entre plusieurs parasites et les pesticides dans les abeilles individuelles

WP2 Les interactions entre plusieurs parasites et les pesticides au niveau social

WP3 Réponses génomique à de multiples infections et des pesticides

WP4 Identification des gènes de résistance à *N. apis* et *N. ceranae*

WP5 Les outils de diagnostic

WP6 Surveillance des agents pathogènes dans les populations d'abeilles sélectionnées

WP7 Traitement et contrôle

WP8 Transfert aux intervenants responsables de la santé des abeilles



WP1 Les interactions entre plusieurs parasites et les pesticides dans les abeilles individuelles



on

Effect of

	bee	parasite	virus	pesticide
bee	+	-(?)	-(?)	?
parasite	-	?	?	?
virus	-	?	?	?
pesticide	-	?	?	?



WP1 Les interactions entre plusieurs parasites et les pesticides dans les abeilles individuelles



on

Effect of

	bee	Nosema Varroa	DWV BQCV	Fluvalinate Thiacloprid
bee	+	-(?)	-(?)	?
Nosema Varroa	-	?	?	?
DWV BQCV	-	?	?	?
Fluvalinate Thiacloprid	-	?	?	?



Journal of Invertebrate Pathology 106 (2011) 380–385



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Invertebrate Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jip



Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*)

Cédric Alaux^{a,*}, Morgane Folschweiller^a, Cynthia McDonnell^a, Dominique Beslay^a, Marianne Cousin^b,
Claudia Dussaubat^a, Jean-Luc Brunet^b, Yves Le Conte^a

^a INRA, UMR 406 Abeilles et Environnement, Laboratoire Biologie et Protection de l'abeille, Site Agroparc, Domaine Saint-Paul, 84914 Avignon, France

^b INRA, UMR 406 Abeilles et Environnement, Laboratoire de Toxicologie Environnementale, Site Agroparc, Domaine Saint-Paul, 84914 Avignon, France

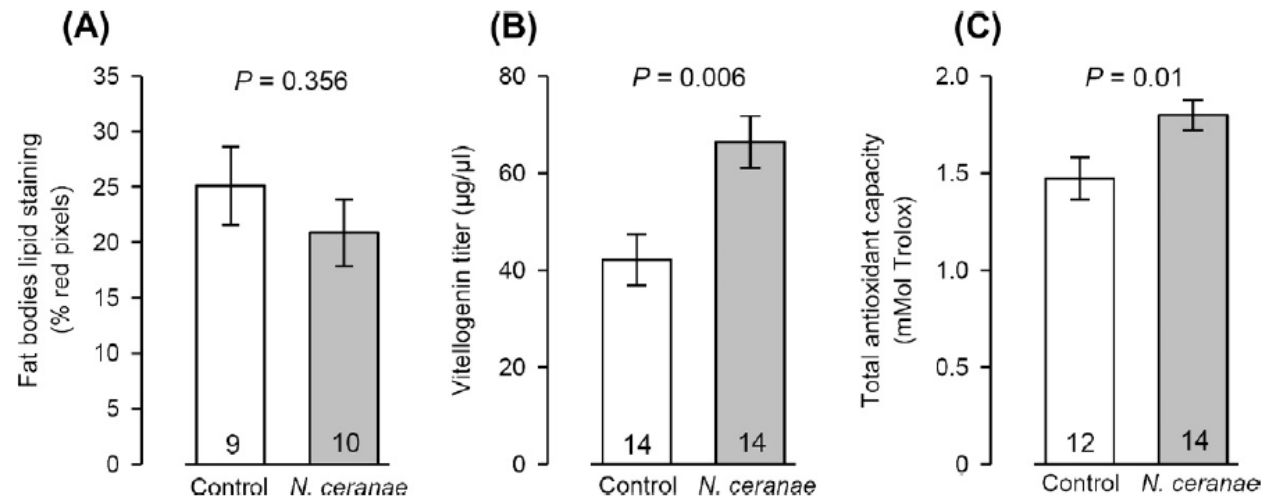


Fig. 1. Pathological effects of *N. ceranae* on different queen physiological parameters (mean ± SE). The levels of lipid store in the fat bodies (A), Vg titer in hemolymph (B) and total antioxidant capacities in the whole abdomen (C) between control and infected queens were compared using Mann-Whitney U tests. Sample size is indicated in each bar.

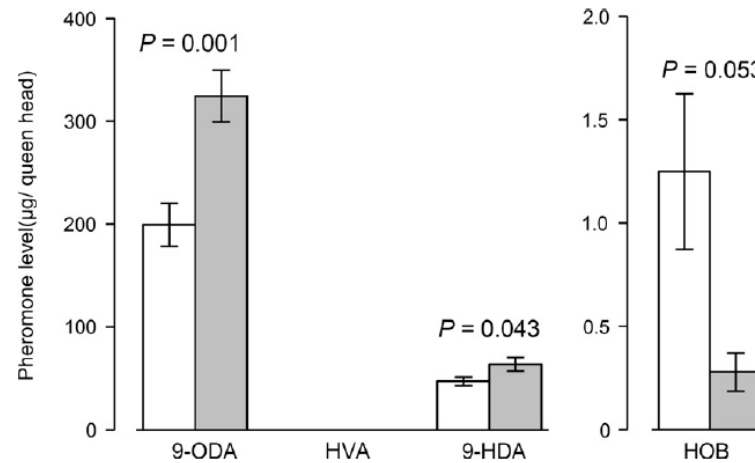


Fig. 2. Pathological effects of *N. ceranae* on QMP levels in queen heads (mean ± SE). The levels of 9-ODA, HVA 9-HDA and HOB (µg/head) between control (n = 9, white bar) and infected queens (n = 10, gray bar) were compared using Mann-Whitney U tests.



Nous avons constaté que l'infection par *N. ceranae* ne concerne pas le contenu de graisse du corps (un indicateur des réserves d'énergie), mais modifie le titre de vitellogénine (un indicateur de la fertilité et la longévité), la capacité antioxydante totale et les phéromones mandibulaires, qui ont été étonnamment tous significativement augmenté dans *Nosema* infectés reines. Ainsi, ces changements physiologiques pouvant affecter la santé de la reine, conduisant à des changements dans la production de phéromones, qui pourrait expliquer *Nosema* induite supersédure (remplacement de la reine).

Bien que légèrement diminué dans la reine infectées après une semaine, la teneur en lipides dans les corps gras (indicateur de l'état nutritionnel) n'était pas différent de contrôle des reines, ce qui suggère que les reines pourrait être en mesure de compenser le stress nutritionnel induit par *Nosema* en augmentant leur demande alimentaire à travailleurs et donc leur consommation alimentaire.



J Chem Ecol (2010) 36:522–525
DOI 10.1007/s10886-010-9786-2

RAPID COMMUNICATION

***Nosema* spp. Infection Alters Pheromone Production in Honey Bees (*Apis mellifera*)**

**Claudia Dussaubat • Alban Maisonnasse •
Cedric Alaux • Sylvie Tchamitchan • Jean-Luc Brunet •
Erika Plettner • Luc P. Belzunces • Yves Le Conte**

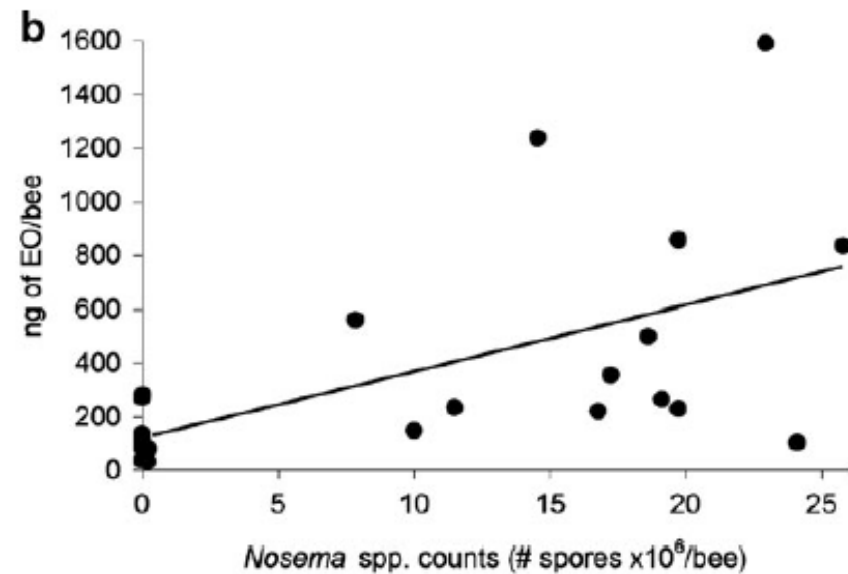
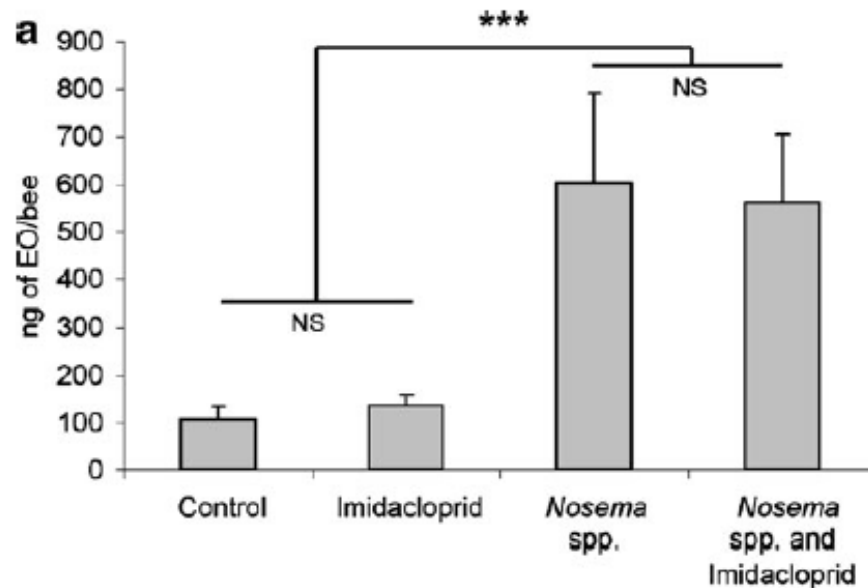


