

De bij,

bewaker van gezondheid en leefmilieu,
indicator voor ecosystemen

WETENSCHAPPELIJKE PUBLICATIE



federale overheidsdienst
VOLKSGEZONDHEID,
VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN
EN LEEFMILIEU

.be



**De bij,
bewaker van gezondheid en
leefmilieu,
indicator voor ecosystemen**

Rapport opgesteld voor de Federale Overheidsdienst
Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en
Leefmilieu

BESTEK nr. DG5/AMS/CP/12024

September 2013

Dankwoord

Onze dank gaat in de eerste plaats uit naar de heer Melchior Wathelet, Staatssecretaris voor Leefmilieu, en naar de Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu, die ons dit werk hebben toevertrouwd; zonder hen zou dit werk er natuurlijk niet geweest zijn. Wij danken hen dus voor het vertrouwen dat zij in ons hebben gesteld, en vooral voor de belangstelling die zij hebben voor de bij en het leefmilieu.

Ook willen wij de experts bedanken die ermee ingestemd hebben om hun kennis met ons te delen tijdens het colloquium « De bij als bewaker van gezondheid en leefmilieu en als indicator van de ecosystemen » dat op 6 juni 2013 plaatsvond in het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen: Denis Michez (Universiteit Bergen), Nicolas Vereecken (*Université libre de Bruxelles*), Monique L'Hostis (dierenartsenschool Oniris, Nantes), Cyril Vidau (*Institut technique de l'abeille et de la pollinisation* (Frankrijk)), Jean-Marc Bonmatin (CNRS) en Laura Maxim (ISC-CNRS). Zij hebben in dit werk een belangrijke rol gespeeld. In het bijzonder betuigen wij dank aan Nicolas Vereecken, die bepaalde delen ervan heeft nagelezen en correcties en verbeteringen heeft aangebracht.

Hierna wordt meermaals verwezen naar dat colloquium en naar de toespraken die een stempel gedrukt hebben op het verloop ervan. Wie dat wenst, kan het verslag van het colloquium terugvinden op www.natpro.be.

Samenvatting

Bijen hebben een nauwe band met hun leefomgeving, waaruit zij al hun bestaansmiddelen halen. Dat geldt voor alle bijensoorten, die allemaal meegeëvolueerd zijn met de bloemdragende planten en er zeer afhankelijk van zijn.

Die co-evolutie maakt hen tot ideale bestuivers. Naar het aandeel van bestuiving in de landbouwproductie zijn heel wat onderzoeken gevoerd, waarvan sommige een poging gedaan hebben om de geldwaarde ervan te becijferen. Naast die waarde is dierlijke bestuiving absoluut noodzakelijk voor de productie van de meeste soorten groente en fruit, die nog nauwelijks weg te denken zouden zijn uit de menselijke voeding. Ook al zijn de wilde soorten doorgaans efficiëntere bestuivers dan de huisbij, toch blijft die laatste onontbeerlijk om grote groepen bloeiërs en meer bepaald bloemeteelten te bestuiven, dankzij de omvangrijke populaties haalbijen. De vraag naar bestuiving neemt momenteel wereldwijd toe door de evolutie van de levensstandaard en bijgevolg de vraag naar landbouwproducten; de hoeveelheid gekweekte bestuivers volgt de stijgende trend van de vraag niet, en die situatie wijst er ons op dat het dringend nodig is om de bestuivers te beschermen. Die zijn momenteel in gevaar, door het verlies van habitats en flora en ook door de grote oversterfte die sinds ongeveer twee decennia vastgesteld wordt in de bijenkasten van Europa en andere continenten.

Van alle bijensoorten is er in ons land slechts één gedomesticeerd: de honingbij, waaruit imkers diverse producten halen: niet alleen honing, maar ook was, en stuifmeel en propolis, die een groeiende markt vormen.

Niet-*Apis*-bijen, die opvallend divers zijn wat betreft het aantal soorten, maar ook op het vlak van flora en habitats, zijn geschikt om ecosysteemindicatoren aan te leveren (voor de toestand en de samenstelling van de ecosystemen). Huisbijen vormen – door de overvloed aan populaties, het kweekgemak ervan, de geschiktheid ervan voor laboproeven, de verworven kennis met betrekking tot de biologie ervan, de gevoeligheid ervan voor milieucontaminanten en tot slot hun foerageerbereik – een soort die in staat is om in een vroeg stadium te waarschuwen voor milieuverontreiniging en algemener genomen voor de aantasting van dat milieu waarin ook wij leven: de honingbij is met andere woorden een bewakerssoort.

De bijenkolonie – een superorganisme dat strikt gereguleerd wordt en zichzelf organiseert – is immers gevoelig voor storingen van antropogene oorsprong. De goede werking van de kolonie hangt bovendien af van de integriteit van de fysiologische functies en de gedragsvaardigheden van de individuen die er deel van uitmaken, en die vaardigheden zijn, meer bepaald wat leerprocessen betreft, bijzonder gespecialiseerd. Naar de pathologie van bijen zijn heel wat onderzoeken gevoerd, waaruit blijkt dat de meeste parasieten waarmee ze te maken krijgen, met uitzondering van de *Varroa*, met hen meegeëvolueerd zijn; over de microbiële ecologie van de bijenkast zijn recentelijk zeer relevante publicaties verschenen. Ook de toxicologie werd uitgebreid onderzocht, meer bepaald naar aanleiding van de talrijke incidenten met fytosanitaire producten in bijenstallen; uit dat onderzoek bleek dat die producten, naast hun letale effecten, subletale effecten op de bij

kunnen hebben die op termijn kunnen leiden tot het uitsterven van de kolonie doordat ze een invloed hebben op de fysiologie of het gedrag van de individuen. Eveneens werden synergetische effecten tussen stoffen onderling, of tussen stoffen en ziekteverwekkers, aangetoond.

Bijen worden blootgesteld aan microparticulaire contaminanten in de lucht aangezien hun vertakte haren gemaakt zijn om stuifmeelkorrels te vangen die een diameter van enkele tientallen micron hebben. Nectar, stuifmeel en water zijn andere blootstellingswegen, die een aanvulling vormen op het milieuveld dat via de bij onderzocht kan worden. Bijen werden reeds ingezet om milieuverontreiniging te monitoren, meer bepaald radioactiviteit (Italië, Verenigde Staten), metalen (in heel wat landen, onder meer een studie over lood in België) en pesticiden van agrarische oorsprong (met name in Griekenland en Italië). In Frankrijk en Italië werden globale projecten opgezet, waarbij meerdere contaminanten gemonitord werden.

Verschillende projecten voor monitoring van de bij zelf werden opgestart op Europees niveau (project CoLoss, rapport « Bee mortality and bee surveillance » van de EFSA) en op Belgisch niveau (bewakingsprogramma van het FAVV, projecten MinBee en VirBee, monitoring CARI/CRA-Gx/FUSAGx). Momenteel loopt er evenwel geen enkel project dat alle elementen in zich draagt om er een echte eco-epidemiologische studie van te maken die de overheid in staat stelt om zowel de bijen als – via de bijen – de toestand van het milieu en de gevolgen ervan voor de gezondheid van de mens te monitoren.

Het lijkt dus wenselijk om een project in te voeren van het type « de bij als bewaker »; een dergelijk project zou ons land overigens in staat stellen om een koppositie te verwerven in deze sector van de toegepaste wetenschappen, een sector waarin nieuwe methodes, zoals die van de biomarkers, niet alleen op Belgisch, maar ook op internationaal niveau tot nooit eerder geziene ontwikkelingen kunnen leiden.

Hoewel de uitwerking van een project rond ecosysteemindicatoren op basis van de wilde soorten, dat evenzeer wenselijk is, ons veeleer een bevoegdheid van de gewesten lijkt, valt de uitwerking van een project rond de huisbij als bewaker – door de grote gevolgen ervan voor de gezondheid van de mens – volledig onder de federale bevoegdheden inzake diergezondheid, geneesmiddelen en leefmilieuproductnormen.

Dit soort project

- geeft een beeld van de situatie op het terrein,
- laat toe de contaminanten op te sporen waaraan een populatie (mensen, bijen) effectief wordt blootgesteld, met inbegrip van de cocktaileffecten van die contaminanten waarvan de toxische risico's individueel geëvalueerd worden terwijl er op het terrein meerdere zijn,
- maakt het mogelijk om aan dat contaminatieniveau een gezondheidsniveau van de bijenkolonies te verbinden dat een vroegtijdige waarschuwing geeft ten aanzien van de gezondheid van de mens.

We weten dat het verband tussen een gezondheidsprobleem en een contaminant zeer moeilijk aan te tonen is met klassieke proeven zoals die gebruikt worden bij de

evaluatie van moleculen (inclusief veldproeven) aangezien de toxiciteit zich chronisch en op een subleetaal niveau manifesteert. Enkel een eco-epidemiologische studie (met name een project rond de bij als bewaker) kan duidelijkheid scheppen over een dergelijk verband. Het uitvoeren van een studie rond de bij als bewaker is dus een noodzakelijke aanvulling op de activiteiten betreffende de evaluatie van chemische moleculen, ongeacht of het gaat om biociden, fyto-sanitaire of industriële stoffen.

Het voeren van een project rond de bij als bewaker is, door het epidemiologische aspect ervan, is de enige manier om een licht te kunnen werpen op de oorzaken van de grote sterfte die het bijenbestand al sinds bijna twintig jaar treft. Bovendien maakt een dergelijk project het mogelijk om inzicht te krijgen in de toestand van het leefmilieu waarin de kolonies leven, en waarin ook wij leven, en waarin de bij, door haar gevoeligheid voor toxische contaminanten, een rol speelt op het vlak van vroegtijdige waarschuwing. Om al die redenen vormt een project rond de bij als bewaker geen overlapping met de reeds aan de gang zijnde onderzoeken en studies, maar een aanvulling op de bestaande manieren van aanpak, met name de studies rond bijengezondheid of de wetenschappelijke beoordeling van fyto-sanitaire producten en biociden. Een dergelijk project vergt een multidisciplinaire aanpak en veronderstelt samenwerking tussen epidemiologen, bijenspecialisten, scheikundigen en pathologen. Het vereist tevens samenwerking tussen de bevoegde overheid, de voornoemde wetenschappers en de imkerijsector. Het is tegelijk een opportuniteit voor wetenschappelijke vooruitgang en een praktisch instrument voor ondersteuning bij besluitvorming en sensibilisatie van alle partijen die betrokken zijn bij het lot van bestuivers, en ruimer genomen bij het lot van het milieu.

Inleiding

Een kolonie honingbijen telt duizenden haalbijen die hele dagen van de ene bloem naar de andere vliegen en daar telkens een kleine hoeveelheid nectar of stuifmeel opnemen. Vervolgens keren ze allemaal terug naar de kast met hun kostbare oogst. Maar die oogst komt niet altijd alleen: in de loop van de dag verzamelt de bij ook de contaminanten die ze tijdens haar vluchten en voedselopnames tegengekomen is.

Dat alles maakt een kolonie bijen tot een geweldig instrument om monsters te nemen uit het leefmilieu. Het zal dan ook niet verbazen dat het idee om bijen voor milieumonitoringdoeleinden te gebruiken, al lang bestaat: de eerste studies dateren namelijk van bijna 80 jaar geleden¹.

