



Nosema apis en *Nosema ceranae*

Achtergrondinformatie

Inleiding

Nosema apis en *Nosema ceranae* komen beide voor bij *A. mellifera*. De eerste beschrijvingen van de parasiet *N. apis* bij *Apis mellifera* en de gevolgen van deze parasitering zijn 100 jaar geleden beschreven door Zander [18]. Besmettingen van *A. mellifera* met *N. ceranae* zijn van een meer recente datum. Fries et al. [6] hebben *N. ceranae* beschreven. Dat *N. ceranae* voorkomt bij de Europese honingbij en *N. apis* ook de Aziatische honingbij kan infecteren weten we sinds een paar jaar. Higes et al. [9] ontdekten in 2006 als eerste het voorkomen van *N. ceranae* in de Europese honingbij in Spanje. *N. ceranae* komt al langer, zeker sinds 1998, bij de Europese honingbij voor zonder dat dit opgemerkt was [13]. In Nederland heeft R. van der Zee in 2007 de eerste *N. ceranae* infectie op Terschelling aangetoond. Beide parasieten kunnen op een bijenstand tegelijk voorkomen zoals in Nederland aangetoond is bij de landelijke monitoring van PRI bijen in 2008. Hieruit bleek dat *N. apis* op 10% van de standen voorkomt, *N. ceranae* op 87% en een combinatie van beide nosemasoorten is vastgesteld op 6% van de 170 bemonsterde bijenstanden. Op een aantal standen werd geen nosema gevonden.

Nosema bij honingbijen en hommels

Lang is gedacht dat elke nosema gastheerspecifiek was maar dit blijkt niet het geval te zijn. Bij *A. cerana* worden gemengde infecties van *N. ceranae* en *N. apis* gevonden [3]. Wel komt bij *A. ceranae* de parasiet *N. ceranae* meer voor dan *N. apis*. Ook in Zuid Amerikaanse hommels (*Bombus atratus*, *Bombus morio* en *Bombus bellicosus*) is *N. ceranae* gevonden [14]. Er is nog niets bekend over de effecten van een *N. ceranae* infectie bij hommels maar het laat wederom zien dat nosema niet gastheerspecifiek is en dat verder onderzoek nodig is. Bij hommels zien we dat de virulentie van *N. bombi* bij verschillende hommelse soorten anders is. Dit kan mede veroorzaakt worden door verschil in biologie van de hommelse soorten waaraan de parasiet beter of minder aangepast is [16]. Soortgelijke verschijnselen kunnen zich ook voordoen bij besmetting van *A. mellifera* met *N. ceranae*. Aangezien de kennis van de virulentie van *N. ceranae* voor *A. mellifera* nog in de kinderschoenen staat en gebaseerd op het gegeven dat, met name in Noord Europa, de schadelijke gevolgen van de *N. ceranae* besmettingen min of meer overeen komen met die van *N. apis* worden bij de preventie en bestrijding de twee soorten vooralsnog gelijk behandeld. Wanneer gesproken wordt over nosema worden hiermee beide nosemasoorten samen bedoeld.

Binnen de nosemastamboom staat *N. ceranae* dichter bij de wespenparasiet *Nosema vespula* dan bij *N. apis* [2].

Microsporidia

Nosema apis en *Nosema ceranae* behoren tot de microsporidia. De microsporidia zijn eencellige zeer gespecialiseerde parasitaire schimmels [8]. Microsporidia zijn dierparasieten, voornamelijk van insecten. Infectie vindt plaats via opname van sporen met voedsel. De spore is een fase in de ontwikkeling waarbij het microsporidium omhuld is door een stevige celwand en waarbij geen vermeerdering plaatsvindt. De microsporidiumsporen zijn meestal goed bestand tegen moeilijke omstandigheden en kunnen een aantal jaar buiten een gastheer overleven. Microsporidiumsporen zijn 1 tot 40 micrometer. De meeste microsporidia hebben peervormige of ovale sporen, maar ook langwerpige of ronde sporen komen voor. Aan de achterkant van een spore zit vaak een harpoenachtig orgaan aan een lange, aan de voorzijde opgerolde draad, de pooldraad. Wanneer de spore een mogelijke gastheer bereikt wordt de pooldraad uitgestoten en deze dringt door in de gastheercel. Vervolgens wordt de inhoud van de spore in de gastheercel gespoten. In de gastheercel gaat het microsporidium zich vermenigvuldigen ten koste van de gastheercel. Het vermenigvuldigen verloopt via verschillende stadia en het eindstadium is een nieuwe spore die of in dezelfde gastheer opnieuw cellen gaat infecteren of die met de faeces uitgescheiden wordt en zo nieuwe gastheren kan besmetten.