Fig. 1 Effect of *Nosema* infection and/or imidacloprid exposure on EO production in honey bee workers. **a** EO level for each experimental group. Two pools of 5 bees per cage were analyzed, with 2 cages per treatment. The experiment was replicated on 3 colonies giving a total of $N=60$ bees per treatment. Treatment and colony effects were determined by using two-way ANOVA on log-transformed values followed by Fisher *post-hoc* tests. There was a significant treatment effect on EO production ($F_{3,47}=17.35$, $P<0.001$). Bees infected with *Nosema*, with or without an exposure to imidacloprid, had a higher level of EO than control and imidacloprid-exposed bees ($P<0.001$ for each comparison). However,

imidacloprid did not affect EO production (control vs. imidacloprid-exposed bees: $P=0.81$; or *Nosema*-infected bees vs. *Nosema*-infected and imidacloprid-exposed bees: $P=0.14$). There also was a significant effect of colony origin ($F_{2,47}=4.59$, $P=0.017$), but no significant interaction with the treatments was found ($F_{6,95}=0.88$, $P=0.52$) thus demonstrating a consistent effect of the treatments. Data show mean \pm SE. *** and NS denote significant ($P<0.001$) and non-significant differences between treatments, respectively. **b** Relation between EO production and the level of *Nosema* infection. There was a significant positive correlation between the quantity of EO produced and the number of *Nosema* spores infecting bees ($r=0.58$, $P<0.005$, $N=24$)

EO: ethyl oleate (inhibe la transition d'abeilles infirmières vers butineuses)



On pourrait s'attendre à ce que l'infection *Nosema* induit un coût à la production de phéromones. Contrairement à cette attente, abeilles parasitées produit plus EO que ceux en bonne santé. Depuis, l'OT est présente à des niveaux plus élevés dans les butineuses par rapport pour les infirmières (Leoncini et al. 2004), et parce que *Nosema* provoque un début précoce de butinage (Wang et Moeller 1970), l'augmentation de l'OT pourrait refléter un profil d'butineuse abeilles infectées par rapport au contrôle des abeilles.

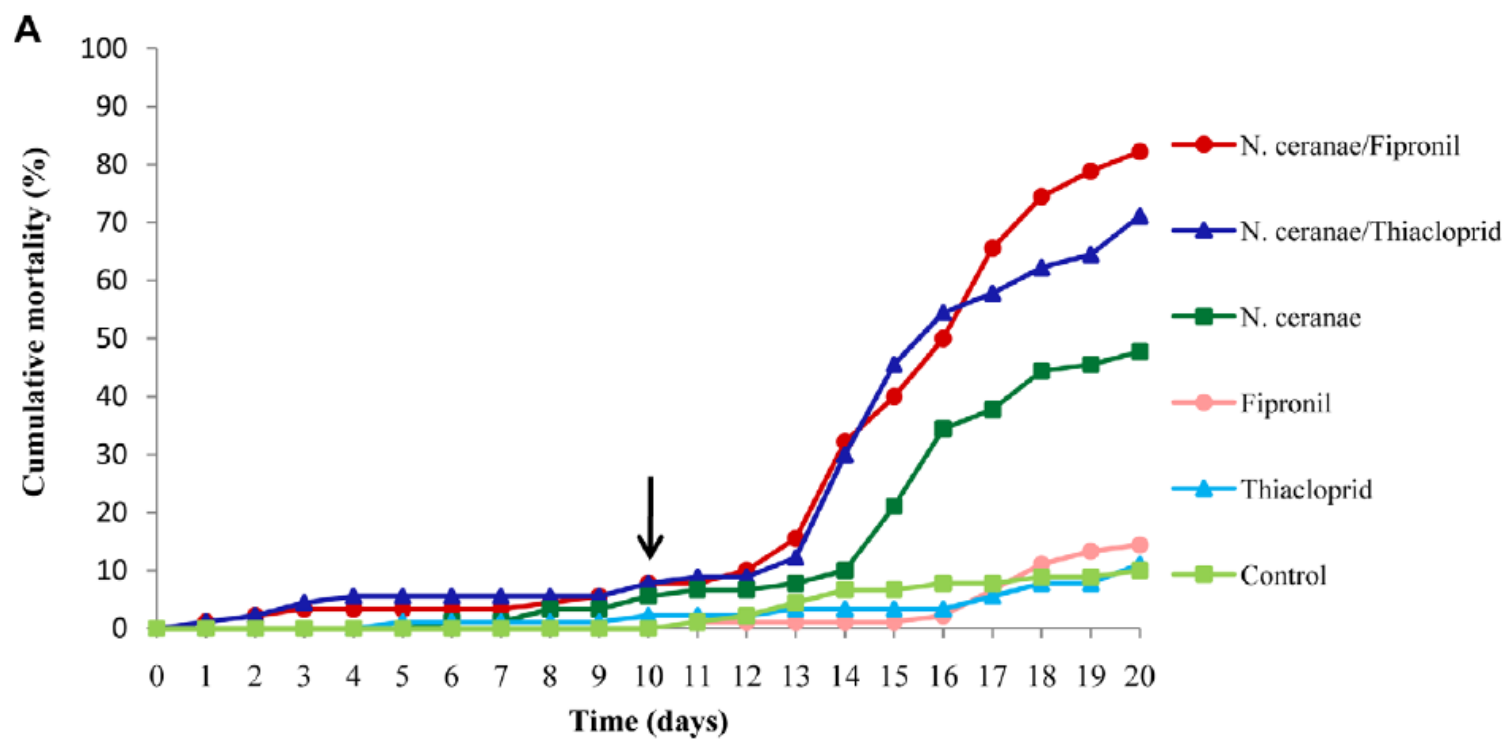


OPEN ACCESS Freely available online

 PLOS one

Exposure to Sublethal Doses of Fipronil and Thiacloprid Highly Increases Mortality of Honeybees Previously Infected by *Nosema ceranae*

Cyril Vidau^{1,2}, Marie Diogon^{1,2}, Julie Aufauvre^{1,2}, Régis Fontbonne^{1,2}, Bernard Viguès^{1,2}, Jean-Luc Brunet³, Catherine Texier², David G. Biron^{1,2}, Nicolas Blot^{1,2}, Hicham El Alaoui^{1,2}, Luc P. Belzunces³, Frédéric Delbac^{1,2*}





environmental
microbiology



Environmental Microbiology (2010) 12(3), 774–782

doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x

Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*)

Cédric Alaux,^{1*} Jean-Luc Brunet,²
Claudia Dussaubat,¹ Fanny Mondet,²
Sylvie Tchamitchan,² Marianne Cousin,²
Jullien Brillard,³ Aurelle Baldy,¹ Luc P. Belzunces²
and Yves Le Conte¹

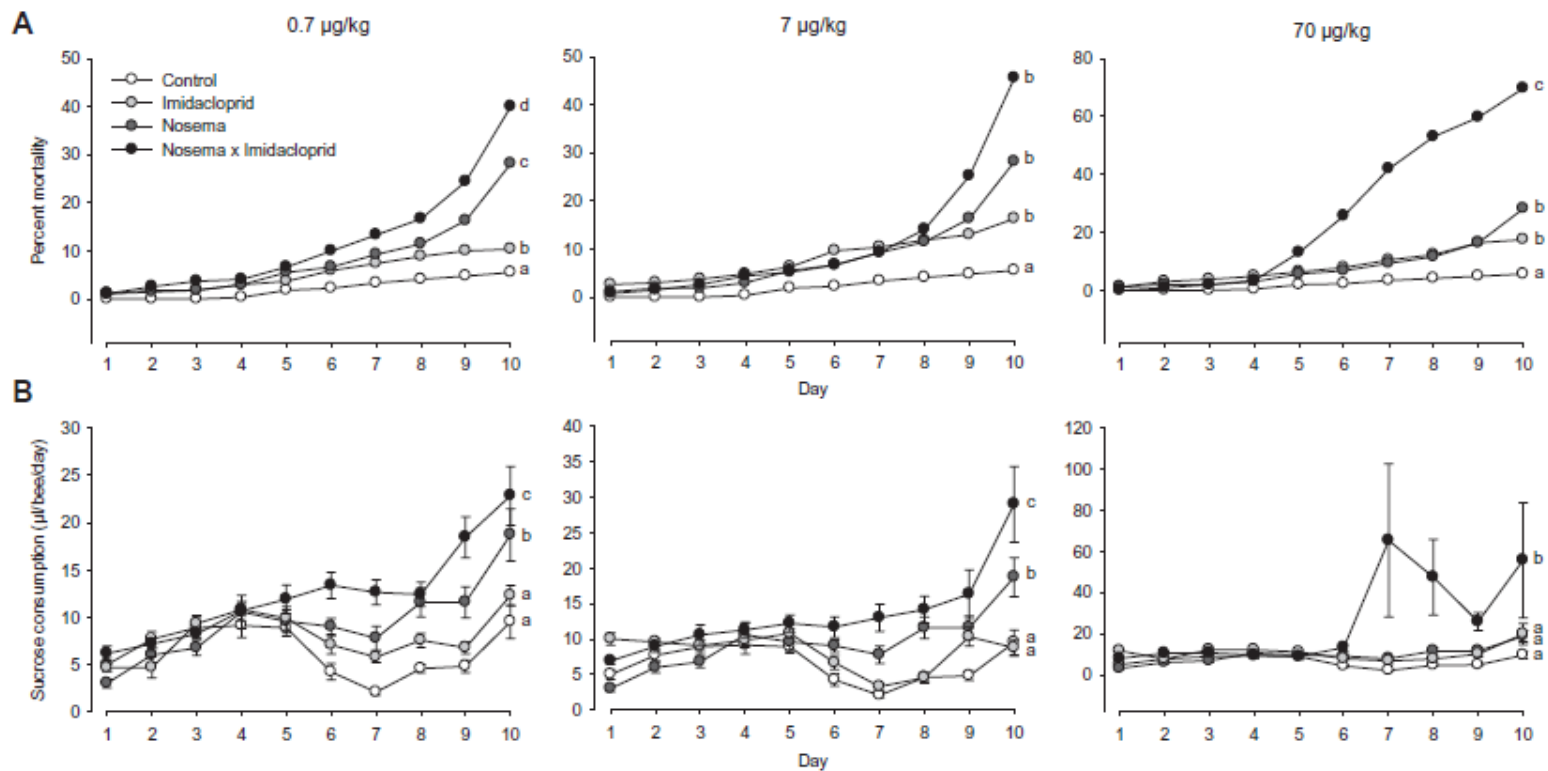


Fig. 1. Effect of *Nosema* infection and/or exposure to imidacloprid on bee mortality and energetic demands.