Sindsdien is de wereld erg veranderd; het belang en de noodzaak van dergelijke acties zijn er alleen maar dringender op geworden. De ecosystemen worden immers bedreigd, en de vervuiling creëert problemen voor de volksgezondheid die niemand nog kan ontkennen.

Ook weet iedereen dat de huisbijen momenteel in heel de wereld abnormaal aan het slinken zijn. Net zoals in andere landen en op andere continenten komt het in België zelden voor dat imkers nog durven wedden dat hun kolonies de winter zullen overleven. En de honingbij is niet de enige die een neergang kent. Ongeveer 19 000 andere soorten vormen wereldwijd het buitengewoon rijke en gevarieerde universum van de bijen. Ze verzamelen allemaal nectar en stuifmeel; ze staan allemaal nauw in contact met hun omgeving. In bepaalde gebieden van de wereld gaat het met dat universum momenteel ook bergafwaarts: sommige soorten verdwijnen langzaam uit onze landschappen, terwijl andere soorten, die zich gemakkelijker kunnen aanpassen, voordeel halen uit de verdwijning van hun concurrenten: de diversiteit is in gevaar.

Wat gebeurt er? Staat het leefmilieu op het spel? Wat willen de bijen ons zeggen, met hun duidelijke verslechterde toestand? En zou die verslechterde toestand geen voorbode zijn van vergelijkbare vormen van achteruitgang die andere soorten, waaronder de mens, kunnen treffen?

Dat vermoeden houdt veel van onze medeburgers bezig. Het verklaart de belangstelling die het publiek vandaag de dag toont voor de bij, en het succes van de campagnes rond bijen, zoals de campagne « *L'abeille, sentinelle de l'environnement* » (de bij als bewaker van het leefmilieu), die een paar jaar geleden reeds opgezet is door een Franse imkervereniging.

Maar de bij als bewaker is niet alleen maar een slogan. De bij kan, door haar bijzondere eigenschappen op het vlak van gedrag en fysiologie, echt een bewakerssoort zijn, in de wetenschappelijke betekenis van het woord. De bij, die in ons leefmilieu woont, is getuige van de contaminanten waaraan wij worden blootgesteld; ze is er immers voldoende gevoelig voor om een systeem voor

¹ Het idee zou verschenen zijn in teksten die dateren van ten laatste 1935 (Van der Steen *et al.* 2012).

vroegtijdige waarschuwing te bieden, dat niet alleen uit ecologisch oogpunt maar ook op het vlak van de menselijke gezondheid interessant is.

Hoe komt het nu dat de bij over die bijzondere eigenschappen beschikt? Wat is het belang van een dergelijk systeem, op zichzelf beschouwd, en in het bijzonder in ons land? Die vragen kwamen aan bod tijdens een colloquium dat op 6 juni laatstleden in Brussel plaatsvond². Ze worden ook, maar dan op uitvoeriger wijze, behandeld in de hierna volgende pagina's.

Veel leesgenot!

² « De bij als indicator van de ecosystemen », onder de hoge bescherming van de Staatssecretaris voor Leefmilieu Melchior Wathelet – organisator: *Nature et Progrès Belgique* – FOD VVVL, 6 juni 2013.

Inhoudsopgave

Dankwoord	2
Samenvatting	3
Inleiding	6
Hoofdstuk 1. Oorsprong en diversiteit van bijen	10
1.1. De co-evolutie met bloemdragende planten.....	10
1.2. Wilde bijen, honingbijen, huisbijen	11
1.2.1. De honingbij, een gekweekte bij	12
Hoofdstuk 2: Belang van bestuiving en aandeel van de <i>Apis</i>- en niet-<i>Apis</i>-bijen	16
2.1. Belang van bestuiving	16
2.2. Aandeel van de wilde bijen en de honingbijen in de bestuiving	18
2.2.1. Prestaties van wilde bestuivers	18
2.2.2. Wilde bestuivers en honingbijen: concurrentie en synergie.....	19
2.3. Op weg naar een bestuivingscrisis?	21
2.3.1. Het aanbod: de hoeveelheid bestuivers	21
2.3.2. De vraag: de bestuiversafhankelijke cultuurgewassen	23
Hoofdstuk 3: Bewaker, indicator: twee verschillende begrippen.	25
3.1. Indicatoren en bewakers in de wetenschappelijke literatuur	25
3.1.1. De indicatorsoorten	25
3.1.2. De bewakerssoorten	27
Hoofdstuk 4: De niet-<i>Apis</i>-bijen	30
4.1. Over de taxonomie van de niet- <i>Apis</i> -bijen	30
4.2. Levenscyclus en leefwijzen van de niet- <i>Apis</i> -bijen	31
4.2.1. Habitats.....	32
4.2.2. Middelen van bestaan	32
4.3. Pathologie van de niet- <i>Apis</i> -bijen	33
4.4. Toxicologie van de niet- <i>Apis</i> -bijen	34
Hoofdstuk 5: De honingbij	37
5.1. Oorsprong en evolutie.....	37
5.2. De honingbij als wetenschappelijk model.....	38
5.3. Enkele grondbeginselen uit de biologie van de honingbij	40
5.3.1. De bijenkolonie, een superorganisme	40
5.3.2. De bijenkolonie, een gereguleerd systeem	41
5.3.3. De bijenkast, een zichzelf organiserend systeem	43
5.3.4. Voedselverbruik en uitwisseling van voedsel binnen de kolonie	44
5.3.5. Hersenen en cognitie: onverwachte vaardigheden	44
5.4. Pathologie van de honingbij	47
5.4.1. Varroase, een uitwendige parasitose	48
5.4.2. Meegeëvolueerde parasieten	49
5.5. Toxicologie van de honingbij	50
5.5.1. Bijen en pesticiden: een (lange) gemeenschappelijke geschiedenis	51
5.5.2. Enkele grondbeginselen uit de toxicologie van de honingbij	56
Hoofdstuk 6: Vermogen van wilde bijen en huisbijen om als indicator of als bewaker te fungeren	60
6.1. De bij als ecosysteemindicator	60
6.2. De bij als bewaker	61
6.2.1. Blootstelling van de honingbij aan milieucontaminanten	61
6.2.2. Zichtbare en meetbare pathologische verschijnselen	66
6.2.3. Makkelijk te tellen populaties die voldoende groot zijn	67
6.2.4. Voldoende kennis van de biologie/pathologie van de soort.....	68
6.2.5. Conclusie: de honingbij als bewaker.....	68

Hoofdstuk 7: De bij als bewaker: uitgevoerde of bestaande projecten	71
7.1. Detectie van radioactiviteit.....	71
7.1.1. Rond Amerikaanse nucleaire sites	71
7.1.2. Na het ongeval in Tsjernobyl	72
7.2. Detectie van metalen	72
7.2.1. Milieumonitoring	73
7.2.2. Een bijzonder geval: het project in Brussel.....	74
7.3. Detectie van pesticiden	75
7.4. Algemene projecten rond de bij als bewaker	76
7.4.1. Italiaanse projecten.....	77
7.4.2. Project Oniris – CVFSE: « de bij als bewaker van de ecosysteemgezondheid ».....	79
7.5. Bij wijze van besluit.....	81
Hoofdstuk 8: Een project rond de bij als bewaker/indicator in België?	83
8.1. Indicator of bewaker?.....	83
8.2. Belang van een project rond de bij als bewaker in België	83
8.2.1. De bij, bestaande projecten	83
8.2.2. De bij als bewaker, belang ten aanzien van de uitgevoerde of aan de gang zijnde werkzaamheden	86
8.3. De bij als bewaker: methodes en parameters voor opvolging	87
Algemene conclusies	95

Hoofdstuk 1. Oorsprong en diversiteit van bijen

De term « bijen » heeft betrekking op ongeveer 20 000 soorten die de monofyletische groep van de Anthofielen of Apidae vormen, een van de twee groepen die tot de superfamilie van de Apoidea behoren, waarbij de andere familie gevormd wordt door de langsteelgraafwespen (Sphecidae) (Engel 2005). Bijen zijn Hymenoptera of vliesvleugeligen (insecten met twee paar vleugels) die tot de onderorde van de Apocrita behoren (omdat het abdomen of achterlijf gescheiden is van de thorax of het borststuk door een petiolus of steelachtige verbinding) en angeldragend zijn (ze zijn voorzien van een angel en niet van een ovipositor)³. Ze onderscheiden zich van de andere vliesvleugeligen – mieren en wespen – door hun voeding en door hun uiterlijke kenmerken, hun voorzieningen om stuifmeel te verzamelen. Door hun voeding, want aan de nodige eiwitten komen ze niet door prooien te vangen (zoals onder meer bij de gewone wesp) maar door stuifmeel te verzamelen – ze zijn dus strikt vegetarisch, terwijl wespen en mieren voor een deel carnivoren zijn -; door hun uiterlijke kenmerken, want ze zijn, voor de verzameling van stuifmeel, voorzien van gevorkte haren die partikels met een diameter van enkele tientallen micron kunnen vangen, en van anatomische verzamelstructuren, borstels en korfjes⁴ (Thorp 1979). Het is dus hun verhouding tot stuifmeel die kenmerkend is voor bijen, en het zal niet verbazen dat ze een vooraanstaande rol spelen bij de bestuiving van planten.

1.1. De co-evolutie met bloemdragende planten

Planten worden bestoven door de wind (anemofiele planten of windbloeiers) en (of) door insecten (entemofiele planten of insectenbloeiers). We merken hierbij op dat er tussen de volledig anemofiele planten (graangewassen bijvoorbeeld) en de volledig entemofiele planten (kiwi bijvoorbeeld) geen hiaat is: de meeste soorten worden door beide wegen gelijktijdig bestoven, en in variabele verhoudingen – ze zijn dus voor x% anemofiel en voor y% entemofiel met $y = 100 - x$.

Vergeleken met windbestuiving biedt insectenbestuiving een aanzienlijk evolutief voordeel. Voor de productie van stuifmeel verbruikt de plant energie. Via bestuivers kan op een groot deel van dat verbruik bezuinigd worden: de stuifmeelproductie van een entemofiele plant ligt veel lager dan die van een anemofiele plant⁵. Dat valt te

³ Over de systematiek van de orde van de Hymenoptera en de bijen, zie het mooie artikel van André Payette van het insectarium van Montréal, over de superfamilie van de Apoidea, terug te vinden op het Internet:

<http://courriel.ville.montreal.qc.ca/insectarium/toile/nouveau/preview.php?section=articles&page=15> (geraadpleegd op 8 juli 2013).

⁴ De borstels en stuifmeelkorfjes ontbreken evenwel bij de koekoeksbijen, broedparasitaire bijen die hun eitjes in het nest van andere bijen leggen.

⁵ Om die reden is allergeen stuifmeel vooral stuifmeel van anemofiele planten, zoals gemeld wordt door alle waarschuwingsnetwerken (zie bijvoorbeeld http://www.vegetation-en-ville.org/allergies-plantes_comment.php).

verklaren door het feit dat bestuivers het stuifmeel op een veiliger manier naar de eierstokken van individuen van dezelfde soort transporteren dan het geval is bij de wind, waarbij de verspreiding natuurlijk op toeval berust. Dat geldt in het bijzonder voor bijen, die bloemvast zijn (dit wil zeggen dat ze eenzelfde soort blijven bevliegen zolang die hen voldoende nectar of stuifmeel bezorgt) wanneer ze niet volledig gebonden zijn aan een soort, zoals het geval is voor bepaalde wilde bijen.

