

NYT OM CCD - COLONY COLLAPSE DISORDER

Af Per Kryger, Steen Lykke Nielsen og Mogens Nicolaisen, Offentlig bisygdomsbekæmpelse, og Christian Bendixen, Institut for Genetik og Bioteknologi, DJF, Aarhus Universitet

I det forløbne år har vi hørt meget om CCD (*Colony Collapse Disorder*), som kan oversættes til "bifamilie kollaps forstyrrelse". Samlet set skønnes det, at 23 % af de nordamerikanske biavlere har mistet en stor del af deres bier. Flere biavlere har mistet helt op til 90 % af deres bestand.

CCD

Problemet CCD har bredt sig til 24 stater i USA, fra nord til syd og øst til vest. Det blev rimeligt hurtigt klart, at der ikke var nogen nem forklaring på fænomenet. Det skyldes især, at symptomerne var meget usædvanlige. Bistader mistede på kort tid alle eller næsten alle deres bier, som forsvandt sporløst. Uden syge eller døde bier er det svært at finde årsagen.

Heldigvis var der stader, hvor der endnu var få bier tilbage. Disse blev undersøgt med alle tænkelige midler for at finde ud af, hvad der er galt. Man kan i dag udelukke en lang række af de kendte sygdomme: Ondartet- og europæisk bipest, kalkyngel og trakémider, hvilket ikke er overraskende, da symptomer på disse sygdomme er velkendte og helt anderledes end det, at man blot finder et tomt bistade.

FORGIFTING

Forgiftninger med pesticider er ikke helt så let at afvise, når bierne ikke er akut forgiftede og ligger døde ude foran bistadet. Var bierne døde ude i marken og ikke kommet hjem, ville det være svært at finde giften. Dette er dog ikke sandsynligt, fordi symptomerne har optrådt over hele USA, hvor der anvendes helt forskellige sprøjtemidler. Ydermere har man i flere tilfælde fundet, at ved to bigårde, der stod i samme flyvekreds, var den ene helt uddød, mens nabobigården overlevede fint.

SUBLETALE EFFEKTER

Det kunne imidlertid tænkes, at CCD var forårsaget af såkaldte subletale effekter af giftstoffer, altså gifte, der ikke slår bierne akut ihjel. Subletale effekter kan sænke biers immunforsvar og gøre dem modtagelige for infektioner eller føre til, at de mister deres orienteringssans.

Søgelyset blev også rettet mod de mange medikamenter, biavlere i USA bruger til bekæmpelse af varroamider og trakémider samt forebyggelse af ondartet bipest og nosema. Der var dog ikke nogen klar sammenhæng. Biavlere, der var blevet ramt, var meget forskellige og havde deres bier stående i områder med helt forskellige trækforhold og pesticidforbrug. Det er dog vanskeligt at påvise giftstoffer i meget små mængder, så det er svært at afvise subletale effekter som en faktor i CCD.

SMITTE

Det har vist sig, at man kan overføre symptomer fra et dødt bistade til et sundt et ved at genbruge materiel uden rengøring. Udsætter man derimod bistaderne for kraftige gammastråler, som normalt anvendes til sterilisering af hospitalsudstyr, overføres symptomerne ikke. Dette tyder på, at der er tale om en infektion med noget smitsomt.

Da man allerede havde afvist en række kendte parasitter, valgte man en helt ny metode for at finde årsagen. Fra de døde bier udvandt man genetisk materiale, som man analyserede (sekventerede). Tilsvarende gjorde man fra helt raske bier uden nogen symptomer. Forskellige gensekvenser i de to grupper af bier ville kunne afsløre forekomsten af en hidtil ukendt parasit. Resultatet af denne undersøgelse er netop offentliggjort i det videnskabelige tidsskrift *Science* af en større gruppe forskere fra den såkaldte CCD arbejdsgruppe.

BAKTERIER OG SVAMPE

Man fandt en lang række gensekvenser fra bakterier og svampe, som allerede er kendt for at leve i biernes tarm eller på anden måde være harmløse for bier. Der blev ikke fundet gener fra hverken *Paenibacillus larvae* eller *Mellisococcus plutonius*. Den nye art *Nosema ceranae* blev

fundet i samtlige prøver med CCD symptomer, men også i de fleste af de sunde bier. Bakterier og svampe er altså næppe årsag til de symptomer på CCD, man har beskrevet i USA.

VIRUS

Man fandt gensekvenser fra 7 forskellige vira, som man ved forårsager sygdomme hos honningbier. Kronisk biparalysevirus fandt man kun i få af de ramte bigårde, så det er næppe årsagen til CCD symptomer. Tilsvarende var der ingen sammenhæng mellem forekomst af sækyngelvirus, akut biparalysevirus, deform vingeвирус eller sort dronningecellevirus og CCD.