Ventriculus

De geplooidde middendarm van de honingbij is opgebouwd uit darmcellen. Door de plooiën wordt de oppervlakte vergroot en is de darm rekbaar. De darmcellen worden voortdurend vernieuwd. De darmcellen produceren enzymen (zie noot 2) voor de vertering van stuifmeel. Ook worden de voedingsstoffen uit de darm via de darmcellen getransporteerd naar het bijenbloed (hemolymfe). De darmcellen produceren ook het peritrofe membraan, een structuur van eiwitten en chitine. Dit membraan omhult het stuifmeel dat in pakketjes via de proventriculus, de verbinding tussen de honingblaas en de middendarm, doorgegeven wordt aan de middendarm. Deze stuifmeelpakketten schuiven, omhuld door het peritrofe membraan, door de middendarm naar achteren en tijdens de passage door de middendarm wordt het stuifmeel verteerd. In de darm, in de ruimte tussen het peritrofe membraan en de darmcellen, stroomt vloeistof van de achterkant van de middendarm naar voren waardoor, in combinatie met het peritrofe membraan, de spijsverteringsenzymen goed verdeeld en de voedingsstoffen optimaal opgenomen worden. Het peritrofe membraan functioneert dus behalve als bescherming van de darmcellen tegen het harde stuifmeel ook als verdeler. Het peritrofe membraan wordt door heel de darm gevormd maar het meeste wordt gemaakt door de cellen aan het begin van de darm. De spijsverteringsenzymen worden vooral gevormd door de cellen aan het eind van de middendarm en stromen met de bovengenoemde vloeistofstroom naar voren. De opname van voedingsstoffen vindt vooral voor en midden in de middendarm plaats.

De gevolgen van een nosema-infectie voor de spijsvertering, voedersapklieren en eiwitvetlichaam

Zowel *N. apis* als *N. ceranae* infecteren de middendarmcellen waardoor deze niet meer naar behoren kunnen functioneren. De middendarm is de primaire infectie locatie. *N. apis* wordt alleen gevonden in de middendarm maar *N. ceranae* wordt ook aangetroffen in de voedersapklieren, de speekselklieren, de buizen van Malpighi (nierbuisjes) en sporadisch in het vetlichaam. Het is niet bekend of *N. ceranae* zich ook in de andere organen kan vermenigvuldigen [8]. Na infectie van de ventriculus worden binnen enkele dagen nieuwe sporen gevormd. Deze nieuwe sporen worden met de geparasiteerde darmcellen afgestoten en komen zo in de middendarm terecht waarna ze opnieuw darmcellen van dezelfde gastheer infecteren of met de faeces uitgescheiden worden. Een besmette bij kan 30 – 50 000 000 sporen bevatten. Door nosema geparasiteerde middendarmcellen vormen minder peritrofe membraan waardoor de darm minder beschermd wordt en spijsverteringsenzymen en voedingsstoffen niet goed verdeeld worden. Bovendien kunnen geparasiteerde darmcellen minder spijsverteringsenzymen produceren waardoor het stuifmeel slecht afgebroken wordt en ze kunnen minder goed de voedingsstoffen opnemen en doorgeven aan het bijenbloed waardoor er minder eiwit en andere voedingsstoffen beschikbaar zijn. Het resultaat is dat honingbijen die geïnfecteerd zijn met nosema korter leven en minder goed ontwikkelde voedersapklieren en eiwitvetlichaam hebben.