Bloemdragende planten en bijen zijn dan ook samen geëvolueerd. De gezamenlijke oorsprong van de bijensoorten zou teruggaan tot iets meer dan 120 miljoen jaar (Aptien, vroege Krijt), net zoals die van de “nieuwe” tweezaadlobbigen, een stam die ook monofyletisch is en momenteel goed is voor 75% van de soorten bedektzadigen⁶. De diversifiëring van beide soorten zou gezamenlijk gebeurd zijn, met een bloei van het aantal soorten in het late Krijt, waarbij de bedektzadigen dominant worden in de flora – nog altijd in het Krijt, tussen het Albien en het Turonien, dit wil zeggen slechts 20 à 30 miljoen jaar na de differentiatie van eudicots of “nieuwe” tweezaadlobbigen en bijen (Cardinal en Danforth 2013). Vandaag de dag tellen de tweezaadlobbigen, waarvan de meeste « nieuwe » tweezaadlobbigen zijn, ongeveer 199 350 soorten⁷, bijen tellen er 19 000 (bron: Denis Michez, voordracht tijdens het colloquium van 6 juni 2013). We kunnen dus stellen dat de ontmoeting tussen bloemen en bijen een daverend succes was waaraan het evolutieve voordeel wordt afgemeten dat zij gekregen hebben dankzij het mutualisme, de grondslag van hun bestaan: de planten hebben de bloemen ontwikkeld en gediversifieerd als antwoord op de ontwikkeling en de diversifiëring van de bijen, en omgekeerd.

Bijen en bloemdragende planten tonen dan ook een perfecte wederzijdse aanpassing. De bloemen zijn opvallend gevormd om bijen aan te trekken, door hun geuren, hun symmetrieën, hun kleuren, hun texturen, naast het stuifmeel en de nectar die ze bieden; en de bijen zijn opvallend gevormd om bloemen te bestuiven, door hun gevorkte haren en hun voorzieningen om stuifmeel te verzamelen zoals we gezien hebben, maar ook door hun vermogen om geuren, kleuren, symmetrieën en texturen waar te nemen en te memoriseren, en door de vele bijkomende vaardigheden die nodig zijn om hun flora te memoriseren, terug te vinden en met elkaar uit te wisselen (zie punt 5.3. hieronder). Bijen zijn niet de enige dierlijke bestuivers, integendeel; maar door de aanpassingen die voortvloeien uit hun co-evolutie met de “nieuwe” tweezaadlobbigen zijn bijen, van alle dieren, de bestuivers bij uitstek.

1.2. Wilde bijen, honingbijen, huisbijen

Vaak worden wilde bijen en honingbijen, of huisbijen, tegenover elkaar geplaatst. De gelijkstelling van honingbijen met huisbijen is echter niet volledig correct. Er moet bij

⁶ Bloemdragende planten omvatten eenzaadlobbigen (de meest gekende zijn graangewassen), die door de wind bestoven worden, en tweezaadlobbigen. Die laatste omvatten zelf meerdere stammen; de voornaamste daarvan zijn de Magnoliaceae (magnolia's, tulpenbomen, ...) en de “nieuwe” tweezaadlobbigen, waartoe de meeste bloemensoorten behoren (zonnebloem, paardenbloem enz.). Die eudicots, zoals ze soms genoemd worden, worden gekenmerkt door het feit dat hun stuifmeelkorrels tricolporaten zijn (drie kiemopeningen, driedelige symmetrie); dat zijn de « evolutieve partners » van de bijen.

⁷ Bron: Wikipedia: <http://en.wikipedia.org/wiki/Dicots>.

die concepten even worden stilgestaan, zowel om exact te weten waarover in de verdere tekst gesproken wordt als omdat het statuut van de verschillende bijen in dat opzicht een absolute voorwaarde is om te begrijpen wat er gebeurt als er keuzes gemaakt moeten worden bij de ontwikkeling van een «bijen»-indicator.

1.2.1. De honingbij, een gekweekte bij

De honingbij is in onze contreien een inheemse soort – dit wil zeggen dat ze er gekomen is zonder geholpen te zijn door de mens (o.m. De la Rúa *et al.* 2009; Han *et al.* 2012). Dat is niet het geval in het grootste deel van het Aziatische continent, waar overwegend andere bijen van het geslacht *Apis*⁸ voorkomen, noch op het Amerikaanse en Australische continent, waar de enige inheemse bijen tot andere geslachten behoren (niet-*Apis*-bijen)⁹. Zoals wij de honingbij kennen, zou ze voortvloeien uit een evolutie in drie fasen: (1) de differentiatie ten opzichte van de andere bijen die in holtes nestelen, (2) de differentiatie tussen ondersoorten volgens de gebieden van Europa, Afrika of het Midden-Oosten waar ze zich verspreid hebben en (3) de vermenging van die ondersoorten, gewild (kruising) of niet gewild, door menselijke activiteit (Han *et al.* 2012). De geografische oorsprong van de bijen die zich op het Europese continent verspreid hebben, blijft omstreden: volgens sommigen ligt die in Azië (Ruttner *et al.* 1978, Garnery *et al.* 1992), maar recenter nemen onderzoekers veeleer aan dat de honingbij van Azië gekomen is en via Afrika, het enige andere continent waar de *Apis mellifera* inheems is, tot bij ons geraakt is (Whitfield *et al.* 2006). Die ondersoorten zijn zich wellicht 1,25 miljoen jaar geleden (Garnery *et al.* 1992, Han *et al.* 2012)¹⁰ beginnen verspreiden; die schatting is onzeker, maar de verspreiding lijkt voort te komen *uit gebeurtenissen die voorafgaan aan recentere gebeurtenissen, zoals de expansie vanuit de glaciële schuilplaatsen van het Pleistoceen*¹¹, of nog recenter de verspreiding door de mens (Han *et al.* 2012, p. 1955). De honingbij is dus inheems op het Europese continent, en is steeds in staat om in ons land in het wild te leven.

Haar natuurlijke habitat is er evenwel zo goed als verdwenen. De bijenkolonies overleven bij extreem lage temperaturen (zie met name Owens 1971) maar de thermoregulerende tros die ze in de winter vormen, functioneert slechts naar

⁸ Voornamelijk *Apis ceranae*, ook een bij die gekweekt wordt om honing te verzamelen; *Apis dorsata* en *Apis florea*, de reuzenhoningbij en de dwerghoningbij, die nesten met één enkele honingraat bouwen.

⁹ Recentelijk werd in Nevada evenwel een fossiele bij van het geslacht *Apis* ontdekt die van het Mioceen dateert. Volgens Engel *et al.* (2009), die ze beschreven hebben, zou de latere verdwijning van dat geslacht van het nieuwe continent verklaard kunnen worden door het klimaat dat er nadien overheerste, met afwisselend warme-vochtige/droge-koude periodes.

¹⁰ Het gaat om een schatting op basis van de divergentiegraad tussen de mitochondriale DNA's van die verschillende ondersoorten, waarbij een divergentiegraad per miljoen jaar vereist is.

¹¹ Typisch voor het Pleistoceen, dat het grootste deel van het Kwartair vormt, was de afwisseling van ijstijden en tussenijstijden. De fauna en de flora die konden overleven in de glaciële gebieden, zochten beschutting in de delen van Europa die niet door ijsvorming getroffen waren (het Zuidelijk, Iberisch, Italiaans en Grieks schiereiland) en begonnen een nieuwe expansie naar het noorden toen de ijstijd plaats maakte voor een tussenijstijd (zie met name Hewitt 1999).

behoren als er geen wind is¹². De kolonie kan dus in de winter alleen maar overleven als ze beschut is tegen de wind, in een rotsspleet of meestal in een holle boomstam; en hoewel holle bomen vaak voorkomen in semiwilde bossen, zijn ze uitzonderlijk in intensief geëxploiteerde bossen want de uitholling van de stam vernietigt de economische waarde ervan. Bovendien wordt het overleven van de wilde zwermen op lange termijn ook in gevaar gebracht door varroase (Kraus en Page 1995 in Jaffé *et al.* 2010). De honingbij is bij ons dus waarschijnlijk, voor de meeste onder hen, een gekweekt dier (Moritz *et al.* 2007).

We wijzen er evenwel op dat de honingbij niet de enige bij is die gekweekt wordt. Niet alleen worden elders ter wereld andere bijen gekweekt met het oog op de honingproductie (*Apis cerana* in Azië, de Meliponinae of angelloze bijen op het Amerikaanse en Afrikaanse continent¹³), maar er zijn ook bijen die geen honing produceren, die gekweekt worden om teelten te bestuiven, meer bepaald hommels (*Bombus* spp.), en solitaire soorten zoals sommige metselbijen (*Osmia*) en behangersbijen (*Megachile*).

1.2.2. De honingbij, een huisbij (domesticatie)

In de gewone betekenis van het woord is domesticatie het feit, voor een dier of een plant, gekweekt te worden, of ondergebracht en verzorgd te worden door de mens. In die zin zijn de bijenkolonies die de imkers in hun bijenkasten onderbrengen, dus gedomesticeerd. In de biologie heeft het woord « domesticatie » echter een andere betekenis, het gaat om een cumulatief proces gekenmerkt door veranderingen aan beide zijden van de mutualistische relatie, in die zin dat de twee partnerpopulaties met de tijd onderling steeds meer afhankelijk worden (Zeder *et al.* 2006, p. 139). De gedomesticeerde soorten zijn op die manier geëvolueerd onder invloed van die mutualistische relatie. Tamme zoogdieren bijvoorbeeld hebben op volwassen leeftijd kenmerken die bij hun wilde voorouders specifiek voorkwamen in het foetale stadium of op zeer jonge leeftijd: lichtere of bonte, zelfs witte huid, platter gezicht, en op het vlak van gedragingen: spelplezier, aanvaarding van een baas ... Biologen noemen dat behouden van jeugdige kenmerken op volwassen leeftijd *neotenie* (zie met name Lorenz 1954, pp. 225 *sq.*). Ook geteelde planten hebben zich aangepast aan de omgevingsverandering die de landbouw hen heeft doen ondergaan: in vergelijking met hun wilde voorgangers hebben ze onder meer grotere zaden, een meer in de tijd geconcentreerde rijping en een kortere kiemtijd (verdwijnen van dormantie of kiemrust bijvoorbeeld) (Zeder *et al.* 2006). Dientengevolge zijn de meeste gedomesticeerde planten en dieren niet in staat om terug te keren naar hun leven in het wild en kunnen ze zich slechts met de hulp van de mens ontwikkelen en voortplanten – dat is met name het geval bij een ander insect dat door de mens gekweekt wordt, de zijderups (*Bombyx mori*), waarvan de wilde voorouders overigens uitgestorven zijn (Oldroyd 2012).

¹² Dat is met name toe te schrijven aan het feit dat de tros zijn temperatuur controleert door het zuurstofgehalte nauwlettend te reguleren – in feite functioneert de tros meestal in hypoxie (Van Nerum en Buelens 1977).

¹³ Over het kweken van Meliponinae, zie de zeer mooie, in Mexico gemaakte reportage van Eric Tournet, op de website van deze bijenfotograaf:
<http://www.thehoneygatherers.com/html/phototheque20.html>.