Derimod var der to vira, man i første omgang kun fandt hos de CCD ramte bier: Kashmir bivirus og israelsk akutparalysevirus (IAPV). Nærmere analyse viste, at 25 af 30 bigårde med CCD havde IAPV, og kun én af de 21 sunde bigårde havde dette virus.

Alle bigårde, der havde CCD, havde Kashmir bivirus, men det samme havde 16 af de 21 sunde bigårde.

Det tyder på, at det er IAPV, der er årsagen til CCD. I hvert fald er IAPV for øjeblikket den bedste markør for forekomst af CCD.

IAPV

Israelsk akutparalysevirus blev fundet første gang i 2004 i Israel. Den genetiske sekvens af viruset, der først er beskrevet i 2007, ligner Kashmir bivirus. De to vira er nærmere beslægtet med hinanden, end de er med akut biparalysevirus.

Fra Israel er det beskrevet, at smittede bier sitrer med vingerne, blive lammede og sluttelig dør uden for stedet. Det viser sig endvidere, at alle bigårde i USA, der er ramt af CCD, har fået tilført bier fra Australien eller har været i nær kontakt med bigårde, der har fået tilført bier fra Australien.

Man begyndte i USA i 2004 at indføre bier fra Australien, kort før de første CCD symptomer blev konstateret. Man har dog aldrig på de importerede bier set sådanne symptomer. Man valgte derfor at undersøge australske bier og fandt, at mange af disse var inficerede med IAPV. Man fandt ikke Kashmir bivirus i de australske bier.

CCD I AUSTRALIEN?

Man har ikke hørt om CCD fra Australien, og hvordan kan det nu være? Det ved vi ikke, men Australien har takket være deres strenge importkontrol endnu ikke fået varroamider. Det kan

tænkes, at varroamiden er en vigtig vektor, altså smittespreder for CCD, som fører til, at et normalt harmløst virus pludselig bliver dødeligt, måske fordi for mange bier bliver smittet. Vi ved også, at varroamiden undertrykker honningbiernes immunforsvar, hvilket kan spille en rolle. Om det er tilfældet, vil vise sig, hvis/når Australien får varroamider.

CCD I ISRAEL?

Så længe behøver man dog ikke at vente, for i Israel har der siden 1984 været varroamider, og det var her, man først fandt IAPV. IAPV er dog ikke fundet på grund af CCD. Der er ikke konstateret massiv bidød i Israel i de senere år.

Israel har haft et forspring omkring IAPV, og det har de dygtigt udnyttet til at finde virkelig spændende nyt. Det viser sig, at det nye virus kun slår visse bier i Israel ihjel. Hos de bier, der overlever, er der i biernes genom fundet genfragmenter, som er identiske med et kort stykke af et IAPV gen. På fem forskellige kromosomer i de tolerante honningbiernes genom er der fundet små stykker af virusgen.

VIRUSGENER ELLER BIGENER?

Et af de fem stykker virusgen, indbygget hos bierne, indeholder koden for et af de proteiner, der normalt sidder på overfladen på viruset og beskytter generne. Det vil typisk være et sådan overfladeprotein, biens immunforsvar skal være rettet imod.

Teorien er, at bierne producerer dette virusprotein, og det er med til at gøre dem immune over for viruset. Det er imidlertid endnu ikke afklaret. Bier, der ikke har virusets gen indbygget, er sårbare og dør hurtigt som følge af infektion med IAPV.

Dette er så nyt, at vi endnu ikke helt forstår, hvad det er, der sker. Normalt er gener hos bier og deres virus opbygget af to forskellige molekyler, henholdsvis DNA og RNA. Der er dog ingen tvivl om, at disse opdagelser ville have være nærmest umulige at opnå, hvis ikke den komplette genom-sekvens fra honningbier og mange af dens vira var kendt.

ARBEJDET FORTSÆTTER

I USA arbejder man videre med IAPV. Man er sikkert allerede langt fremme med smitteforsøg, der skal bevise, at IAPV kan forårsage CCD hos honningbier. Først hvis man herefter kan oprense viruset fra de syge eller døde bier, kan man tale om, at man har bevist, at IAPV er årsagen til CCD. Samtidig vil man få afgjort, om

der er andre faktorer som f.eks. varroamider eller pesticidrester indblandet.

Tilsvarende er de israelske resultater så opsigtsvækkende, at de vil få betydning for megen virusforskning fremover, ikke kun hos honningbier. Vi er ved DJF, Aarhus Universitet, godt rustet til undersøgelse af danske honningbier. Vi er ved at supplere vores diagnose af bivira til også at omfatte IAPV, og vi vil undersøge muligheden for at screene danske biers gener for de i Danmark vigtigste vira: Sækyngel og deform vingeвирус, to vira, der ikke er nært beslægtede med akut biparalysevirus, Kashmir bivirus eller IAPV.

Samtidig er det spændende, at vi i Danmark sjældent ser angreb af sort dronningecellevirus, Kashmir bivirus og akut biparalysevirus. Kan det skyldes, at vores bier har en naturlig immunitet i forhold til disse vira?