Symptomen en verspreiding van *Nosema apis* en *Nosema ceranae*

Een *N. apis* infectie geeft typische symptomen zoals dysenterie (ontsteking van de darm en diarree). Hoewel de symptomen bij een *N. ceranae* infectie veel minder uitgesproken zijn dan die van een *N. apis* infectie zijn er vooralsnog geen aanwijzingen dat *N. ceranae* een heel ander effect heeft op *A. mellifera* dan *N. apis* [7] Omdat *N. apis* diarree veroorzaakt komen er veel sporen in een bijenvolk terecht en worden steeds bijen besmet met sporen wanneer ze de raten schoonmaken. Zo wordt de ziekte verspreid in het volk. Een *N. ceranae* infectie veroorzaakt geen diarree. Hoe de sporen van *N. ceranae* precies verspreid worden binnen of buiten het volk is nog niet bekend [8]. Een infectie met *N. ceranae* en met *N. apis* verloopt vrijwel hetzelfde maar labtesten lieten zien dat er meer bijen doodgaan aan een *N. ceranae* infectie dan aan *N. apis* [13]. De resultaten van laboratorium testen kunnen niet zondermeer vertaald worden naar de praktijk omdat in een bijenvolk andere omstandigheden heersen zoals een strikte temperatuurregulatie en voedseluitwisseling (trophallaxis), maar ze geven wel een aanwijzing.

Nosema maakt bijen hongerig

Nosema beïnvloedt het eetgedrag van bijen. Het hongerniveau van honingbijen wordt niet alleen bepaald door de voedselvraag van het volk maar ook op individueel niveau waarbij de suikerconcentratie in de hemolymfe maar ook daar de hoeveelheid voedsel in de honingblaas en darm een rol spelen. Door het slecht functioneren van de middendarm komt er minder suiker in de hemolymfe. Ook zijn zieke darmen kleiner dan gezonde. Zowel het kleinere volume van de darm als de lagere suikerconcentratie in de hemolymfe verhogen het hongergevoel. Honger heeft invloed op het gedrag van bijen zoals meer trophallaxis en meer foerageervluchten terwijl de bijen minder energie hebben, wat een van de factoren kan zijn waardoor bijen bij terugkeer de kast niet meer halen [12]. Nosemazieke bijen (*N. apis*) consumeren in de periode dat het broed verzorgd moet worden meer stuifmeel dan gezonde bijen. Dit is compensatie gedrag omdat ze minder eiwit voorraad op kunnen bouwen als gevolg van de slecht functionerende middendarm [15]. Veldproeven lieten zien dat het extra aanbieden van stuifmeel in het voorjaar niet leidt tot een langere levensduur van bijen die geïnfecteerd waren met *N. apis* maar wel tot langere broedzorg in het volk [11].

De gevolgen van een nosema-infectie voor een bijenvolk

Het mag duidelijk zijn dat een nosema-infectie ernstige gevolgen heeft voor het bijenvolk.

Door de minder ontwikkelde voedersapklieren wordt het broed ook kwalitatief en kwantitatief minder goed verzorgd. Dit heeft vooral gevolgen voor de kwaliteit van het broed en minder voor de kwantiteit. Typisch voor een nosemaziek volk is dan ook dat er in verhouding met het broed te weinig bijen in het volk zijn en dat er poep op de raten en de vliegplank gevonden wordt (*N. apis* infectie). Dit is heel onnatuurlijk gedrag voor een bij, die normaliter buiten poept om de hygiëne in de kast te handhaven. Met nosema geïnfecteerde bijen doorlopen sneller de leeftijd gebonden taken dan gezonde bijen en er wordt er dus ook minder stuifmeel en nectar verzameld. Er is een wisselwerking tussen de opbouw van het eiwitvetlichaam, met name de opbouw van het opslagewit vitellogenine gedurende de eerste twee weken van het leven van een bij en de aanmaak van het juveniel hormoon dat er voor zorgt dat de bij vliegbij wordt. Als er minder vitellogenine is, wordt er meer juveniel hormoon aangemaakt en verouderd de bij sneller. Een *N. apis* infectie kan zich zowel in werksters als in koninginnen ontwikkelen en de koningin heeft geen extra afweer tegen deze parasiet [17]. Er zijn nog geen gegevens over *N. ceranae* infecties bij koninginnen maar gezien de overeenkomsten in verloop van de infectie van beide nosemasoorten is het aannemelijk dat de koningin ook ziek kan worden van *N. ceranae* en met dezelfde gevolgen, namelijk dat de koningin stopt met het leggen van eieren en binnen enkele weken dood gaat.