Maar ondanks het feit dat de bij al heel vroeg gekweekt werd¹⁴, werd ze strikt genomen nooit gedomesticeerd (Oxley en Oldroyd 2010 *in* Oldroyd 2012). Er zijn twee hypothesen die dat kunnen verklaren:

1. De bij is niet ontvankelijk voor domesticatie.
2. Met de apicultuurpraktijken was domesticatie niet mogelijk.

Wij zijn niet bevoegd om die hypothesen in aanmerking te nemen; we wijzen er enkel op dat de tweede hypothese perfect aannemelijk is. De bijenteelt werd immers lange tijd beoefend in een context van constante uitwisselingen met wilde kolonies. De bijenkolonie plant zich voort door zwerming, en altijd al hebben imkers de zwermen die binnen hun bereik vlogen, gevangen – en sommige daarvan waren afkomstig van wilde kolonies – terwijl omgekeerd sommige van de zwermen die ze verloren, terug in de natuur gingen leven. Die uitwisselingen tussen wilde en gekweekte kolonies zijn tot op heden de regel gebleven in de gebieden waar de honingbij nog de mogelijkheid heeft om nesten te maken; ze zijn helemaal of zo goed als onbestaande in ons land, waar de natuurlijke habitat van de honingbij als gevolg van de verstedelijking en de bosexploitatie nagenoeg verdwenen is, en waar de apicultuurpraktijken het zwermen sterk verminderen. De situatie in Europa in dat opzicht is dus zeer variabel, maar nergens is het nog mogelijk om een onderscheid te maken tussen verwilderde kolonies (dit wil zeggen afkomstig van gekweekte kolonies die terug in de natuur zijn gaan leven) en zuiver wilde kolonies (afkomstig van lijnen die domesticatie nooit gekend hebben).

De bij is dus geen gedomesticeerd dier in de biologische betekenis van het woord; niettemin maakte ze het voorwerp uit van selectieprocessen (inclusief de Europese donkere bij) en kruisingen, waarbij de eerste import van koninginnen (uit Italië toentertijd) in ons land minstens teruggaat tot het einde van de XIX^{de} eeuw¹⁵. Vandaag de dag is kunstmatige inseminatie, als het al niet de regel is, een heel gebruikelijke praktijk, en introgressie tussen ondersoorten komt vaak voor (o.m. Garnery *et al.* 1998). De mens heeft dus een genetische impact gehad op de bij, een feit waarmee rekening moet worden gehouden als men de fenotypische variabiliteit van de lokale ondersoort onderzoekt.

Bij wijze van besluit ...

Elke honingbij is niet noodzakelijkerwijs een gekweekte bij, en elke gekweekte bij is niet noodzakelijkerwijs een honingbij. De honingbij, die een huisbij is wanneer ze door de mens gekweekt wordt, werd evenwel nooit gedomesticeerd.

¹⁴ Een van de eerste bewijzen waarvan de datering zeker is, is een Egyptisch bas-reliëf, dat van de tempel van Aboe Gorab, dat van 2400 jaar voor onze jaartelling dateert en imkers toont die aan het werk zijn en honing oogsten (Crane 2004).

¹⁵ De door de mens tot stand gebrachte uitwisselingen tussen bijenrassen zouden veel ouder kunnen zijn dat dat! Bij archeologische opgravingen werd in Tel Rehov in de Jordaanvallei (Israël) een drieduizend jaar oude grote stedelijke bijenstal gevonden. Tot verbazing van de onderzoekers bleek de bij die daar gevonden werd, de *A.m. anatolica* (de Anatolische bij) te zijn, en niet de *A. m. syriaca*; een van de hypothesen die de onderzoekers naar voren schuiven om dit merkwaardige feit te verklaren, is dat er toen al een handel in koninginnen of zwermen bestond tussen de twee betrokken gebieden (Bloch *et al.* 2010).

Verwarring is dus mogelijk. Om dat te vermijden, gebruiken we de woorden die de verschillende soorten bijen aanduiden, in de volgende betekenissen:

- honingbij: bij ons, *Apis mellifera* L., de enige honingbij die in onze contreien voorkomt
- niet-*Apis*-bijen: deze term omvat alle andere bijensoorten op ons grondgebied; geen enkele behoort immers tot het geslacht *Apis*
- wilde bijen: bijen die in natuurlijke omstandigheden leven en zich voortplanten
- gekweekte bijen of huisbijen: bijen die ondergebracht en verzorgd worden door de mens
- verwilderde bijen: bijenkolonies afkomstig van bijenstallen die terug in het wild zijn gaan leven.

Hoofdstuk 2: Belang van bestuiving en aandeel van de *Apis*- en niet-*Apis*-bijen

Dierlijke bestuiving is noodzakelijk voor de voortplanting van talrijke gekweekte planten en van de meeste wilde planten; volgens Ollerton *et al.* (2011) zou 87,5% van de bedektzadigen (308 006 soorten!) gebruik maken van dierlijke bestuiving.

2.1. Belang van bestuiving

Er werden al heel wat pogingen gedaan om de economische waarde van bestuiving te becijferen; de vastgestelde achteruitgang van bestuivers is immers verontrustend, en verschillende onderzoeken hebben geprobeerd om de effecten van het verlies van de ecologische dienst die bestuiving is, op de landbouwproductie (in massa, in natura, in waarde) in te schatten. Wij hebben hieronder een aantal van de meest algemene en meest recente onderzoeken opgenomen. Daarbij doken meerdere problemen op, meer bepaald de variabiliteit van de afhankelijkheid van de teelten van dierlijke bestuiving, en de geringe kennis over wilde soorten en over de bijdrage van de dienst die ze leveren. De cijfers moeten dus beschouwd worden als grootteordes en niet als exacte waarden.

Klein *et al.* (2007) hebben geprobeerd om het belang van bestuiving in de landbouwproductie in te schatten. Ze onderzochten de 124 grootste teelten ter wereld (die waarvoor de productie meer dan 4 miljoen ton bedraagt), en de door dierlijke bestuiving geleverde rendementsstijging voor elk van die teelten. Van de 67 onderzochte basisproducten (*commodity's*) zijn er 48 afhankelijk van dierlijke bestuiving; dat is ook het geval voor 39 van de 57 soorten die meest in monoculturen geteeld worden, en die in massa goed zijn voor 35% van de mondiale landbouwproductie. Globaal genomen is, van alle teelten die ze geïnventariseerd hebben (zonder rekening te houden met het criterium productie), 20% van de globale productie afkomstig van teelten die afhankelijk zijn van dierlijke bestuiving voor de productie van groenten en fruit, en is ongeveer 15% afkomstig van teelten die ervan afhankelijk zijn voor de zaadproductie; ook al domineren door de wind bestoven teelten in massa (voornamelijk graangewassen), *toch zou de nutritionele en culturele verscheidenheid aan voedingswaren die elke dag ons voedingspatroon vormen, aanzienlijk afnemen als de bestuiving steeds verder achteruit zou gaan* (p. 307). De auteurs van dat onderzoek benadrukken bovendien dat er een bijzonder risico bestaat voor teelten die afhankelijk zijn van specifieke bestuivers, zoals vanille of passievrucht. Tot slot sommen ze algemene maatregelen op om bestuivers te beschermen: bescherming van de mogelijkheden om nesten te maken, van de flora en van de verbindingen tussen habitats; beperking van het gebruik van pesticiden.

Gallai *et al.* (2009) hebben de poging van Klein *et al.* overgedaan en hebben deze keer het economische gewicht van bestuiving in de mondiale landbouwproductie proberen in te schatten. De auteurs onderzochten de 100 teelten die over heel de wereld rechtstreeks gebruikt worden voor menselijke voeding, integreerden het rendementsaandeel door dierlijke bestuiving en komen op het cijfer van 153 miljard €, wat neerkomt op 9,5% van de waarde van de productie van die 100 teelten. Ze

wijzen erop dat de van dierlijke bestuiving afhankelijke teelten, voornamelijk groenten en fruit, meer waardecreërend zijn dan de teelten die er niet afhankelijk van zijn; de gemiddelde waarde van een ton producten uit niet-afhankelijke teelten bedraagt 151€, die van producten uit afhankelijke teelten bedraagt 761€. De auteurs hebben bovendien voor elke teelt een kwetsbaarheidsindex ten aanzien van de achteruitgang van bestuivers berekend. De meest kwetsbare teelten zijn vanzelfsprekend meest afhankelijk van dierlijke bestuiving; op kop staan gedroogde vruchten, cacao en koffie; daarna komen de specerijen, en dan volgen de peulvruchten, groenten en fruit. Bijgevolg zouden volgens hen niet alle regio's ter wereld in gelijke mate getroffen zijn door een wereldwijde bestuivingscrisis; maar ze zouden wel degelijk allemaal getroffen zijn. We wijzen erop dat bij die raming van 153 miljard euro geen rekening gehouden is met dierenvoeding; die 153 miljard euro is dus geen raming van de volledige agrarische meerwaarde door bestuiving.

Lautenbach *et al.* 2012 schatten die waarde op bijna het dubbele van de raming die Gallai *et al.* (2008) gemaakt hebben, niet alleen omdat de waarde van bestuiving in de wereld voortdurend toeneemt maar ook omdat de manier van rekenen anders is (hier werd de meerwaarde in de al dan niet ontwikkelde regio's gemeten in termen van koopkrachtpariteit, wat niet het geval was in het vorige onderzoek).

Losey en Vaughan (2006) hebben onderzocht wat de waarde is van de ecologische diensten die geleverd worden door uitsluitend wilde insecten: zuivering van de uitwerpselen, parasietenbestrijding, bestuiving en voeding van de fauna. Ze ramen de in de VS geproduceerde agrarische waarde (groenten en fruit) door bestuiving via niet-*Apis*-bijen, met uitzondering van de honingbij, op \$3,07 miljard. Volgens de auteurs zelf is dat cijfer « informatief » want er zijn gegevens te kort om een onderscheid te kunnen maken tussen het aandeel van bestuiving door wilde entemofauna en het aandeel dat geleverd wordt door de honingbij.

Samengevat kunnen we zeggen dat de ramingen van de toegevoegde waarde van bestuiving voor de landbouwproductie nogal verschillen, zowel omdat die waarde snel kan veranderen als omdat de ramingen afhangen van de berekeningsmethode en omdat die berekeningen gebaseerd zijn op gegevens waarvan sommige ruw geschat zijn – we herinneren er in dat opzicht aan dat een waarschijnlijk niet te verwaarlozen deel van de mondiale landbouweconomie informeel is. In ieder geval ligt die toegevoegde waarde volgens die ramingen in de orde van ongeveer honderd miljard dollar op wereldniveau; de waarde van bestuiving is dus veel groter dan die van honing, waarvan de wereldproductie neerkomt op om en bij de 1 500 000 ton; ook al wisselen de wereldprijzen sterk van regio tot regio¹⁶, ze halen natuurlijk nooit 100 dollar per kg! De berekening kan voor de VS gemaakt worden op basis van de cijfers van FAOStat: in 2007 en 2008 bedroeg de honingproductie in dat land ongeveer 170 000 ton; de prijs per ton was gemiddeld \$2750 (\$2374 in 2007, \$3133 in 2008); de waarde van de geproduceerde honing bedraagt dus ongeveer 467,5 miljoen dollar, terwijl de toegevoegde waarde door bestuiving in dat land volgens de auteurs op ongeveer 1 tot zelfs 10 miljard dollar ligt (met name Gallai *et al.* 2009, Losey en Vaughan 2006), waarbij de honingbij volgens Losey *et al.* 2006 instaat

¹⁶ Aangezien FAOStat slechts de prijzen per land geeft, kan de berekening op mondiaal niveau niet gemaakt worden.

voor 9/10^{den}. Imkers zijn dus een van de weinige exploitanten die een toegevoegde waarde creëren waarvan het grootste deel ten goede komt aan andere sectoren dan hun eigen sector.

