



HAL
open science

21. Anfälligkeit von Bienenpuppen gegenüber Virusinfektionen

M. Otteni, W. Ritter

► **To cite this version:**

M. Otteni, W. Ritter. 21. Anfälligkeit von Bienenpuppen gegenüber Virusinfektionen. *Apidologie*, 1998, 29 (5), pp.421-423. <hal-00891517>

HAL Id: hal-00891517

<https://hal.science/hal-00891517v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

solved in an organic solvent and diethyl ether was the most appropriate. The solvent even stimulated the growing of the spores in comparison to an aqueous spore solution. On the other hand, the growth was hampered by a too large portion of wax.

For detecting spores in beeswax, the wax was put into water (wax/water 1:10). The receptacle was placed into a water bath heated up to 90 °C for 6 min. After cooling down diethyl ether was added (diethyl ether/water 1:9) and then it was shaken carefully. After a 2 min standing time, there was a deposit of a watery solution containing the *P. l. l.* spores, under the wax dissolved in diethyl ether. 80 µL of this solution was smeared onto a plate with MYP-agar. After 3 days in an incubator at 37 °C, the spores present had grown into colonies. Their number indicated the rate of infestation of the wax. The findings were checked by means of a negative katalase test and a selective agar (Columbia blood slant agar) and the microscopical determination of the plaited flagellae.

Détection de *Paenibacillus larvae larvae*, agent de la loque américaine, dans la cire

Les rayons des colonies atteintes de loque américaine renferment souvent de la cire fortement infectée. Il n'est pas toujours certain qu'elle soit correctement désinfectée avant d'être réutilisée pour la fabrication de feuilles de cire gaufrée. La détection de l'agent infectieux est donc très importante pour la lutte contre les maladies. On a adapté à la cire la technique de détection de *Paenibacillus larvae larvae* (*P. l. l.*) dans le miel (W. Ritter, B. Kiefer, Tierärztliche Umschau 48 (1993) 806–811). Néanmoins la cire doit être dissoute dans un solvant organique. Le diéthyl éther (éther de diéthyle) s'est montré le plus approprié. Le solvant a même stimulé la croissance des spores par rapport à une solution aqueuse. En revanche la croissance a été gênée par une trop grande proportion de cire.

Pour détecter les spores, la cire a été mélangée à de l'eau dans la proportion 1/1. Le récipient a été mis dans un bain chaud à 90 °C pendant 6 min. Après refroidissement l'éther de diéthyle a été ajouté à l'eau dans la proportion de 1/9 et le tout soigneusement agité. Au bout de 2 min, il y a eu formation, sous la cire dissoute dans l'éther de diéthyle, d'une solution aqueuse qui renfermaient les spores de *B. l. l.* On a étalé 80 µL de cette solution sur une plaque avec de la gélose MYP. Après incubation de trois jours à 37 °C les spores éventuellement présentes ont formé des colonies. Leur présence a été confirmée par un test négatif à la catalase, une gélose sélective (gélose Columbia + sang en pente) et par détermination au microscope des queues des flagelles.

21. Anfälligkeit von Bienenpuppen gegenüber Virusinfektionen. M. Otteni, W. Ritter (Tierhygienisches Institut Freiburg, Am Moosweiher 2, 79108 Freiburg)

Nach dem heutigen Stand des Wissens überträgt die Varroa-Milbe das Acute Paralyse Virus (APV) auf Bienenpuppen (Vektorfunktion) und kann gleichzeitig die Virusproduktion in den Puppen anregen (Aktivatorfunktion).

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, inwieweit einerseits eine Virusübertragung in frühen pupalen Stadien die Entwicklung der Bienenpuppen stören bzw. hemmen kann und inwieweit andererseits der Grad der Schädigung durch die Virusübertragung vom Entwicklungsstadium der Puppen abhängig ist.

Zur Beantwortung der Fragestellungen wurden aus 3 Völkern Bienenpuppen unterschiedlicher Entwicklungsstufen (white eye (Pw), red eye (Pr), dark eye (Pd)) mit 0,2 µL Viruslösung beimpft und anschließend in künstlichen Zellen im Brutschrank aufgezogen. Die Überlebenszeit der einzelnen Puppen wurde dabei bestimmt.