Afweer tegen nosema

Insecten hebben een afweersysteem tegen pathogenen zoals nosema. Ten eerste de mechanische afweer in de vorm van het harde exoskelet en de peritrofe membranen. Hoe steviger de peritrofe membranen in de darm, hoe moeilijker het is voor poeldraad van nosema om door het peritrofe membraan door te dringen tot in het darmweefsel. Daarnaast is er ook nog een cellulaire en humorale afweer. Bij de cellulaire afweer ruimen bepaalde cellen pathogenen op. Bij de humorale afweer worden afweerstoffen gemaakt om de indringers onschadelijk te maken. Voor de aanmaak van deze afweerstoffen (onder andere apicaecin, abaecin, hymenoptaecin en defensin) is eiwit nodig dat in het eiwitvetlichaam opgeslagen is. De honingbij maakt meer afweerstoffen en stoffen die nodig zijn voor de afweer zoals vitellogenine na een *N. apis* dan na een infectie met *N. ceranae* [1]. Dit is een van de aanwijzingen dat een *N. apis* infectie mogelijk anders verloopt dan een *N. ceranae* infectie en reden dat verder onderzoek nodig is.

Temperatuurgevoeligheid van *Nosema apis* en *Nosema ceranae*.

De temperatuur en de conditie van de gastheer hebben invloed op de infectie. Een van de oorzaken dat *N. apis* praktisch niet in de zomer gevonden wordt maar vooral in het voorjaar en het najaar is de gevoeligheid voor hogere temperaturen. Bij een temperatuur boven 35 °C kan *N. apis* zich niet meer vermenigvuldigen. Bij 33 °C ontwikkelen *N. apis* en *N. ceranae* zich even snel maar bij zowel 25 °C als bij 37 °C ontwikkelt *N. ceranae* zich wel en *N. apis* niet. Hieruit blijkt dat *N. ceranae* zich bij zowel hogere als lagere temperaturen kan handhaven. Dit zou een verklaring kunnen zijn waarom *N. apis* niet gevonden wordt in de zomer en winter en *N. ceranae* wel [1]. Sporen van *N. ceranae* blijven

ook bij een temperatuur van 60 °C kiemkrachtig [4]. De sporen kunnen het smelten van de was overleven. *Nosema* wordt niet gevonden in larven of poppen, dus pas geboren bijen zijn vrij van *nosema*.