En dan nog houden de ramingen hierboven enkel rekening met het aandeel van de bestuiving in de landbouw. Daarnaast speelt bestuiving een sleutelrol in de biodiversiteit. Die rol is onschatbaar, in alle betekenissen van het woord. De geldwaarde van die functie berekenen, lijkt niet erg haalbaar – er zou rekening gehouden moeten worden met de indirecte effecten die een rol spelen via de voedselketens – en voor zover wij weten, is daartoe nooit een poging gewaagd.

2.2. Aandeel van de wilde bijen en de honingbijen in de bestuiving

De honingbij beschikt over meerdere eigenschappen die kenmerkend zijn voor een goede bestuiver: ze is met name bloemvast – ze gaat dus van de ene bloem naar de andere binnen eenzelfde soort, zodat het stuifmeel dat bij een individu verzameld is, vervolgens verdeeld wordt over individuen die op het vlak van bevruchting relevant zijn; ze is efficiënt en is heel wat uren bezig met de dracht (Abrol 2012). Globaal genomen zou ze op het vlak van efficiëntie evenwel voorbijgestoken worden door de wilde bestuivers. Volgens een zeer uitgebreid onderzoek waarbij rekening gehouden is met 41 bebouwingssystemen van alle continenten (behalve Antarctica), verhogen wilde insecten het vruchtzettingspercentage bij fruit zowel op het vlak van frequentie als op het vlak van intensiteit meer dan de honingbij (verhoging in alle bebouwingssystemen voor wilde insecten, slechts in 14% ervan voor de honingbij, en het stijgingsniveau is het dubbele van wat het is bij de honingbij alleen) (Garibaldi *et al.* 2013). Wilde insecten zijn dus efficiënter tijdens het bloembezoek; bovendien staan ze volgens dat onderzoek beter in voor kruisbestuiving. De opmerkelijke efficiëntie van wilde bestuivers is bij meerdere teelten bevestigd, met name luzerne, waarvan de beste bestuivers twee solitaire bijen zijn: de luzernebehangersbij *Megachile rotundata*, en de alkalibij *Nomia melanderi*, die sinds de jaren 1650 in de Verenigde Staten gekweekt wordt (Abrol 2012). *Osmia lignaria*, een metselbij, die ook solitair is, is een bijzonder efficiënte bestuiver in boomgaarden. Die bijen worden vooral op het Amerikaanse continent gekweekt en in de handel gebracht (zie met name Bosch en Kemp (2002) voor de *Osmia*). Hommels, waarvan het bloembezoek sneller gaat dan dat van bijen, zijn efficiënte bestuivers van koolzaad (Jacob-Remacle 1990), inkarnaatklaver en vele andere teelten van agronomisch belang zoals de tomaat, de blauwe bosbes (Delaplane & Mayer 2000 pp. 20-21) en de reuzenpompoen (Petersen *et al.* 2013). Een solitaire en oligolectische bij uit de Verenigde Staten, *Peponapis pruinosa*, is een goeie bestuiver van pompoenen, meer bepaald omdat de bloemen ervan voortdurend bezocht worden door de mannetjes, aangezien dat de plaats is waar die het meest kans hebben om een vrouwtje te ontmoeten waarmee hij kan paren (Cane *et al.* 2011).

2.2.1. Prestaties van wilde bestuivers

Er zijn verschillende redenen waarom wilde bestuivers uitstekend presteren.

1. Sommige onder hen hebben een lagere thermische drempel dan die van de honingbij: het bloembezoek gebeurt bij lagere temperaturen. Dat is met name het geval bij sommige families van niet-*Apis*-bijen, hommels, *Anthophora* en *Osmia* (Jacob-Remacle 1990).
2. Solitaire bijen brengen tijdens hun bloembezoek meer stuifmeel over dan sociale bijen, die het stuifmeel dat ze voor het transport in hun korfjes duwen, vasthouden, waardoor de korrels minder verspreid worden (Jacob-Remacle 1990).
3. Niet-*Apis*-bijen kunnen bepaalde bijzondere vormen van bestuiving uitvoeren die de honingbij niet kan. Zo moet de bestuiver bij de bevruchting van de tomaat de bloem doen trillen (sonicatie of trilbestuiving) opdat de helmknoppen het stuifmeel zouden loslaten, wat gebeurt door meerdere soorten niet-*Apis*-bijen en meer bepaald hommels, maar niet door de honingbij (Losey en Vaughan 2006).
4. De honingbij, die grote populaties vormt en naar haar maatstaven aanzienlijke wintervoorraden moet aanleggen, maakt « rationele » bloembezoeken; in een rij bomen zal ze bijvoorbeeld de bloemen van eenzelfde boom bezoeken alvorens naar de dichtstbijzijnde boom te gaan, uit dezelfde rij, waardoor kruisbestuiving in de beplanting beperkt wordt (Brittain *et al.* 2013).
5. Bij de honingbij zijn de haalbijen die nectar verzamelen, en de haalbijen die stuifmeel verzamelen, gescheiden (het zijn niet dezelfde bijen), hetgeen de bevruchting van planten waarvan de bloemen een geslacht hebben, beperkt¹⁷. Soms gaan de haalbijen die stuifmeel verzamelen echter « bijtanken » en dus vrouwelijke planten of bloemen bezoeken. Maar in totaal ligt het aantal bezoeken tussen vrouwelijke en mannelijke planten of bloemen lager dan bij de wilde soorten, die gelijktijdig stuifmeel en nectar halen.

Niettemin blijft de honingbij, doordat ze in zo omvangrijke populaties voorkomt, een onovertreffbare bestuiver van grote groepen bloeiërs. Zo zou ze verantwoordelijk zijn voor 80 à 97% van de bestuiving van koolzaad (Jacob-Remacle 1990), niet omdat ze efficiënter is – sommige wilde soorten zijn even efficiënt of zelfs efficiënter – maar omdat ze in groteren getale voorkomt (Rader *et al.* 2009). Bovendien kan ze, door de omvang van de oppervlakken die een kolonie aandoet, bestuiven in habitats die door de fragmentatie moeilijk toegankelijk zijn voor niet-*Apis*-bijen; op die manier zou ze als « noodbestuiver » fungeren (De la Rúa *et al.* 2009).

2.2.2. Wilde bestuivers en honingbijen: concurrentie en synergie

Wilde bijen en honingbijen zijn, althans voor een deel, afhankelijk van dezelfde flora; de kans bestaat dus dat ze elkaars concurrent worden. Maar is dat het geval? Heeft de (overvloedige) aanwezigheid van honingbijen een negatieve invloed op het vermogen van wilde, sociale of solitaire bijen om te overleven of zich voort te planten? Op die vraag is op heden nog geen eenduidig antwoord gekomen. De

¹⁷ De bloemen van de meeste planten zijn tweeslachtig maar bij sommige planten zijn de bloemen eenslachtig, ongeacht of ze gedragen worden door dezelfde plant (tweehuizige soorten) of door mannelijke of vrouwelijke planten (eenhuizige soorten).

meeste voorhanden zijnde onderzoeken hebben betrekking op de situatie in Amerika en Australië en kunnen niet omgezet worden naar ons land want op die continenten is de bij een allogene soort (voor een review zie Paine 2004). Een aantal onderzoeken betreffen regio's waar de honingbij inheems is.

Het reeds aangehaalde onderzoek van Garibaldi *et al.* (2013) brengt geen enkele vorm van dat soort concurrentie aan het licht. De stijging van het vruchtzettingspercentage door wilde insecten is dezelfde, ongeacht het feit of de fruitteelten al dan niet door een grote hoeveelheid honingbijen bezocht worden. Ook vonden de auteurs geen verband tussen het hoge aantal bezoeken door honingbijen en de rijkdom van de wilde entemofauna: de aanwezigheid van honingbijen en hun grote aantallen hebben geen invloed op het aantal soorten.

Uit een onderzoek dat plaatsvond in twee nationale parken van de Carmel-berg (Israël) blijkt evenwel dat het aantal bezoeken door wilde bijen beïnvloed kan worden door het aantal bezoeken door honingbijen, meestal in de zin van een vermindering (9 gevallen), maar soms ook in de zin van een stijging (4 gevallen); soms ook (7 gevallen) heeft de honingbij geen invloed op het aantal bezoeken door wilde bijen (Shavit *et al.* 2009). Goulson en Sparrow (2009), die in Schotland de grootte van verschillende soorten hommels bestudeerden, ontdekten dat die kleiner zijn in gebieden die bezocht worden door honingbijen, wat te wijten zou kunnen zijn aan een geringere toegang tot de middelen van bestaan; maar de auteurs zijn het erover eens dat het oorzakelijke verband niet duidelijk is (er zou een gemeenschappelijke oorzaak kunnen zijn, bijvoorbeeld het feit dat de gebieden die voor honingbijen aantrekkelijk zijn, minder geschikt zijn voor de ontwikkeling van grote hommels). Een in Duitsland gevoerd onderzoek (Steffan-Dewenter en Tscharrntke 2000) toont aan dat de populaties honingbijen geen invloed uitoefenen op de wilde bijen, of het nu gaat om het aantal soorten, het aantal vastgestelde bijen die de bloemen bezoeken of het aantal nesten, en dit ondanks de grote concentratie bijenkasten rond bepaalde van de onderzochte prairies (tot 20 kolonies langs de prairie, maar let wel: de gemiddelde concentratie bedroeg niet meer dan 3,1 kolonies/km²). De beschikbaarheid van de habitats heeft daarentegen een beslissende invloed op het aantal nesten van wilde bijen; maar op dat vlak concurreert de honingbij niet met de wilde bijen. We wijzen er evenwel op dat die onderzoeken toegespitst zijn op een agrarische context: het gaat om teelten waarbij er heel veel bloemen zijn, die dus geen beperkende factor vormen. We mogen niet vergeten dat de werkelijkheid anders kan zijn in seminatuurlijke milieus, waar de flora minder weelderig maar gediversifieerder is.