A. Effect on mortality. Mortality is expressed as the percentage of cumulated number of dead bees per cage and per day ($n = 270$ bees).

Three colonies were analysed, with three cage replicates for each colony ($n = 30$ bees per cage). Each letter indicates significant differences between treatments ($P < 0.05$).

B. Effect on energetic demand. Sucrose consumption is expressed as the amount of sucrose solution (50% w/v, *ad libitum* delivery) consumed per day and per bee ($n = 30$ bees per cage) during the 10 h of treatment. The same cages as in A were analysed. Each letter indicates significant differences between treatments ($P < 0.05$).



Phénoloxydase joue un rôle central dans la réaction de l'immunité invertébré, d'être impliqué dans l'encapsulation de corps étranger par la mélanisation (Decker et Jaenicke, 2004). Hémocytes totale comptent donne une mesure indirecte de base cellulaires immunocompétence et est impliqué dans le processus tels que la phagocytose et l'encapsulation d'un parasite (Tanada et Kaya, 1993).

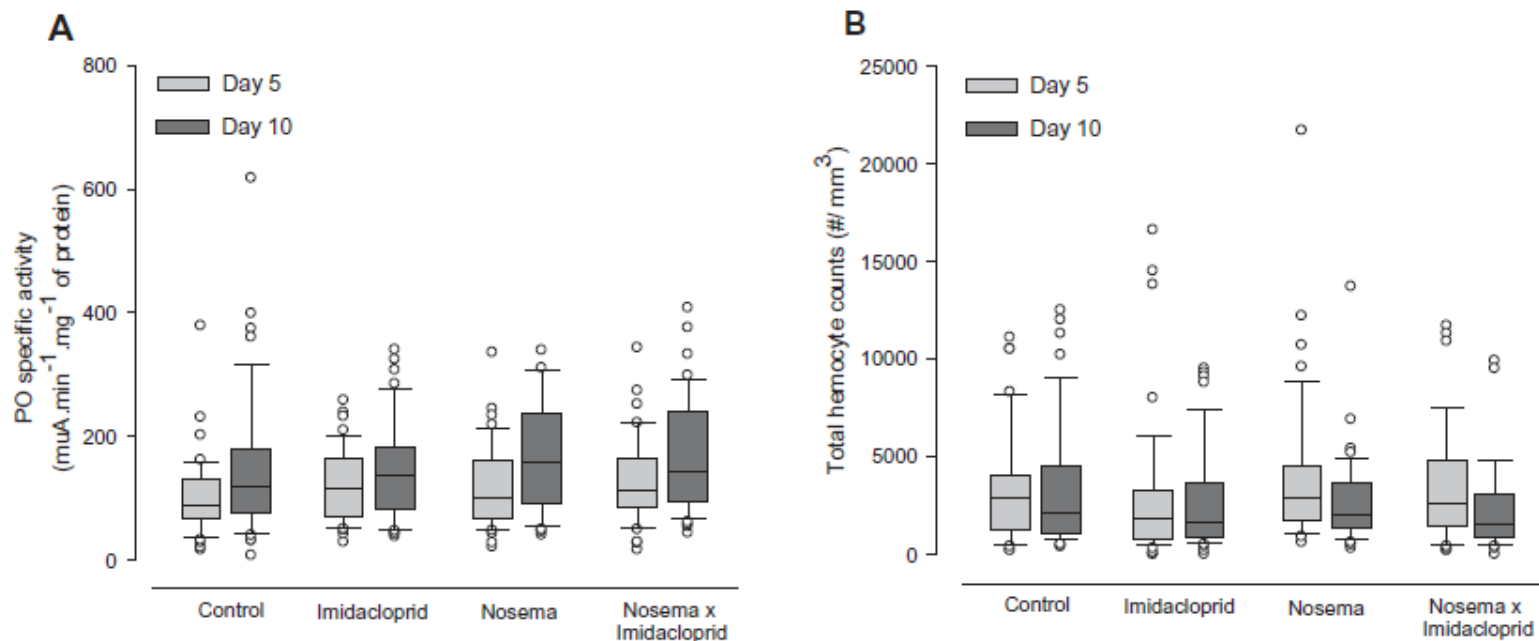


Fig. 3. Effect of *Nosema* infection and/or exposure to imidacloprid on individual immunity.

A. Total haemocyte counts at days 5 and 10 on seven to eight bees per cage for each experimental group ($n = 373$ bees).

B. Phenoloxidase activity at days 5 and 10 in eight bees per cage for each experimental group ($n = 384$ bees). For each parameter, three colonies were analysed, with two cage replicates for each colony. Boxes show 1st and 3rd interquartile range with line denoting median.

Whiskers encompass 90% of the individuals, beyond which each outliers are represented by circles.



Enfin la glucose oxydase, (GOX) activité enzymatique a été analysée comme un paramètre de l'immunité sociale. Principalement exprimée dans le hypopharynx glandes (HPGs) (Ohashi et al., 1999), GOX catalyse la l'oxydation de la β -D-glucose en D-gluconique et de l'hydrogène peroxyde, ce dernier ayant des propriétés antiseptiques (White et al., 1963). Les produits antiseptiques sont sécrétés dans la nourriture des larves (Sano et al., 2004) et dans le miel (White et al, 1963; Ohashi et al, 1999) qui contribue à la stérilisation de l'alimentation de colony et donc à la prévention des maladies.

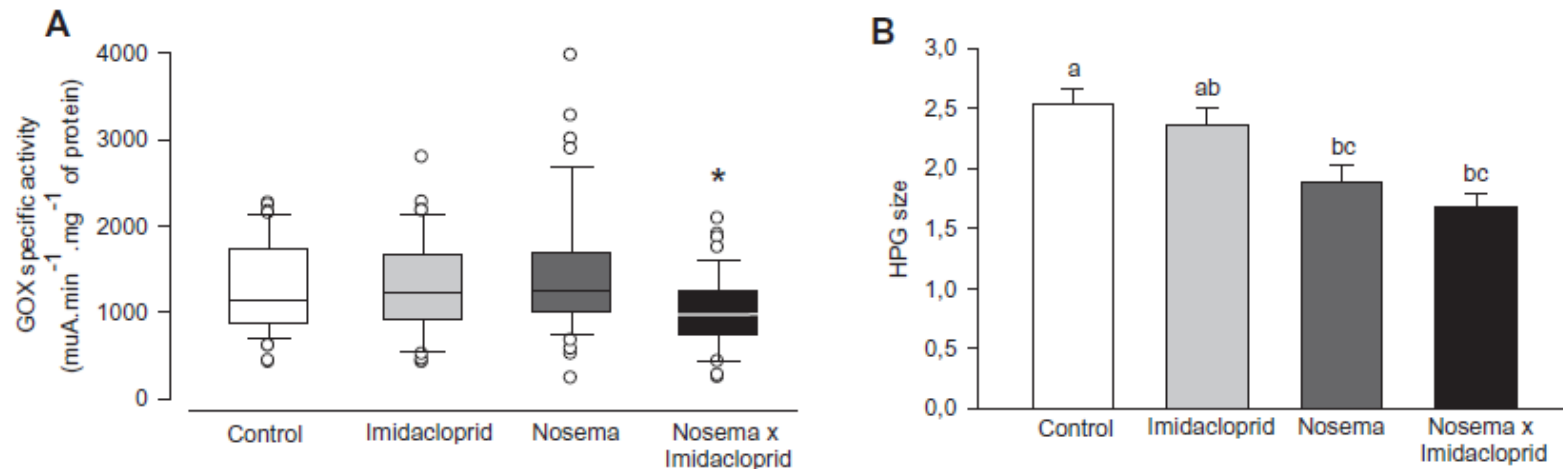


Fig. 4. Effect of *Nosema* infection and/or exposure to imidacloprid on social immunity.

A. Glucose oxidase activity at day 10 on eight bees per cage for each experimental group ($n = 192$ bees). Boxes show 1st and 3rd interquartile range with line denoting median. Whiskers encompass 90% of the individuals, beyond which each outliers are represented by circles. *denotes significant difference between *Nosema* \times imidacloprid groups and the three others groups ($P < 0.05$).

B. HPG size at day 10 in seven to eight bees per cage for each experimental group ($n = 191$ bees). For each parameter, three colonies were analysed, with two cage replicates for each colony. The size was indexed from 1 to 5 (see *Experimental procedures*). Each letter indicates significant differences between treatments ($P < 0.05$). Data show mean \pm SE.



En quantifiant la force de l'immunité à la fois au niveau individuel et social, nous avons montré que ni le nombre des hémocytes ni l'activité phénoloxydase des individus a été affectée par les différents traitements. Toutefois, l'activité de glucose oxydase, qui permet aux abeilles de stériliser la colonie et la nourriture de couvain, a été significativement diminuée que par le combinaison des deux facteurs par rapport au contrôle, Nosema ou groupes imidaclopride, suggérant un effet synergique de l'interaction et à long terme, une plus grande susceptibilité de la colonie d'agents pathogènes. Ceci fournit la premières évidences que l'interaction entre un agent infectieux et un produit chimique peut également menacer les pollinisateurs, interactions qui sont largement utilisés pour éliminer les parasites dans la lutte antiparasitaire intégrée.