Puppen im Pw-Stadium beimpft erlitten in allen drei Völkern einen Totalausfall

(100 %). Im Pd-Stadium beimpfte Puppen hingegen schlüpfen zu 100 % ohne jeglichen Ausfall. Beimpfungen im Pr-Stadium brachten unterschiedliche Ausfallquoten (V1 = 67 %, V2 = 84 %, V3 = 54 %). Bienepuppen, die im Pr-Stadium von einer Varroa-Milbe (Pr⁺) parasitiert wurden, haben sich in einem höheren Maße weiterentwickelt (V2 = 43 %, V3 = 25 %) als nichtbefallene Pr-Stadien (V2 = 33 %, V3 = 16 %), wiesen allerdings Flügeldeformationen im Adultstadium auf (V2 = 14 %, V3 = 5 %). Die einzelnen Völker untereinander unterschieden sich durch signifikant unterschiedliche (< 0,05) Entwicklungszeiten (in h) (V1Pw = 60, V2Pw = 42, V3Pw = 74, V1Pr = 72, V2Pr = 59, V3 = 79). Signifikante Unterschiede (< 0,05) traten ebenfalls zwischen milbenbefallenen (V2 = 71, V3 = 103) und milbenfreien Pr-Stadien (s.o.) auf.

Somit ergibt sich eine hohe Anfälligkeit gegenüber APV in frühen pupalen Stadien, ein Abwehrmechanismus scheint noch nicht vorhanden zu sein. In späteren pupalen Stadien hat APV keinen Einfluß mehr auf die vollständige Entwicklung zur adulten Biene. Unterschiedliche Entwicklungszeiten der gleichen Entwicklungsstadien der 3 untersuchten Völker deuten evtl. auf Unterschiede in der Reaktion auf Antigene im Bienenkörper hin. Bei Befall durch die Varroa-Milbe besteht die Möglichkeit einer frühzeitigen Mobilisierung bzw. Reifung eines Abwehrsystems.

Susceptibility of bee pupae for virus infections

According to current knowledge the mite *Varroa jacobsoni* can transfer the acute paralysis virus (APV) to bee pupae (vector function) and can simultaneously stimulate virus production in the pupae (activator function). It would be of interest to determine how much a virus transfer at early pupal stages disturbs and hampers the development of the bee pupae and how much the degree of damage caused by the virus transfer depends

upon the stage of development of the pupae.

To answer these questions, bee pupae from three colonies V1, V2 and V3 in different stages of development (white eye (Pw), red eye (Pr), dark eye (Pd)) were inoculated with 0.2 µL virus solution and afterwards cultivated in artificial cells in an incubator to determinate the time of survival of each pupae.

There was a total loss (100 %) with pupae inoculated at the Pw-stage. However, 100 % of the pupae inoculated at the Pd-stage emerged. Inoculations at the Pr-stage showed different death rates (V1 = 67 %, V2 = 84 %, V3 = 54 %). Bee pupae parasitized by a mite (Pr⁺) developed to a higher degree (V2 = 43 %, V3 = 25 %) than those non-parasitized (V2 = 33 %, V3 = 16 %) but showed wing deformations at the adult stage (V2 = 14 %, V3 = 5 %). The individual colonies themselves differed significantly (< 0.05) in their speed of development: for Pw, mean development times were 60, 42 and 73 h for V1, V2 and V3, respectively; for Pr they were 72, 59 and 79 h, respectively. There were also significant differences between Pr-stages parasitized by mites (V2 = 71, V3 = 103) and those without mites (see above).

We conclude that there is a high susceptibility for APV in early pupal stages, as a defense mechanism does not yet seem to exist. In later pupal stages, APV no longer affects the development of the pupae into the adult. Differences in development among the three colonies examined point probably at different reactions on antigens in the bee body. Parasitism by the *Varroa* mite may perhaps facilitate an early mobilization of a defense system.

Sensibilité des nymphes d'abeilles aux infections virales

Selon les connaissances actuelles l'acarien *Varroa jacobsoni* peut transmettre le virus de la paralysie aigüe (APV) aux nymphes d'abeilles (rôle de vecteur) et peut en même temps stimuler la production de virus dans les nymphes (rôle d'activateur).