Vanzelfsprekend is het niet enkel in één richting dat concurrentie mogelijk is: de honingbij kan weliswaar de andere soorten storen, maar het omgekeerde is ook waar en kan aanleiding geven tot een interessante synergie, zoals het geval is bij de amandelboom en bij voor de zaadproductie bestemde zonnebloemen. Op velden die bestemd zijn voor de productie van hybride zonnebloemen, worden rijen mannelijke en vrouwelijke planten afgewisseld, aangezien het mannelijke deel van de vrouwelijke

planten onvruchtbaar is¹⁸. De bestuiving door honingbijen gebeurt er efficiënter als er ook niet-*Apis*-bijen op de gewassen aanwezig zijn want die verdrijven de honingbij en zorgen ervoor dat ze van de mannelijke rijen naar de vrouwelijke gaat en omgekeerd (Losey en Vaughan 2006), wat de honingbij niet altijd spontaan doet aangezien bij honingbijen het verzamelen van stuifmeel en van nectar, zoals we gezien hebben, door verschillende haalbijen uitgevoerd wordt. Een vergelijkbaar probleem is er op velden met amandelbomen, die aangeplant worden in rijen waarbij verschillende soorten afgewisseld worden; de amandelboom is immers zo goed als zelfsteriel en vereist bestuiving door een andere variëteit, en met het oog op het oogstgemak worden de variëteiten in rijen aangeplant. Volgens de drachtstrategieën van de honingbij gaat zij van de ene boom naar de dichtstbijzijnde boom, die uit eenzelfde rij, waardoor de kans op kruisbestuiving vermindert. Ook hier verhoogt de aanwezigheid van niet-*Apis*-bijen (er werd geëxperimenteerd met de *Osmia lignaria*) het vruchtzettingspercentage na bezoeken van de honingbij want, ook al jaagt de *Osmia* de honingbij niet weg, toch heeft de honingbij de neiging om de bloemen waar de *Osmia* geweest is, links te laten liggen en verandert de honingbij bijgevolg haar vluchtplannen, waardoor ze dus vaker van de ene rij naar de andere gaat (Brittain *et al.* 2013).

Als we de twee voorgaande punten samenvatten, kunnen we zeggen dat, wat de bestuiving van cultuurgewassen betreft, honingbijen en niet-*Apis*-bijen elkaar aanvullen, maar de honingbijen vervangen de niet-*Apis*-soorten niet op passende wijze (Garibaldi *et al.* 2013). De ecologische dienst van de bestuiving kan enkel beschermd worden via een beleid dat het overleven, de ontwikkeling en de voortplanting van alle bijen veilig stelt.

2.3. Op weg naar een bestuivingscrisis?

2.3.1. Het aanbod: de hoeveelheid bestuivers

De achteruitgang van de bijen heeft al veel inkt doen vloeien zonder dat de geschriften, de debatten en de op heden gevoerde onderzoeken de situatie volledig verduidelijkt hebben. In ieder geval zijn noch de achteruitgang noch de oorzaken ervan vergelijkbaar naargelang we praten over de wilde bestuivers of over de huisbij.

Al ongeveer twintig jaar is er een abnormaal hoge sterfte bij huisbijen. Ook al wordt dit feit door niemand ontkend, toch is het niet evident om het in cijfers om te zetten, in elk geval op wereldschaal. Volgens de cijfers van de FAO (FAOStat, livestock, beehives) zien we dat het aantal in Europa gekweekte kolonies sinds de jaren '90 weliswaar met een kwart gedaald is¹⁹, maar dat dit aantal op wereldvlak veeleer in stijgende lijn gaat²⁰. Dat is niet in tegenspraak met het feit dat oversterfte een realiteit is die de bijenwereld zwaar treft, en dit om meerdere redenen:

¹⁸ Zie met name *Pollinisation et production végétale, ouvrage collectif dirigé par P. Pesson et J. Louveaux, INRA, 1984, p. 322*; voor een beeld van de bestuiving op die velden, zie <http://www.apistory.fr/pages/tournesolsemence.html>.

¹⁹ 1980: 21 420 000; 1990: 22 467 000; 2000: 15 339 000; 2010: 15 662 000.

²⁰ Ongeveer 60 miljoen in 1980, 69 miljoen in 1990 en 2000, bijna 77 miljoen in 2010.

- het aantal geïnventariseerde bijenkasten daalt sterk in bepaalde gebieden ter wereld terwijl het in andere gebieden gestegen is; meer bepaald in China ging het aantal kolonies van 3 miljoen in 1960 naar 8,77 miljoen in 2008 (Zhenghua 2011);
- de toename van het cijfer van de FAO kan voortvloeien uit het feit dat in de loop der jaren steeds meer bijenkasten geïnventariseerd werden; we mogen immers niet vergeten dat veel kolonies aan de inventarisatie ontsnapten en soms nog altijd ontsnappen;
- de oversterfte uit zich niet in een vermindering van het aantal kolonies in verhouding tot de verliezen want de imkerijsector lijkt die te compenseren door meer nieuwe kolonies te kweken. Zo zijn sommige imkers van de productie van honing geheel of gedeeltelijk overgestapt op de productie van koninginnen en zwermen.

Die sterfte is bijna nergens op een geloofwaardige manier becijferd (de meeste cijfers zijn gebaseerd op een aantal bijenkasten/bijenstallen dat te gering is om een bruikbare statistiek toe te laten). Wellicht is de raming het betrouwbaarst in de VS, al was het maar omdat het voornaamste syndroom dat aan die oversterfte gelinkt wordt, meer bepaald CCD of de bijenverdwijnsiekte, daar beschreven werd (vanEngelsdorp *et al.* 2009)²¹; de verliezen worden geraamd op 30% van de kolonies per jaar (USDA 2012). In dat land van grote monoculturen waar de bestuiving voornamelijk verzekerd wordt door de honingbij²², is de situatie zorgwekkend. Tien miljoen kolonies, waarvan de waarde op \$200 elk geraamd wordt, zouden er sinds 2006 verdwenen zijn – het globale verlies bedraagt dus 2 miljard dollar (*ibid.*). Bijgevolg zijn de prijzen voor de huur van bijenkasten voor de bestuiving pijlsnel de hoogte ingegaan, vooral voor de amandelboom, waarvan de productie 60% vergt van de ongeveer 2,5 miljoen kolonies die het land telt; die prijzen gingen van \$66 per bijenkast in 2004 naar \$157 in 2006 (Rucker *et al.* 2012). Volgens J. Pettis *volstaan een periode van slecht weer of een groot winterverlies om een bestuivingsramp te veroorzaken* (USDA 2012. p. 5).

De situatie van de wilde bijen is sterk verschillend maar is op zich niet beter. Het ineensstorten van de teelten van peulvruchten (in Zweden vermindering met 90% tussen 1939 en 2010 (Bommarco *et al.* 2012); in België van 180 000 ha in 1908 naar bijna nul in 1985 (Rasmont *et al.* 2005)) heeft schade berokkend aan de langtongige soorten die gespecialiseerd zijn in het bezoeken van bloemen met een diepe bloemkroon zoals klaver, luzerne enz. Algemeen genomen berokkenen de intensivering van de landbouw en de verstedelijking, via de creatie van kunstmatige

²¹ Lange tijd werd de sterfte globaal beschouwd (en men heeft nog dikwijls de neiging om dat te doen), met als gevolg dat men koos voor de verklarende stelling dat er meerdere factoren een rol speelden, een stelling die in die context niet alleen triviaal is – want het spreekt vanzelf dat er meer dan één oorzaak is voor de bijensterfte – maar ook geen effect heeft – want als een doodsoorzaak niet correct omschreven wordt, kan ze niet van andere oorzaken worden onderscheiden en dus ook niet worden gediagnosticeerd, en kan men hiervoor geen oplossing aanreiken.

²² Die situatie hangt samen met een verstoord ecologisch evenwicht. In boerderijen waar aan biologische landbouw gedaan wordt, kan de bestuiving volledig verzekerd worden door de *native bees*, de inheemse bijen, wat niet meer het geval is in gebieden met intensieve landbouw (Kremen *et al.* 2002).

milieus, schade aan de gespecialiseerde soorten, die sterk afhankelijk zijn van een type natuurlijke habitat of wilde flora; in relatief aantal zijn ze van voordeel voor de algemene soorten, die zich beter kunnen aanpassen, waarvan *Bombus terrestris* een goed voorbeeld is (Bommarco *et al.* 2012). Bijgevolg is de samenstelling van de gemeenschappen veranderd, waarbij de langtongige soorten – samen met de oppervlakken van hun favoriete florasoorten – een sterke daling kenden (*Ibid.*) De vernietiging van sites die een geschikte plaats vormen om nesten te maken, draagt eveneens bij tot de teruggang van de wilde bijen. Dat is met name het geval voor de honingbij, waarvan de verwilderde of wilde populaties in Europa een daling kenden als gevolg van intensief grondgebruik (Jaffé *et al.* 2010).

De oorzakelijke factoren die de literatuur meestal aanhaalt als het gaat over de achteruitgang van de bijen, zijn:

- het verlies van habitats, te wijten aan de teruggang van de wilde of semiwilde soorten en van de extensief geëxploiteerde landbouwgrond,
- het verlies van voedselbronnen als gevolg van de teruggang van de wilde soorten, van de semiwilde soorten, van de extensief geëxploiteerde grond en van bepaalde cultuurgewassen, meer bepaald de peulvruchten zoals we hierboven gezien hebben,
- de milieuverontreiniging, meer bepaald door landbouwpesticiden.

Het verlies van habitats heeft natuurlijk geen betrekking op de gekweekte bijen, maar treft regelrecht de wilde bijen, met inbegrip van de wilde of verwilderde populaties honingbijen. Het verlies van flora kan alle soorten treffen. In België zijn de bloemen die zorgden voor de grote zomerpieken op het vlak van nectarverzameling, met name de witte klaver (*Trifolium repens*), bijna allemaal van de weiden verdwenen, en de paardenbloem volgt dezelfde weg. Door het verdwijnen van semiwilde ruimtes, wegbermen, waterrijke gebieden enz. zijn heel wat honing- en stuifmeelbloemen en door wilde bijen gebruikte habitatvormen zeldzaam geworden; de honingbij kan weliswaar suikerreserves aanleggen die haar in staat stellen om periodes van schaarste door te komen, maar heeft wel heel het jaar door nood aan stuifmeel om de groei en het behoud van haar populaties mogelijk te maken. Wat milieuverontreiniging betreft, wordt de mogelijke invloed ervan op zowel de wilde als de niet-wilde soorten in toxicologische studies erkend, maar over de omvang van de effecten op het terrein is weinig bekend. Het feit of milieuverontreiniging al dan niet de hoofdverantwoordelijkheid draagt voor de oversterfte onder de honingbijen, is zeer omstrede.

2.3.2. De vraag: de bestuiversafhankelijke cultuurgewassen

Het aandeel van door insecten bestoven cultuurgewassen in de in de landbouw geproduceerde waarde neemt met de tijd toe, waardoor de mogelijkheid van een bestuivingstekort nog wordt versterkt. In het Verenigd Koninkrijk doen de populaties honingbijen, die in 1984 nog konden instaan voor 70% van de bestuivingsbehoeften, dat vandaag de dag nog slechts voor 34%, wat hoofdzakelijk toe te schrijven is aan de stijging van de oppervlakken die aangewend worden voor bestuiversafhankelijke cultuurgewassen (+20% sinds 1984, vooral koolzaad en bonen) (Breeze *et al.* 2011). Die situatie is exemplarisch voor een trend die zich in heel de wereld aftekent. Gedurende de laatste vijftig jaar is het aantal bijenkolonies met

45% gestegen; de niet van bestuiving afhankelijke landbouwproductie, dit wil zeggen voornamelijk de productie van basisproducten, is verdubbeld en volgt daarmee de stijging van de bevolking; de van bestuiving afhankelijke productie is vervierdubbeld, wat erop wijst dat boven op de stijging van de bevolking nog eens een stijging van de vraag *per capita* gekomen is, verband houdend met de globalisering van de handel in landbouwproducten en met de veralgemening van de markteconomie. Het aantal gekweekte bestuivers volgt dus de stijgende trend van de vraag niet (Alzen en Harder 2009).