WP2

Les interactions entre plusieurs parasites et les pesticides au niveau social



Task 1 (tâche 1)

Développer des systèmes de test colonie.

Task 2

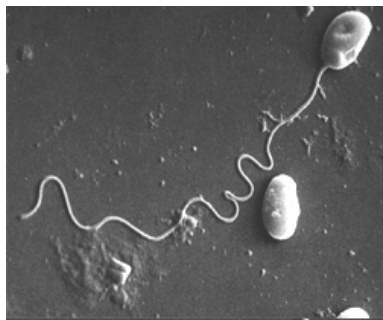
Traitements de Varroa & Nosema des colonies traités par des pesticides.

Task 3

Tests comportementaux (behavioral) d'abeilles adultes venant de la colonie de test.

Task 4 Le diagnostic des virus non-cibles (non-target) dans la colonie de test.

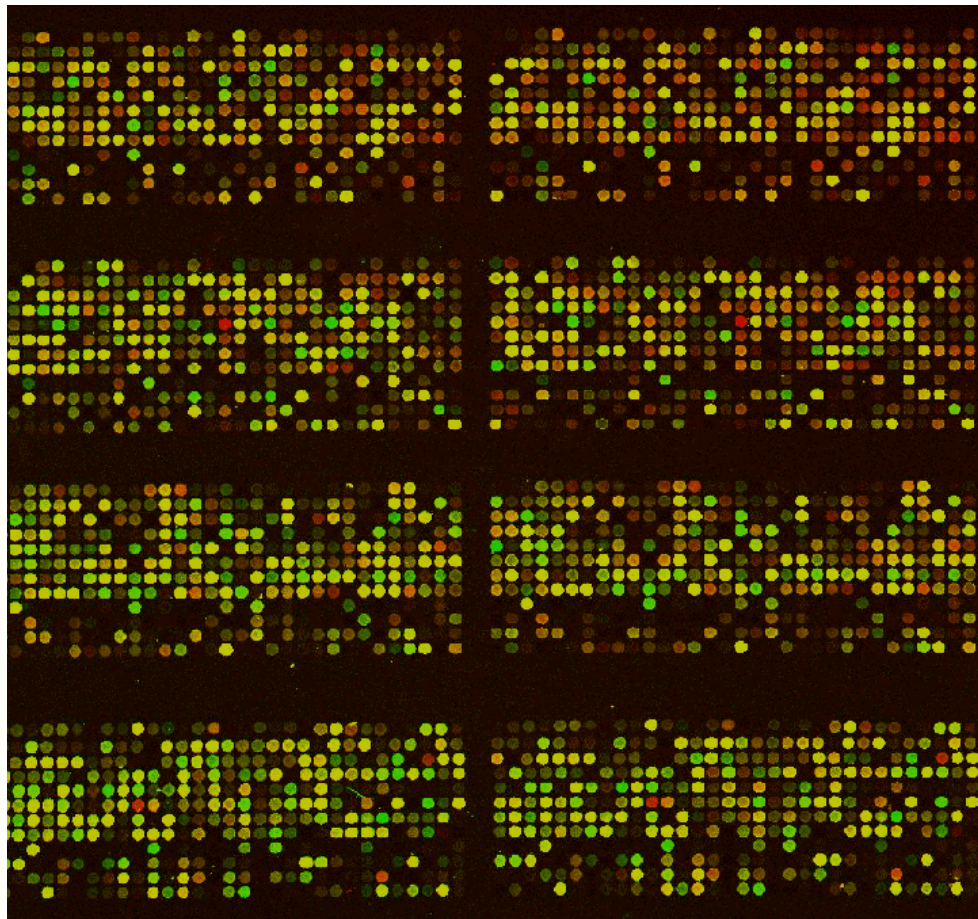
Task 5 Surveillance Pan-européen de la Nosema.





WP3 Réponses genomic à de multiples infections et des pesticides

Réponses à l'expression des gènes contre le Varroa, les pathogènes et les pesticides seront étudiés en utilisant des puces ADN (microarray) sur les abeilles testées par WP1 et WP2.



Puces ADN avec 13440 genes



Social immunity in honeybees (*Apis mellifera*): transcriptome analysis of varroa-hygienic behaviour

Y. Le Conte^{*¶}, C. Alaux^{*¶}, J-F. Martin[†], J. R. Harbo[‡],
J. W. Harris[‡], C. Dantec[§], D. Séverac[§],
S. Cros-Arteil[†] and M. Navajas[†]



Résumé

Les abeilles ont développé une immunité sociale composée de la coopération des individus à diminuer les maladies dans la ruche. Nous avons identifié un ensemble de gènes impliqués dans cette immunité sociale par l'analyse des transcriptomes du cerveau venant d'abeilles de haute-varroa hygiène, qui efficacement détectent et suppriment le couvain infecté avec l'acarien *Varroa destructor*. La fonction de ces gènes candidats ne semblent pas soutenir une sensibilité olfactive plus élevée chez les abeilles d'hygiène, comme précédemment hypothèse. Cependant, en comparant leur profil génomique avec ceux d'autres comportements suggère un lien avec les soins du couvain et les abeilles africanisées très-varroa hygiénique. Ces résultats représentent une première étape vers l'identification de gènes impliqués dans l'immunité sociale et donc de fournir un premier aperçu l'évolution de l'immunité sociale.



Table 4. Overlap between the varroa-sensitive hygiene (VSH) and other behavioural gene sets

Oligo ID	Foraging bee	Vibrating bee	QMP	BP	Alarm pheromone	AHB guard	AHB soldier	AHB forager
AM01773	Down							Up
AM02265								
AM01177		Down					Down	
AM01915		Down				Down	Down	
AM02211								
AM04119								
AM05646								
AM01622								
AM00808								
AM02131			Down				Up	
AM03470	Up	Up		Up				
AM01666								
AM09325						Down	Down	
AM01607								
AM07547	Up	Up	Up				Up	
AM12206		Up	Down		Up			
AM01085	Down	Up						
AM02392				Down	Up	Down	Down	Down
AM03333		Up		Up			Up	
AM03972			Down					
AM05381	Up	Down			Up	Up	Down	
AM00612								
AM09032								
AM00604								
AM00955		Up					Down	
AM06645								
AM12005								
AM03226							Up	
AM06202			Up					
AM10277								
AM02039				Up		Up		
AM00103				Up				
AM00166			Up					Up
AM04590			Up					
AM01535							Down	
AM01750				Up				Up
AM01173								
AM00167							Up	Up
AM01360		Up	Up	Up		Up		

The upper and lower part of the table shows probes that are up- and down-regulated in VSH+ bees, respectively. 'Up' and 'Down' indicate whether probes are up- or down-regulated in the corresponding behavioural phenotype. AHB, Africanized honeybees; BP, brood pheromone; QMP, queen mandibular pheromone.



Alaux *et al.* *BMC Genomics* 2011, **12**:496
<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/496>



RESEARCH ARTICLE

Open Access

Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees

Cédric Alaux^{1*}, Christelle Dantec², Hughes Parrinello² and Yves Le Conte¹



Résumé

En comparant le transcriptome des abeilles nourries avec du pollen et de sucre et abeilles limitées à un régime avec du sucre, nous avons constaté que le pollen déclenche la détection des nutriments (nutrient-sensing) et de voies métaboliques. De plus, ces nutriments ont une influence positive sur les gènes influents sur la longévité et la production de certains peptides antimicrobiens. Toutefois, le parasitisme varroa causé le développement des populations virales et une diminution de le métabolisme, en particulier par le métabolisme des protéines inhibant essentiel à la santé des abeilles. Cet effet nocif n'a pas été renversée par apport de pollen.



WP4 Identification of genes for resistance to *N. apis* and *N. ceranae*



Tasks 1-3 l'utilisation des faux-boudon haploïdes pour la cartographie par QTL des gènes majeurs de résistance vers Nosema

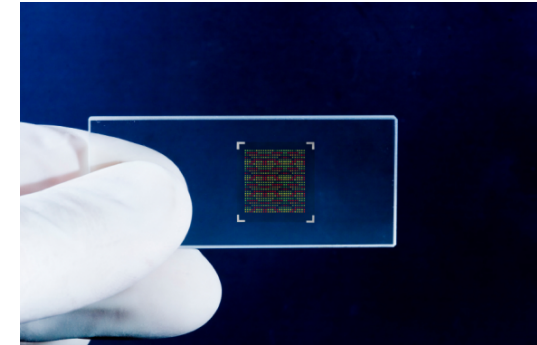
Task 4 comfirm expression de gènes candidats chez les travailleurs

Task 5 confirment gènes candidats avec des ARNi dans les abeilles et les 'knockouts' chez la drosophile

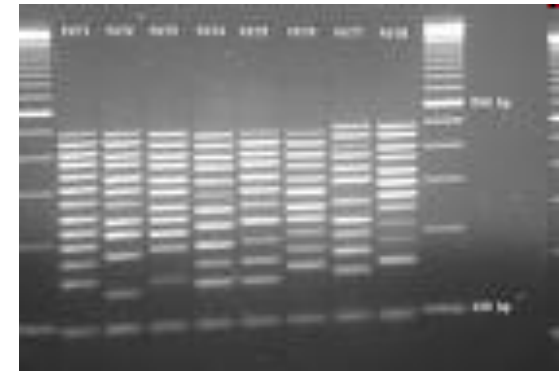
WP5 Les outils de diagnostic



Task 1
Diagnostic au base des puces ADN
(Research grade)

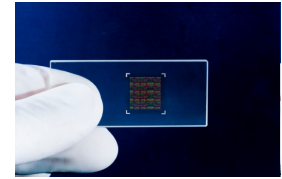


Task 2
Quantification des virus d'abeilles et de l'activité de détoxification par un outil PCR multiplex
(Extension grade)



Task 3
Delevopment du diagnostic qualitatif des infections virales au base d'un bâton *(Field grade)*





Task 1 Diagnostic au base des puces ADN (Research grade)