Il serait intéressant de déterminer dans quelle mesure un virus transféré dans les premiers stades nymphaux perturbe ou inhibe le développement des nymphes d'abeilles et dans quelle mesure le degré de dégât dépend du stade de développement des nymphes.

Pour répondre à ces questions, des nymphes de trois colonies (V1, V2 et V3) à divers stades de développement (yeux blancs (Pw), yeux rouges (Pr et yeux foncés (Pd)) ont été inoculées avec 0,2 µL de solution virale, puis élevées en cellules artificielles dans une étuve afin de déterminer le temps de survie de chaque nymphe.

Il y a eu perte totale (100 %) avec les nymphes inoculées au stade Pw. En revanche 100 % des larves inoculées au stade Pd ont mergé. Les inoculations au stade Pr ont donné des taux de mortalité différents selon les colonies (V1 = 67 %, V2 = 84 %, V3 = 54 %). Les nymphes parasitées par *V. jacobsoni* (Pr⁺) se sont plus développées (V2 = 43 %, V3 = 25 %) que les non parasitées (V2 = 14 %, V3 = 5 %). Individuellement les colonies ont présenté des différences significatives (< 0,05) dans leur durée de développement : pour Pw le développement a duré en moyenne 60 h, 42 h et 44 h pour V1, V2 et V3 respectivement et pour Pr 72, 59 et 79 h respectivement. Il y a eu également des différences significative entre les stades Pr parasités par l'acarien (V2 = 71 h, V3 = 103 h) et ceux non parasités (voir ci-dessus).

Nous en concluons qu'il existe une forte sensibilité à l'APV dans les premiers stades nymphaux et qu'il ne semble pas encore exister de mécanisme de défense. Dans les stades nymphaux ultérieurs, l'APV n'affecte pas le développement complet jusqu'à l'adulte. Les différences dans la durée de développement parmi les colonies au même stade de développement indiquent des différences de réactions aux antigènes du corps de l'abeille. Le parasitisme par *V. jacobsoni* permet probablement la mobilisation précoce ou la maturation du système de défense.

22. Honigqualität auf dem dänischen Markt: Verunreinigung durch *Paenibacillus larvae larvae*-spores und Pestizidrückstände. Camilla J. Brødsgaard^a, Henrik Hansen^a, Klaus Wallner^b (^a *Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Group Entomology, Research Centre Flakkebjerg, DK - 4200 Slagelse, Denmark;* ^b *Universität Hohenheim, Landesanstalt für Bienenkunde, August-von-Hartmann-Str. 13, D-70593 Stuttgart*)

Ziel dieser Studie war es, 1997 in Dänemark verkaufte Honigsorten aus verschiedenen Ländern auf die Präsenz von *P.l. larvae*-Sporen und Rückstände von Mitteln zur *V. jacobsoni*- und Wachsmottenbekämpfung zu untersuchen.

Insgesamt wurden 10 Honigsorten untersucht. Die Beziehungen zwischen *P.l. larvae*-Isolaten wurden mittels der api 50CH-Technik überprüft und per Clusteranalyse klassifiziert. Die verschiedenen Isolate wurden außerdem mit dem Typusstamm ATCC9545 und mit dem Referenzstamm DK-JT-79 verglichen. Die Honigproben wurden mit Hilfe der Kapillar-GC- und ECD-Nachweismethode auf Rückstände von Brompropylat, Coumaphos und Fluvalinat, Flumethrin, Amitraz, Acrinathrin, Phs-Ester, Tetradifon und 1,4-Dichlorbenzol getestet.

Sechs Honigsorten waren mit *P. l. larvae*-Sporen kontaminiert. Kontaminierung wurde in allen dänischen, spanischen und neuseeländischen Honigsorten festgestellt. Die Anzahl Sporen pro g Honig variierte zwischen $7,2 \times 10^4$ und $3,3 \times 10^6$. In griechischem, ungarischem, schwedischem und in Honig von außerhalb der EU wurden dagegen keine Sporen gefunden. Die Clusteranalyse zeigte zwei Hauptcluster. Eines beinhaltete den Honig aus Neuseeland, Spanien und Dänemark während das andere ATCC9545, den Referenzstamm und drei dänische Honigsorten beinhaltete. Die Untersuchungen ergaben keinerlei Hinweise auf Rückstände von Mitteln zur Bekämpfung von *V. jacobsoni* und der Wachsmotte.