Lautenbach *et al.* (2012) wijzen op een stijging van de prijs van bestuiving, *een vroegtijdig signaal van een mogelijk conflict tussen de ecologische dienst van de bestuiving en andere vormen van grondgebruik op wereldschaal*. Ze tonen aan dat de voordelen van bestuiving in bepaalde landen (China, Rusland) spectaculair gestegen zijn, wat toe te schrijven is aan de groei van ofwel de landbouw in zijn geheel ofwel het aandeel van de van dierlijke bestuiving afhankelijke cultuurgewassen in de landbouwproductie; de uitbreiding van de middenstand in een land uit zich in een stijging van de vraag naar fruit (dat is het geval met China, *ibid.* p. 9). Die auteurs benadrukken ook dat de teruggang van wilde bestuivers in een gebied ter wereld niet alleen een invloed zou kunnen uitoefenen op de prijzen van de bestuiving maar ook op de soorten cultuurgewassen, met stopzetting van de van dierlijke bestuiving afhankelijke teelten in de landen die er niet zouden in slagen om het aantal bestuivers te herstellen, en stijging van diezelfde teelten in de landen die rijk gebleven zijn aan bestuivers; een evolutie die op haar beurt als effect zou kunnen hebben dat de habitat van die wilde bestuivers verkleint als hun belang niet correct in aanmerking wordt genomen.

De vraag naar bestuiving schommelt dus, en aangezien ze het soort verbruik van een land weerspiegelt, stijgt ze met het ontwikkelingsniveau ervan.

De auteurs zijn het eens over het belang van bestuivers, ongeacht of het om wilde of niet-wilde soorten gaat; over het voordeel, voor de landbouwproductie, om cultuurgewassen door wilde en niet-wilde bijensoorten tegelijk te laten bestuiven; en bijgevolg over het belang om *de maatregelen voor de bescherming van bestuivers samen met de expansie van de bijenteelt te laten evolueren* (Breeze *et al.* 2011).

Er moet dus dringend een landbouwbeleid komen dat rekening houdt met de bijenpopulaties, zowel met de gekweekte of de in het wild levende bijen als met de *Apis*- of niet-*Apis*-bijen: bescherming en herstel van de habitats en van de voedselbronnen, striktere controle van de bronnen van verontreiniging en meer bepaald van het gebruik van landbouwpesticiden (Brittain *et al.* 2013, Garibaldi *et al.* 2013).

Hoofdstuk 3: Bewaker, indicator: twee verschillende begrippen.

De bij, indicator en bewaker, indicator of bewaker? Om een antwoord te geven op die vragen, moeten wij:

- bepalen wat indicatorsoorten en bewakerssoorten zijn, dat wil zeggen onder welke voorwaarden kunnen soorten die rol spelen en kunnen ze als dusdanig beschouwd worden. Daartoe doen wij een beroep op de literatuur;
- de eigenschappen van de bijensoorten bestuderen en kijken in welke mate die eigenschappen beantwoorden aan de hierboven aangehaalde voorwaarden; dat doen wij door twee categorieën van bijensoorten te beschouwen: enerzijds de honingbij en anderzijds de wilde bijen, die in eerste instantie als een unieke entiteit beschouwd worden. Dat onderscheid wordt *a priori* gemaakt op basis van het feit dat de honingbij gedomesticeerd is (in de zin dat ze ondergebracht wordt door de mens), in tegenstelling tot wilde bijen, met als gevolg dat zowel de onderzoeksmiddelen als de uitdagingen voor de bescherming van de soorten totaal verschillend zijn. Nog andere eigenschappen, die wij uitvoeriger zullen behandelen (zoals bijvoorbeeld het foerageerbereik), pleiten meer in tweede instantie voor een dergelijke invalshoek.

Die twee punten komen aan bod in de volgende twee hoofdstukken.

3.1. Indicatoren en bewakers in de wetenschappelijke literatuur

3.1.1. De indicatorsoorten

Wat is een indicatorsoort? Volgens Wikipedia (Engelse versie) wordt de indicator omschreven als *een willekeurige biologische soort die indicatief is voor een kenmerk of een eigenschap van het milieu. Een soort kan bijvoorbeeld een ecologische regio afbakenen of wijzen op een milieutoestand, zoals ziekte, verontreiniging, concurrentie tussen soorten of klimaatverandering. De indicator kan tot de meest gevoelige soorten van een regio behoren en geeft soms een vroegtijdige waarschuwing aan biologen die instaan voor de monitoring*²³. Indicatorsoorten kunnen zowel microbieel als gewerveld of ongewerveld zijn.

De definitie van indicatorsoort maakte het voorwerp uit van wetenschappelijke debatten en publicaties die gereviseerd zijn door Zacharias en Roff (2001); daaraan ontlene wij het volgende.

Volgens de auteurs omvat het begrip indicatorsoort, of loopt het parallel met, de begrippen bewakerssoorten (zie hieronder), sleutelsoorten (hoeksteensoorten),

²³ http://en.wikipedia.org/wiki/Indicator_species, geraadpleegd op 28 juni 2013.

paraplusoorten en charismatische soorten (symboolsoorten), allemaal categorieën die vallen onder de algemene term aandachtsoorten, en die hierna kort beschreven worden.

- Een **sleutelsoort** (of hoeksteensoort) heeft een grote rechtstreekse of onrechtstreekse invloed op de structuur of de samenstelling van haar biologische gemeenschap, met als gevolg dat zij op het milieu een invloed uitoefent die niet evenredig is met haar aantal of haar biomassa. Het verdwijnen van deze soort leidt tot het verlies van andere soorten van de gemeenschap. Sleutelsoorten hebben een invloed op hun gemeenschap via acties inzake *consumptie, concurrentie, verspreiding van bestuiving, ziekten, of door habitats of abiotische factoren te wijzigen* (p. 67). Het begrip stuit evenwel op een aantal problemen, meer bepaald qua afbakening: elke soort die onderlinge relaties heeft met de andere soorten van haar gemeenschap, beantwoordt min of meer aan de definitie ervan. Eigenlijk is het, wanneer een soort geëxploiteerd wordt, vooral interessant om zich vragen te stellen over de effecten die zouden ontstaan wanneer de soort uit het milieu zou worden weggehaald.
- Een **paraplusoort** is een soort waarvan de aanwezigheid wijst op de aanwezigheid van andere soorten binnen een bepaald geografisch gebied. Dit begrip verschilt van het begrip compositie-indicator: een compositie-indicator wijst wel degelijk op de aanwezigheid van andere soorten van zijn gemeenschap, maar het behoud ervan garandeert niet het behoud van alle soorten van de gemeenschap. Het behoud van de paraplusoort daarentegen garandeert het behoud van alle soorten die er voorkomen, want ze garandeert het behoud van habitats en van bestaansmiddelen, die tevens de bestaansmiddelen van die soorten zijn. Het gaat bijvoorbeeld om grote soorten die voor hun overleven afhankelijk zijn van uitgestrekte gebieden waar soorten kunnen leven die vergelijkbare vereisten hebben qua aard, maar op kleinere schaal.
- Charismatische soorten of **symboolsoorten** zijn soorten die publieke belangstelling wekken. Ze zijn nuttig voor het natuurbehoud (zie campagnes van Greenpeace over de walvisjacht). Het behoud ervan garandeert op zich niet het behoud van andere soorten, habitats, gemeenschappen of ecosystemen, van welke aard ook; maar door het publiek te sensibiliseren voor de voorwaarden om ze te beschermen, kan het zijn gedragingen veranderen ten voordele van het behoud van andere soorten of habitats.

Sensu lato omvat het begrip indicatorsoort de categorieën hierboven alsook de categorie bewakerssoort. *Sensu stricto* verschilt het ervan en is deze term bestemd voor soorten die « indicatief » zijn voor:

- ofwel de aard van het milieu waar men ze vindt (het soort ecosysteem, de andere geassocieerde soorten) – het gaat dan om soorten die typisch zijn voor een bepaald milieu -: we spreken hier van **compositie-indicatoren**
- ofwel de omstandigheden, de toestand van die milieus – het gaat dan om soorten die bijzonder gevoelig zijn voor veranderingen van de

omstandigheden van het milieu: in dat geval spreken we van **conditie-indicatoren**.

Dat wil zeggen dat indicatorsoorten *sensu stricto* ecosysteemindicatoren zijn.

Welke keuze de verschillende auteurs ook gemaakt hebben, vandaag de dag wordt het begrip indicatorsoort op het vlak van ecologie en natuurbehoud op grote schaal aangewend. Om een beschermingsbeleid te voeren, zijn betrouwbare en zo goedkoop mogelijke instrumenten nodig om de milieus en hun « gezondheidstoestand » te identificeren. Indicatorsoorten zijn dergelijke instrumenten, ze zijn betrouwbaar en, om een diagnose van de biodiversiteit op te maken, gemakkelijker - en dus goedkoper - om aan te wenden dan bijvoorbeeld een volledige studie over de soortenrijkdom van een milieu, wat een ingewikkelde studie is die bovendien niet noodzakelijkerwijs aangeeft dat een zeldzame soort in gevaar is.

3.1.2. De bewakerssoorten

Het hierboven gedefinieerde begrip indicatorsoort omvat het begrip bewakerssoort.

De eerste doelstelling van het systeem van bewakerssoorten bestaat erin de schadelijke chemische verbindingen of de mengsels van die verbindingen in het leefmilieu te identificeren vooraleer ze kunnen worden opgespoord via epidemiologische studies bij de mens of toxicologische studies op proefdieren²⁴.

Die beschouwing, en de beschouwingen hieronder, komen uit het rapport dat de Amerikaanse *National Academy of Sciences* (NAS) in 1991 maakte over het gebruik van dieren als bewaker over milieugevaren voor de mens. De NAS antwoordde op die manier op een verzoek van het *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, dat een beroep op de NAS deed opdat die *het nut van epidemiologische studies op dieren voor de risico-evaluatie voor de mens opnieuw zou bekijken en beoordelen, en aanbevelingen zou maken over het soort gegevens dat moet worden verzameld²⁵.*

De bewaker dient namelijk om vroegtijdig te waarschuwen voor risico's voor de mens. Het begrip bewakerssoort is dus vervat in het begrip indicatorsoort, maar het is beperkter: terwijl de indicator gebruikt wordt om - eender welke - informatie over een toestand van het milieu aan het licht te brengen, heeft het begrip bewaker specifiek betrekking op een milieurisico door blootstelling aan een ziekteverwekker of besmetting.

Het oudste en gekendste voorbeeld, dat vaak aangehaald wordt in het kader van bijen, is dat van de mijnkanarie. Van alle courante soorten is de kanarie het meest gevoelig voor koolstofmonoxide, een gas dat vaak voorkomt in kolenlagen en dat bij de mens dodelijke vergiftiging veroorzaakt. Als er CO aanwezig is, valt de vogel flauw (hij knapt weer op als men hem onmiddellijk in de frisse lucht brengt). Daarom namen mijnwerkers een kanarie mee naar beneden: als de vogel onder in de schacht neerviel, hadden zij (en ook de vogel ...) nog tijd om ongedeerd uit de mijn te komen.

²⁴ NAS 1991, p. 8.

²⁵ *Ibid.*, p. vii.