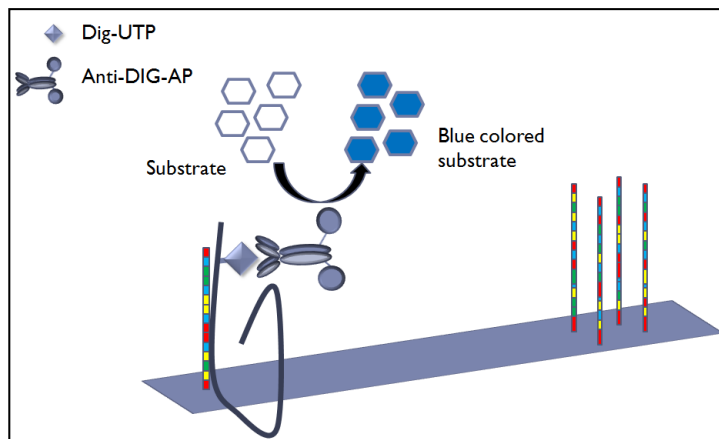
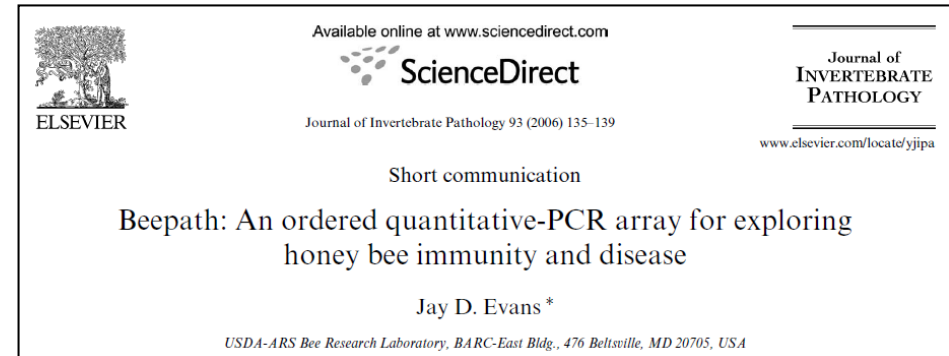


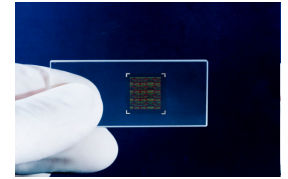
Objectives:

- simultaneous measurement of honeybee genes and pathogens
- cfr. Evans, 2006: Beepath quantitative-PCR array (48 targets)

Technology:

- colorimetric approach ► accessibility
- ArrayIT® SpotWave™ Colorimetric Microarray scanner





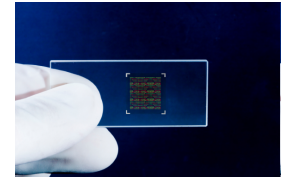
Task 1 Diagnostic au base des puces ADN (Research grade)

Results:

DNA chip PROTOTYPE 1:

- printing on nylon coated glass slides
 - targets: cfr. Beepath
 - 60-mer probe-design: cfr. Johnson et al. 2009
- samples: *E. coli* challenged bees/ controls
 - time points: 6u – 24u – 48u
- technical procedure:
 - total RNA extraction
 - cDNA labeled with DIG
 - hybridisation:
 - multi-well cassette: multiplex 24 samples
 - hybridisation buffer selected - O/N at 42°C staining
- outcome: leakage of cassette (capillarity)





Task 1 Diagnostic au base des puces ADN (Research grade)

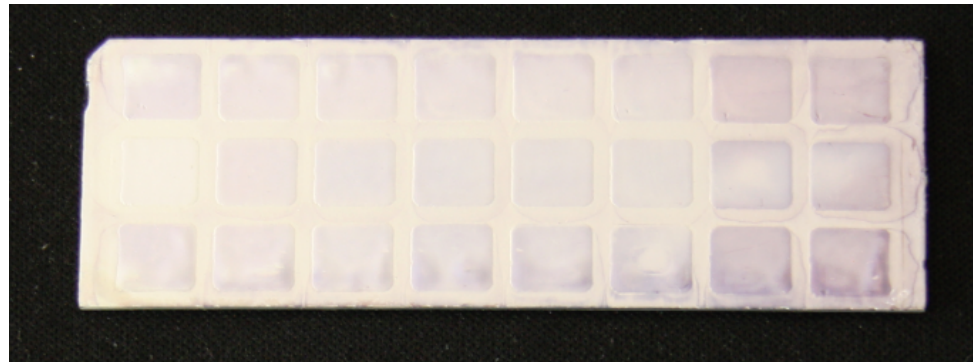


Results:

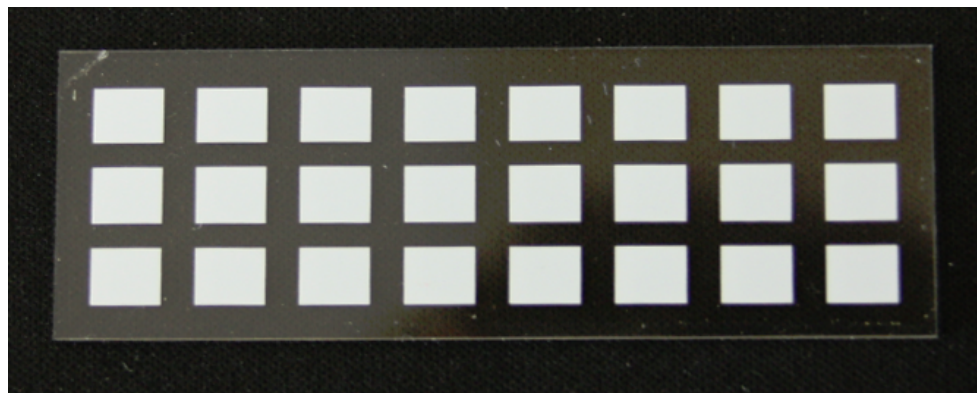
DNA chip PROTOTYPE 2:

- printing on nylon coated glass slides
- nylon cut in 24 squares, covering 1 DNA chip each
=> better sealing of multi-well cassette (to be tested)

PROTOTYPE 1
stained

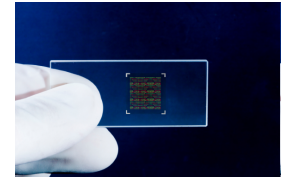


PROTOTYPE 2
unstained





Task 1 Diagnostic au base des puces ADN (*Research grade*)

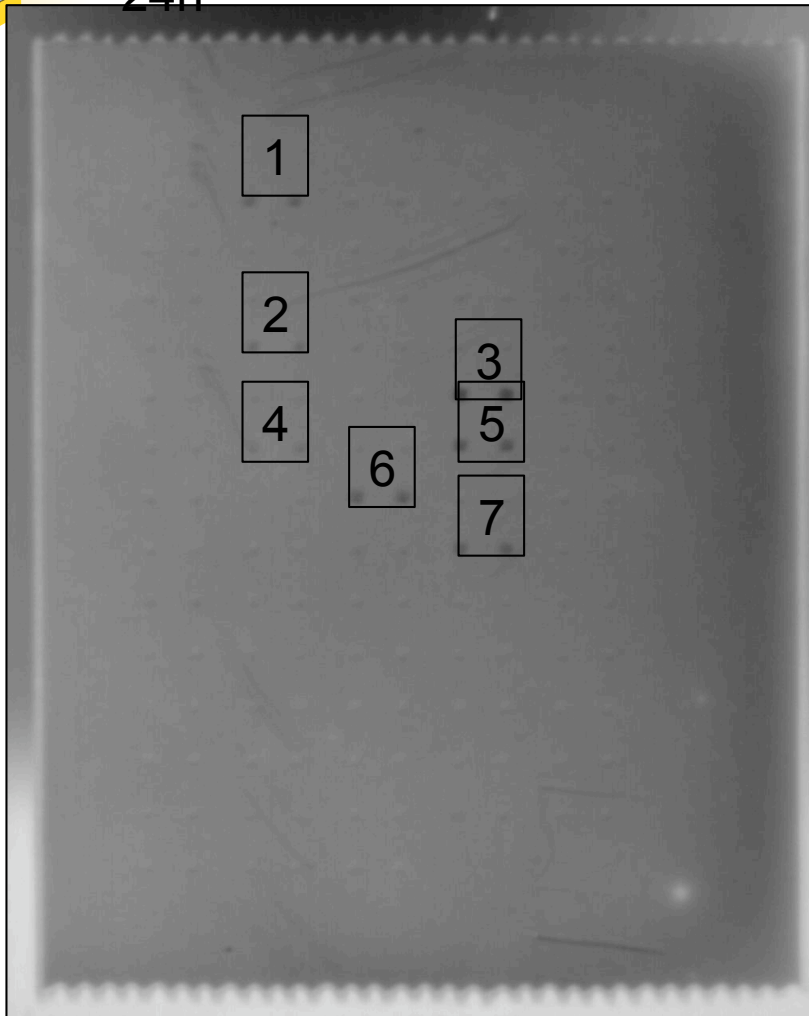


Future work:

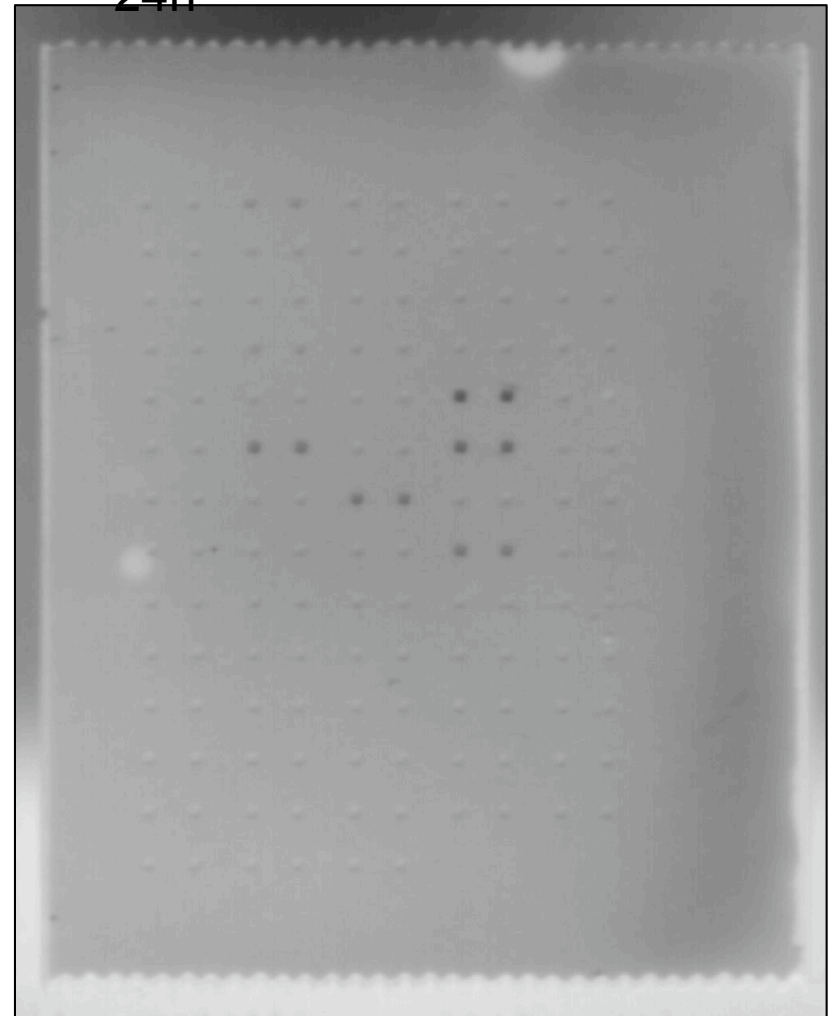
- testing DNA chip PROTOTYPE 2
- further optimizing technical procedure
- evaluation of data interpretation
- development of DNA chip PROTOTYPE 3
 - => extension of set of target genes/pathogens
 - < selected genes from:
 - genomic analyses (WP3)
 - mapping studies (WP4)



Non -Challenged –
24h



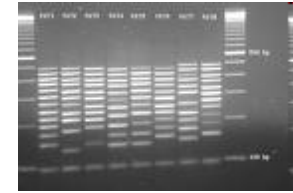
Challenged with *E. coli* –
24h



1 Dredd - 2 Cactus-2 - 3 Abaecin - 4 Apidaecin - 5 Apisimin - 6 Defensin1
7 Hymenoptaecin



Task 2 Diagnostic au base de PCR multiplex (*Extension grade*)

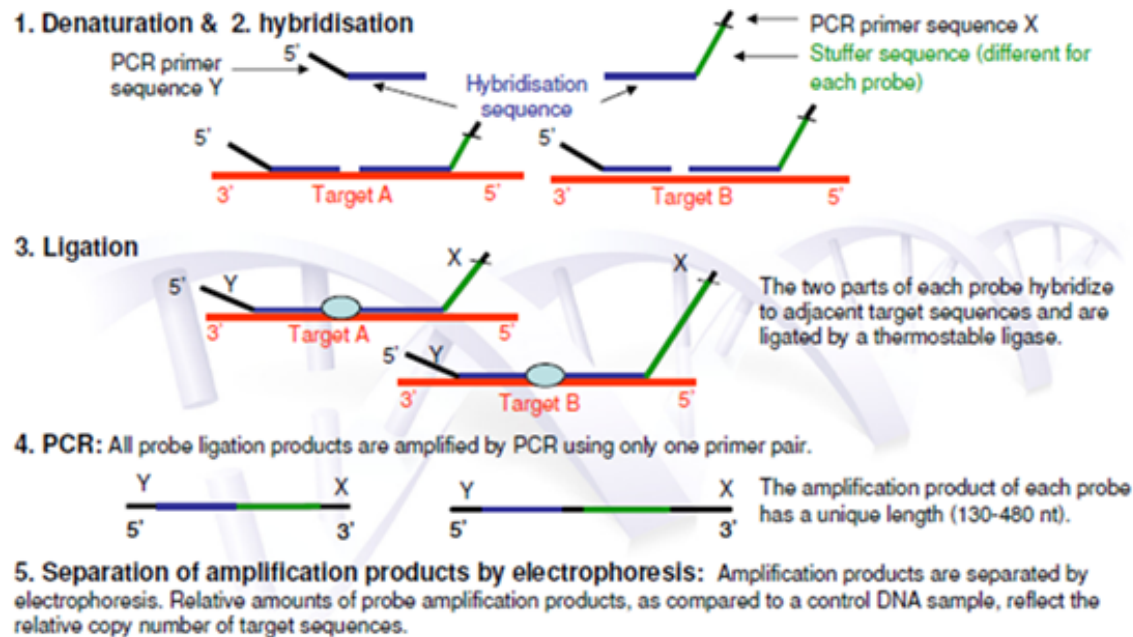


Objectives:

- simultaneous measurement of honeybee viruses and stress indicator genes (detoxification)

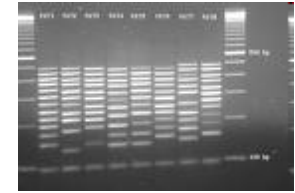
Technology:

- Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)
- cfr. Reijans et al. 2008: RespiFinder, 15 respiratory viruses





Task 2 Diagnostic au base de PCR multiplex (*Extension grade*)



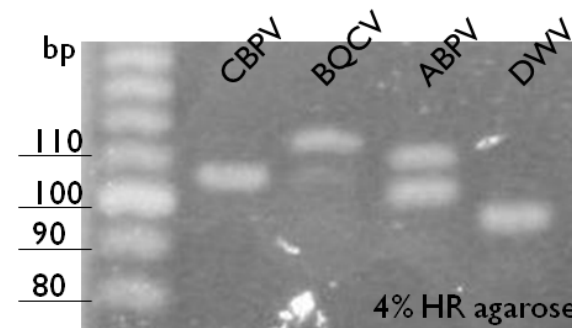
Results:

- targets = bee viruses: CBPV / BQCV / ABPV
(ABPV-KBV-IAPV) complex
(DWV-KV-VDV) complex
SBV / SBPV

- probes designed using the software AlleleID Premier Biosoft
- each probe had also a unique RT primer: designed to anneal immediately adjacent to the probe recognition site

MLPA design PROTOTYPE 1:

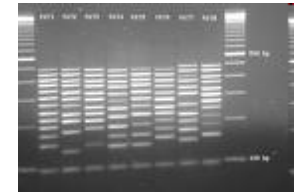
- final length probes differ 4 bp
- set of 5 targets



DWV : 95bp
ABPV – Fam : 102 bp
CBPV : 106 bp
ABPV : 111 bp
BQCV : 115 bp



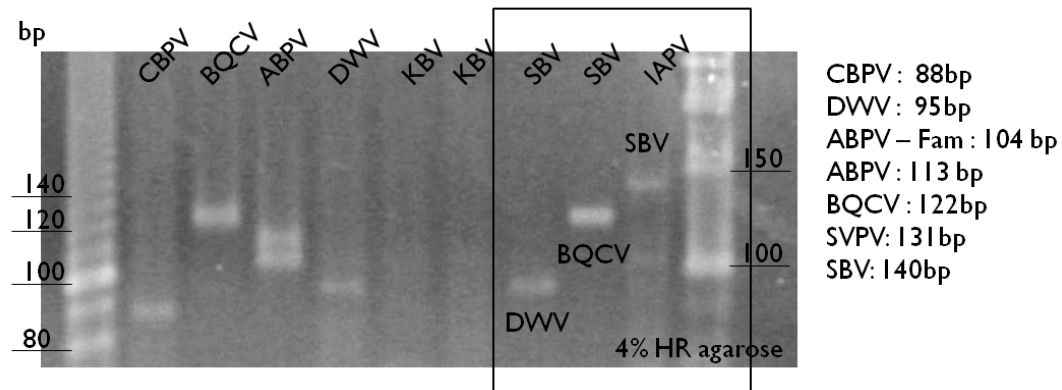
Task 2 Diagnostic au base de PCR multiplex (*Extension grade*)



Results:

MLPA design PROTOTYPE 2:

- final length probes differ 9 bp
- set of 7 targets



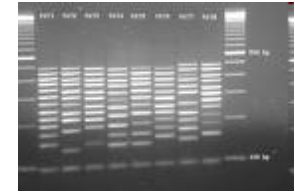
- ABPV probe reacts also with KBV and IAPV: **out**
- MLPA products were cloned and sequenced for confirmation
- different MLPA products: amplified and mixed = MLPA ladder

MLPA design PROTOTYPE 3:

- for negative strand detection (virus replication)



Task 2 Diagnostic au base de PCR multiplex (*Extension grade*)



Results:

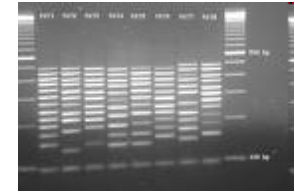
- evaluation of quantitative potential MLPA:
 - < spiking with RNA of house hold gene (= actin)
 - => MLPA signal is influenced (competition?)
- does competition influences virus detection?
 - => MLPA signal is influenced but not lost
- does point-mutations influence MLPA sensitivity?