Literatuur

- [1] Antúnez, K., Martín-Hernández, R., Prieta, L., Meana, A., Zunino, P., Higes, M. 2009. Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environmental Microbiology* 11 (9): 2284-2290.
- [2] Chen, Y.P., Evans, J.D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen-Rindal, D., Pettis, J.S. 2009. Morphological molecular and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee *Apis mellifera*. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 56(2): 142-147
- [3] Chen, Y.P., Evans, J.D., Zhou, L., Boncristiani, H. Kumura, K. Xiau, T., Litkowski, A.M. Pettis, J.S. 2009. Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in honeybees. *Journal of Invertebrate Pathology* 101: 204-209.
- [4] Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., del Aguila, C. 2009. High level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 6886-6889
- [5] Fries, I. 1988. Comb replacement and *Nosema disease* (*Nosema apis* Z.) in honey bee colonies. *Apidologie* 19: 3443-354
- [6] Fries, I., Feng, F., Da Silva, A., Slemenda, SB., Pieniasek, NJ. 1996. *Nosema ceranae* n.sp. (Microsporidia, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Parasitology* 32: 356-365
- [7] Fries, I., Martín, R., Meana, A., García-Palencia, P. Higes, M. 2006. Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *Journal of Apic. Res.* 45(3): 230-233
- [8] Fries, I. 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* 103: 573-579
- [9] Higes, M., Martín, M., Meana, A. 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology* 92: 81-83
- [10] Jimenez, D.R., Gilliam, M. 1990. Ultrastructure of the ventriculus of the honeybee (*Apis mellifera* L.), cytochemical localization of acid phosphatase, alkaline phosphatase and non specific esterases. *Cell Tissue Res.* 261: 431-443
- [11] Matilla, H.R., Otis, G.W. 2006. Effect of pollen availability and *Nosema* infection during the spring on division of labor and survival of worker honey bees (hymenoptera: Apidae). *Environmental Entomology* 35 (3): 708-717
- [12] Mayack, C., Naug, D. 2009. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology* 100: 185-188
- [13] Paxton, R.J., Klee, J., Korpela, S. Fries, I., 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38: 558-565
- [14] Plischuk, S., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Lucia, M., Botias, C., Meana, A., Abrahamovich, A.H., Lange, C., Higes, H. 2009. South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology Reports*
- [15] Sokół Rajmund, Molska Dorota, Siuda Maciej, 2007. The influence of the invasion of *Nosema apis* on the number of pollen seeds in bees' intestines. *Pol. J. Natur. Sc.*, Vol. 22(1): 150-156, Y. 2007
- [16] Rutrecht, S., Brown, M.J.F. 2009. Differential virulence in a multiple-host parasite of bumble bees: resolving the paradox of parasite survival. *Oikos* 118: 941-949
- [17] Webster, T.C., Pomper, K.W., Hunt, G., Thacker, E.M., Jones, S.C. 2004. *Nosema apis* infection in worker and queen *Apis mellifera*. *Apidologie* 35: 49-54
- [18] Zander, E. 1909. Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Münchener Bienenzeitung* 31: 196-204



Begrippen

- Virulentie is het vermogen van een organisme om een ander organisme ziek te maken.
- Ventriculus is de wetenschappelijke naam van de middendarm van insecten. Beide begrippen worden door elkaar gebruikt

Afkortingen

In het artikel worden diverse nosemasoorten en bijensoorten genoemd. Deze worden hieronder weergegeven met de afkorting zoals deze in de factsheet gebruikt wordt

Nosema apis - *N. apis*

Nosema ceranae - *N. ceranae*

Nosema bombi - *N. bombi*

Europees honingbij *Apis mellifera* - *A. mellifera*

Aziatische honingbij *Apis cerana* - *A. cerana*

noot 1.

Enzymen zijn eiwitten die in lichaamcellen geproduceerd worden. Enzymen maken chemische reacties mogelijk zoals de spijsvertering. De spijsverteringsenzymen in de honingbij zorgen ervoor dat bijvoorbeeld de eiwitten in het stuifmeel afgebroken worden tot aminozuren. Met de aminozuren kunnen weer nieuwe eiwitten gemaakt worden. Voorbeelden waarbij de aminozuren van het stuifmeel opnieuw gebruikt worden voor nieuwe eiwitten zijn de productie van het voedersap, de groei en vervanging van lichaamcellen en de productie van nieuwe enzymen..

noot 2.

Het harde exoskelet (stevige buitenkant die de vorm van een organisme bepaalt en in stand houdt) van insecten is gemaakt van chitine. Chitine is een polysaccharide, een molecuul opgebouwd uit suikers waaraan ook een stikstofverbinding gekoppeld is. Chemisch lijkt chitine erg veel op cellulose, de houtstof die bomen hun stevigheid geeft.