Name	Sequence template
DWV +	TGTCACAGGAGTACGACTCGCACGT AAGAGCTCGCTGCATAAAGAATCGGTCA
A/T MUT	TGTCACAGGAGTACGACTCGCACGT <u>T</u> AAGAGCTCGCTGCATAAAGAATCGGTCA
A/G MUT	TGTCACAGGAGTACGACTCGCACGT <u>G</u> AAGAGCTCGCTGCATAAAGAATCGGTCA
AA/TT MUT	TGTCACAGGAGTACGACTCGCACGT <u>TT</u> AAGAGCTCGCTGCATAAAGAATCGGTCA
AA/GG MUT	TGTCACAGGAGTACGACTCGCACGT <u>GG</u> AAGAGCTCGCTGCATAAAGAATCGGTCA

-> single mutation. NO, double mutations. signal weaker



Task 2 Diagnostic au base de PCR multiplex (*Extension grade*)



Results:

- FAM labelled primers: products run on capillary electrophoresis

Future work:

- addition of probes without primer-annealing site
 - => no more endpoint PCR
 - => lower sensitivity
 - but higher quantitative potential
 - (in combination with capillary electrophoresis)
- PLoS Pathogen paper in preparation
 - MLPA: 6 targets (qualitative), +/- strand, capillary/gel electrophoresis
- Murcia-workshop in February: training of BEE DOC partners
- extension of probe-set with stress-indicator genes
 - < genomic analyses (WP3)
- second scientific paper
 - MLPA: +4 new viruses + stress indicators (quantitative)



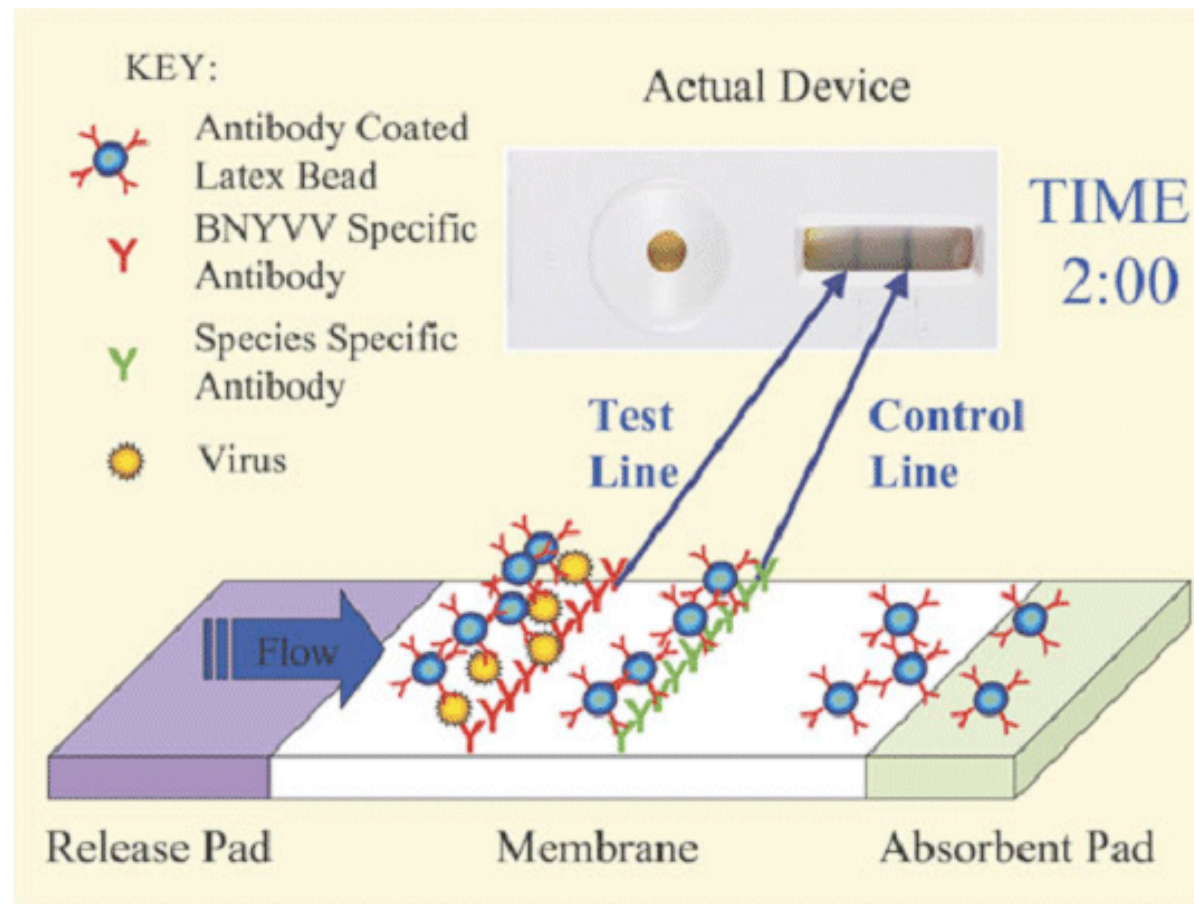


Task 3 Diagnostic au base d'un bâton (*Field grade*)



Technology:

- Lateral Flow Device (cfr. AFB/EFB VITA Europe, UK)





Task 3 Diagnostic au base d'un bâton (Field grade)



Results:

- Uppsala meeting with UGent, SLU, VITA Europe: working plan
Abs development by SLU (Drs. de Miranda, Forsgren)
tool development by VITA via ForeSite Diagnostics
- synthetic peptide based egg-derived Abs

VIRUS	PEPTIDE	Antigenicity	Surface Probability	Hydrophilicity	Variability	Direct ELISA (peptide)	Direct ELISA (other peptides)	Direct ELISA (virus)	Direct ELISA (other virus)	DAS-ELISA (virus)
DWV/VDV-1	T737-Y756 (VP3)	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✓	?
ABPV/KBV/IAPV	Y781-T795 (VP1)	✓	?	✓	✓	✓	✗	✓	✓	?
CBPV	M1-I28 (CP)	✓	?	✓	✓	✓	✗	✓	✓	?
BQCV	T813-D836 (VP1)	✓	?	?	✓	✓	✗	✓	✓	?
SBV	E935-G952 (VP1)	✓	✓	?	✓	✓	✗	✓	✓	?
SBPV	P592-A626 (VP3)	?	?	?	✓	?	✗	?	✓	?



Task 3 Diagnostic au base d'un bâton (*Field grade*)



Reason of failure:

- use of Keyhole Limpet Hemocyanin as carrier molecule
- hemocyanins are common storage proteins of insects
- anti-KLH abs still in ab-preparations after affinity chromatography against synthetic peptides
- anti-KLH recongnizes hemocyanins in bee samples

Future work:

- removal of anti-KLH abs by affinity chromatography (reduced productivity)
- re-launching monoclonal Ab production?
(lack of time, money, staff)
- re-focussing?
(investment/participation in similar on-going projects)

Consequences for Task 3- related Milestone and Deliverables!!





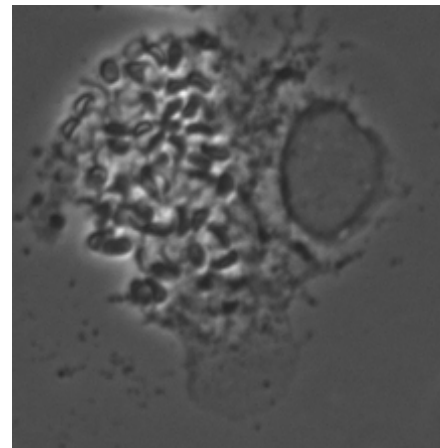
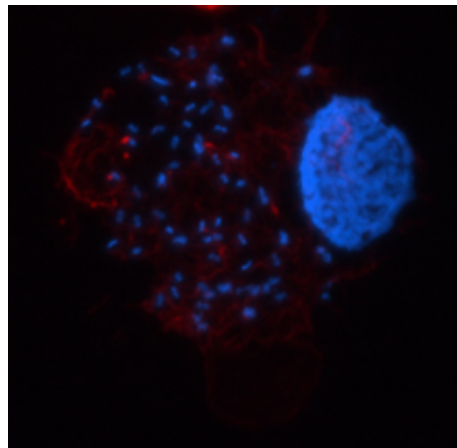
Task 4 Insect cell culture for viruses

Objectives:

- virus replication in existing permanent insect cell lines
- => valuable tool for the isolation, identification and propagation of unknown, newly emerging and known honeybee viruses
- => cultivation of pure viruses to serve as controls for the diagnostic tools

Results:

- first attempts to culture *Nosema* spp in gipsy moth cell cultures were successful (< Dr. McMahon and Prof. Paxton, MLU/QUB)





Milestones/deliverables



Milestones

M5.1 tested prototype of the BEE DOC stick (month 30)

M5.2 PCR based tool for virus diagnosis (month 36)

M5.3 tested DNA chip for honeybee health (month 36)

Deliverables

D5.1 report on a PCR based assay to quantify virus infection and pesticide contamination in the honeybee, *Apis mellifera* (month 20)

D5.2 A manual for apiculturists how to use the diagnostic BEE DOC virus stick (month 32)

D5.3 report on a DNA chip assay to study interactions between parasites, viruses, and pesticides in *Apis mellifera* (month 36)

Reducing investment in field grade diagnostic tool (LFD)
in favour of extension grade diagnostic tool (MLPA)

< great potential: specific, robust, detection replicating/non-replicating
viruses, capillary/gel electrophoresis, tools for quality control, training

< EU-RL Bee Health 2012-monitoring: seeking for extension grade test

WP6 Surveillance des agents pathogènes dans les populations d'abeilles sélectionnées



Ile d' Ouessant
(France)
No treatment
Varroa



Gotland
(Sweden)
No treatment



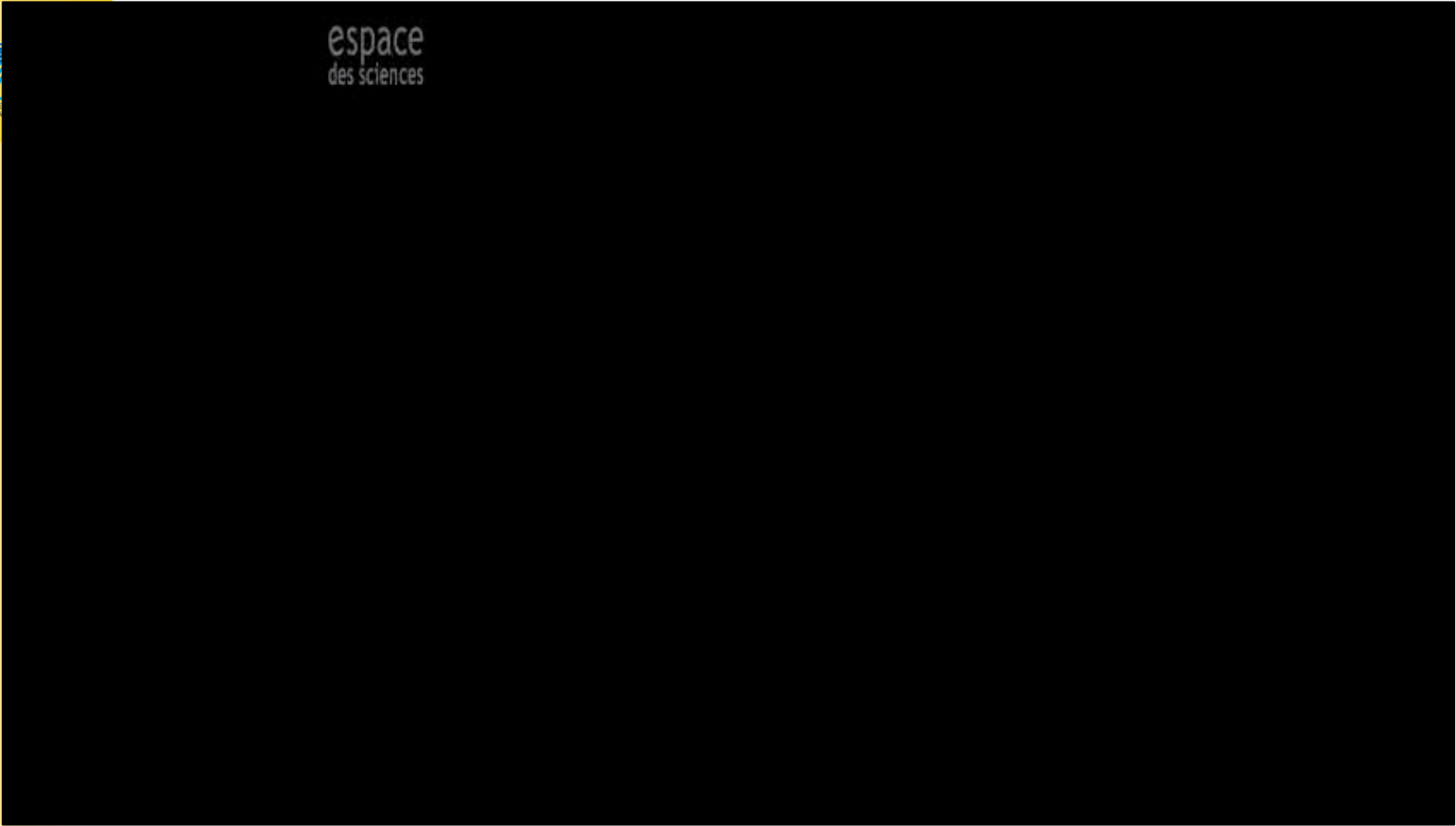
Fernando de Noronha
(Brasil)
No treatment



Capetown (South
Africa)
No treatment



espace
des sciences





An isolated population of Italian bees that has survived *Varroa jacobsoni* infestation without treatment for over 12 years

Author(s): DeJong, D (DeJong, D); Soares, AEE (Soares, AEE)

Source: AMERICAN BEE JOURNAL Volume: 137 Issue: 10 Pages: 742-745 Published: OCT 1997

Times Cited: 30 (from Web of Science)

Cited References: 13 [[view related records](#)] [[Citation Map](#)]

Abstract: Twenty colonies of Italian bees, infested with *Varroa jacobsoni* were introduced to the Island of Fernando de Noronha, located near the equator off the coast of Brazil, in 1984. These colonies initiated a population that is isolated and protected from genetic contamination by 345 km of ocean. During the 13 years since that time, the colony numbers have increased to about 50 colonies in hives, and an undetermined number of wild colonies on the 26 square kilometers of this archipelago. This group of colonies is unique, as it is maintained without any type of treatment, and yet there is no evidence of significant damage or colony mortality due to the *varroa* infestations. The mean infestation rates of the adult bees in the colonies, found to be about 26 mites per hundred bees in 1991, decreased to 19 in 1993, and 14 in 1996.

Accession Number: WOS:A1997XZ30600025

Document Type: Article

Language: English

KeyWords Plus: CLIMATE; BRAZIL

Reprint Address: DeJong, D (reprint author), UNIV SAO PAULO, FAC MED, DEPT GENET, BR-14049900 RIBEIRAO PRETO, SP, BRAZIL

Publisher: DADANT & SONS INC, AMER BEE JOURNAL, HAMILTON, IL 62341

Web of Science Category: Entomology

Subject Category: Entomology

IDS Number: XZ306

ISSN: 0002-7626



Apidologie (2011) 42:533–542

© INRA, DIB-AGIB and Springer Science+Business Media B.V., 2011

DOI: [10.1007/s13592-011-0029-5](https://doi.org/10.1007/s13592-011-0029-5)

Original article

Characteristics of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Sweden surviving *Varroa destructor* infestation

Barbara LOCKE, Ingemar FRIES



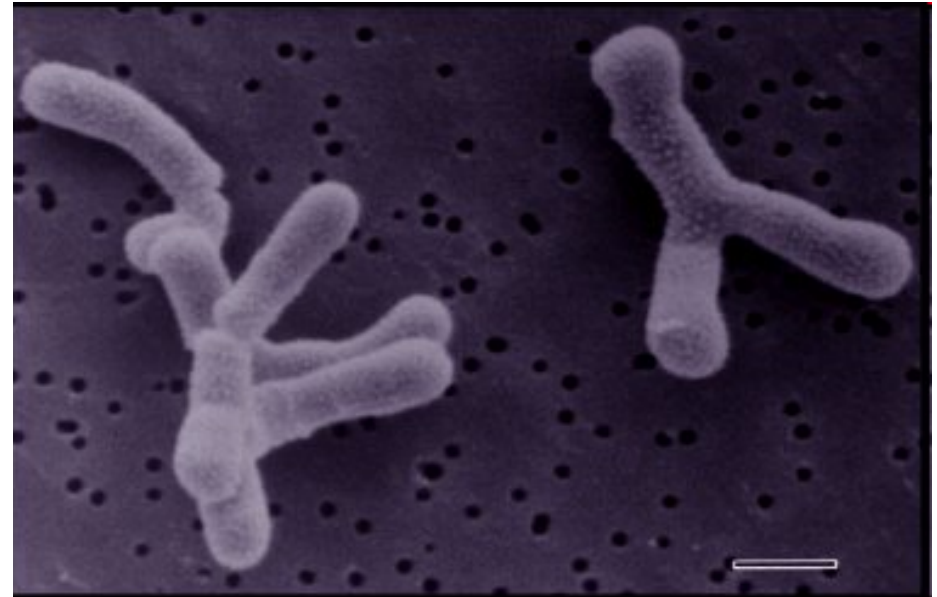
Résumé - Une population d'abeilles domestiques européennes (*Apis mellifera*) survivant infestation par les acariens *Varroa destructor* en Suède depuis plus de 10 ans sans traitement, démontrer qu'un équilibre relation hôte-parasite peut évoluer au fil du temps. Colony niveau des caractères adaptatifs liés à la tolérance *Varroa* ont été étudiés dans cette population à identifier les caractéristiques qui pourraient être responsables de la survie des colonies en dépit des infestations d'acariens. Taux d'enlèvement du couvain, taux de toilettage des adultes, et la distribution d'acariens entre les géniteurs et les adultes ne sont pas significativement différentes dans la population non traitée par rapport aux colonies témoins traités. Toutefois taille de la colonie, et la succès de reproduction de l'acarien ont été significativement réduites dans les colonies survivantes rapport avec le contrôle colonies. Nos données suggèrent que la colonie au niveau des caractères adaptatifs peuvent limiter la croissance de la population d'acariens en réduisant les acariens possibilités de reproduction et aussi en supprimant le succès de reproduction des acariens.



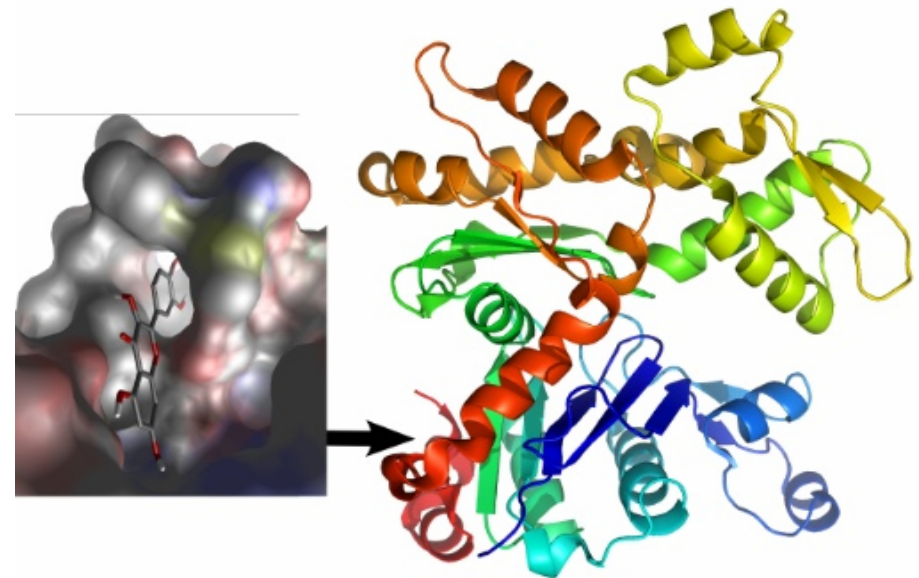
WP7 Traitement et contrôle



Task 1 Impact des bactéries probiotiques sur la santé des abeilles



Task 2 Impact des métabolites secondaires des plantes , composés de propolis, peptides d' abeille sur le Nosema, Varroa & Virus





WP8 Transfert aux intervenants responsables de la santé des abeilles



**COST Action FA0803
'Prevention of honeybee Colony Losses (COLOSS)'**

269 partners from over 53 countries