Sindsdien vond het idee van een bewakerssoort ingang. Vandaag de dag worden diersoorten gebruikt om milieuverontreiniging en besmetting van de voedselketen aan het licht te brengen of om de biologische beschikbaarheid van contaminanten in een bepaald milieu te onderzoeken. In bepaalde gevallen kunnen ze ook wijzen op de effecten die deze besmettingen hebben op de gezondheid. **Het zijn dus altijd blootstellingsindicatoren en soms ook risico-indicatoren.** Ze kunnen van nature aanwezig zijn in het milieu; ze kunnen er ook in geplaatst worden voor onderzoeksdoeleinden die op hen betrekking hebben. Ze worden zowel in natuurlijke milieus ingezet als in antropogene omgevingen zoals woningen, landbouwbedrijven, werkplaatsen enz.

Een goede bewaker is:

- een soort die door haar habitat en haar gewoonten blootgesteld is aan de onderzochte contaminanten;
- een soort die op de contaminatie reageert door verschijnselen van pathologische aard, of die verschijnselen nu betrekking hebben op de voortplanting, de fysiologie of het gedrag van de individuen; die reactie moet meetbaar zijn om goed te zijn;
- een soort waarvan de populaties makkelijk te bemonsteren en te tellen zijn; de omvang en de dichtheid van die populaties moeten bovendien voldoende zijn om het tellen en het opmaken van een statistiek mogelijk te maken;
- een soort waarvan de biologie en de pathologie voldoende gekend zijn om de resultaten van de studies te kunnen interpreteren.

In het rapport worden huisdieren (honden en katten, die vaak meer dan hun baasjes worden blootgesteld aan bijvoorbeeld huisstof), wilde zoogdieren (woelmuizen, mollen) en ongewervelden van op het land (insecten, regenwormen) of uit aquatische milieus (oesters, mosselen) als voorbeelden aangehaald. De honingbij wordt vermeld als een uitstekende bewaker voor luchtvervuiling.

De methodologische aanpak bij het gebruik van een of meerdere bewakerssoorten omvat:

- **beschrijvende epidemiologische studies** van de betrokken dierenpopulaties, met de bedoeling een zicht te krijgen op de frequentie van de pathologische toestand en de tabellen die ze opleveren, en hun verhouding tot de milieublootstelling te beoordelen, via bijvoorbeeld cartografische technieken;
- **analytische epidemiologische studies** die tot doel hebben de hypothesen betreffende de milieublootstellingen uit te testen en er het risico van in te schatten, via gebruikmaking van studieprotocollen die het mogelijk maken om in gecontroleerde omstandigheden te onderzoeken;
- **in situ-studies** waar besmetting vermoed wordt, inclusief monitoring van de bioaccumulatie en de effecten op de gezondheid.

De studies moeten zo ontwikkeld zijn dat de biologische antwoorden snel na de blootstelling waargenomen worden; in dat opzicht zijn bloedonderzoeken bijzonder geschikt.

Hoofdstuk 4: De niet-*Apis*-bijen

In ons land is de enige bij die tot het geslacht *Apis* behoort, de honingbij. In dit hoofdstuk behandelen wij alle andere soorten van de superfamilie van de Apoidea, waarvan er in ons land 380 zijn (Denis Michez, voordracht tijdens het colloquium van 6 juni 2013). Die soorten behoren tot zeven families: de Colletidae, Andrenidae, Melittidae, Megachilidae, Anthophoridae, Halictidae en Apidae. De soorten die behoren tot de eerste vijf van die families en deels tot de zesde (339 van 370 soorten volgens Terzo en Rasmont (2007)) zijn solitair; de Hommels en sommige Halictidae vormen niet-permanente kolonies, die in de winter niet overleven. Weinig van die bijen zijn bij het brede publiek gekend; de meest gekende zijn de Hommels²⁶, die samen met de honingbij de familie van de Apidae vormen.

4.1. Over de taxonomie van de niet-*Apis*-bijen

De identificatie van die bijensoorten is geenszins makkelijk. Sommige geschriften bieden relatief eenvoudige sleutels (Jacob-Remacle 1989 bijvoorbeeld) maar die sleutels, zelfs die die rudimentair zijn, maken gebruik van morfologische criteria waarvan de waarneming niet voor de eerste de beste is weggelegd. Sommige websites publiceren zeer volledige atlanten, die het resultaat zijn van het uitvoerig verzamelen van gegevens en beelden. Voor België werd een dergelijke website tot stand gebracht, en die wordt beheerd door het zoölogisch laboratorium van de universiteit van Bergen en door de faculteit van Gembloux²⁷; die site omvat, ingedeeld volgens geslacht, alle soorten die op ons nationale grondgebied voorkomen. In Groot-Brittannië heeft de *Bee, Wasps and Ants Recording Society*²⁸ een vergelijkbaar werk uitgevoerd, en de website daarvan is ook het bezoeken waard. Als we die sites doorlopen, krijgen we een beeld van de complexe taak die de identificatie van de soorten is en die toebehoort aan zeer ervaren gepassioneerden of professionen²⁹. De wereld van de bijen is dan ook buitengewoon rijk; op heden zijn wereldwijd 19 000 soorten beschreven (tegenover 5-6000 soorten zoogdieren), en in ons land zijn er meer bijensoorten dan soorten broedvogels, vlinders en odonata (libellen en juffers) samen (Denis Michez en Nicolas Vereecken, toespraak op het colloquium van 6 juni 2013). Er zijn heel wat soorten, dus ook ingewikkelde criteria om ze van elkaar te onderscheiden: geen wonder dat er al veel gediscussieerd is, en nog altijd gediscussieerd wordt, over het opstellen van een taxonomie voor bijen (Michez 2006).

²⁶ Verwar niet met de dar, die het mannetje van de bij is en die soms drone genoemd wordt. Hommels zijn dus eigenlijk bijen, waarvan de meeste die we in de natuur of in de tuin zien, vrouwtjes zijn.

²⁷ Homepage: <http://zoologie.umh.ac.be/hymenoptera/hymenobel.asp>.

²⁸ Die vereniging, die gegevens verzamelt over de hymenoptera in Ierland en het Verenigd Koninkrijk, heeft een heel belangrijke website: <http://www.bwars.com/index.php?q=content/about-bwars-introduction>.

²⁹ Zie bijvoorbeeld wat de BWARS daarover zegt: <http://www.bwars.com/index.php?q=content/key-works-identifying-bees-wasps-and-ants>.

Van die criteria is er één dat onze aandacht trekt vanuit ecosystemisch oogpunt: de lengte van de tong, een belangrijk kenmerk dat gebruikt wordt om families te onderscheiden en om de fylogenie van de bijen op te stellen (Michez 2006). Dat morfologische kenmerk is bepalend voor het soort bloemen dat de bij kan bezoeken: korttongige bijen bezoeken bloemen waarvan de bloemkroon gemakkelijk toegankelijk is: schermbloemigen, composieten, kruisbloemigen, ... Langtongige bijen kunnen bloemen met een diepe bloemkroon bezoeken, zoals de lipbloemigen (familie van de dovenetel) of de vlinderbloemigen, een grote familie waartoe gekweekte peulvruchten behoren: bonen, erwten, linzen, soja, klaver, luzerne, lupine, pinda's, Die planten zijn van het grootste belang op het vlak van voeding en bebouwing, en dit om twee redenen:

- ze zijn de grootste producenten van plantaardige eiwitten;
- ze vormen, op de wortels, knobbels met daarin een bacterie, Rhizobium, die in symbiose met de plant in staat is om de stikstof uit de lucht vast te leggen; om die reden zijn ze een belangrijk element van de stikstofcyclus op het niveau van de ecosystemen, en de teeltrotatie op landbouwkundig niveau.

Wij zullen later nog terugkomen op de implicaties daarvan.

4.2. Levenscyclus en leefwijzen van de niet-Apis-bijen

De levenscyclus van solitaire bijen begint in het goede seizoen (lente of zomer) als de ouderdieren uit hun winterschuilplaats komen om te paren. Vervolgens vormen de vrouwtjes één of meerdere nesten die samengesteld zijn uit een opeenvolging van cellen. Elk van die cellen bevat een ei en een stuifmeelvoorraad. Op het einde van de nestbouw verdwijnen alle ouderdieren (of zijn ze verdwenen, aangezien het om de mannetjes gaat). De nieuwe generatie overwintert in larvetoestand of als volwassene tot het volgende seizoen, en de cyclus begint opnieuw. Wij wijzen erop dat de eerst gevormde cel de cel is waaruit het volwassen insect als laatste zal komen. Algemeen genomen ontwikkelen de eitjes achter in het nest zich tot vrouwelijke bijen en de eitjes dicht bij de ingang tot mannelijke bijen, aangezien de vrouwtjes over grotere voedselvoorraden beschikken dan de mannetjes (Jacob-Remacle 1989).

De levenscyclus van sociale bijen is vergelijkbaar met die van wespen. In de lente komt een bevruchte reproducerende vrouwtjesbij, die in een schuilplaats overwinterd heeft, uit haar schuilplaats en gaat ze op zoek naar een geschikte plaats om een nest te bouwen. Zodra ze die gevonden heeft, begint de reproducerende vrouwtjesbij een nest te bouwen, legt ze eitjes, haalt ze voedsel en verzorgt ze de eerste larven. Als haar eerste jongen uitkomen, nemen die de verschillende taken over, en de koningin legt dan nog uitsluitend eitjes. Het nest ontwikkelt zich vervolgens exponentieel tot halfweg de zomer. De kolonie kweekt dan nieuwe ouderdieren die, zodra ze volwassen en rijp zijn, gaan bevruchten. Als dat gebeurd is, gaan de koninginnen op zoek naar een winterschuilplaats, en de cyclus begint opnieuw.

4.2.1. Habitats

De nesten waarin de niet-*Apis*-bijen hun cellen onderbrengen, zijn enorm verscheiden. Sommige soorten maken hun nesten aan iets vast, een tak, een muur, ... (*Anthidiellum* spp.). De meeste soorten maken het nest in een holte. Het kan gaan om:

- de binnenkant van een tak (sommige Megachilidae, sommige Colletidae)
- een holte in hout (sommige Halictidae, sommige Apidae zoals de blauwzwarte houtbij *Xylocopa violacea*)
- een holte in de grond (sommige Colletidae, sommige Halictidae, Andrenidae en Mellitidae, waarvan sommige grote groepen nesten vormen)
- een leeg slakkenhuis (sommige Megachilidae).

Hommels (geslacht *Bombus*) vormen een nest dat gemaakt is van wascellen die op een beschutte plek samengevoegd worden; het kan gaan om een verlaten hol, een gat in een scheidingswand, een hoop plantaardige resten. Die nesten zijn niet bedoeld om de winter door te komen.

Tot slot zijn er soorten die zelf geen nest maken, maar parasiteren op het nest van een andere bij (broedparasitaire bijen, onder meer sommige Halictidae).

De materialen die aangewend worden, zijn buitengewoon divers; het kan gaan om hout, modder, zand, stukjes bladeren of tot pulp gemaakte bladeren, het dons van op sommige harige planten (wolbijen bijvoorbeeld, in België de grote wolbij of *Anthidium manicatum*³⁰), de hars van op harsbomen (in België *Trachusa byssina* (Megachilidae))³¹, bloemblaadjes (in België *Haplitis papaveris*, die blaadjes gebruikt van papaver of kaasjeskruid) en tot slot materiaal dat door de bijen zelf afgescheiden wordt (hommelwas of een transparante materie die wordt afgescheiden door het vrouwtje van *Colletes* en *Hylaeus* spp.).

We wijzen ook op het soms gesofisticeerde karakter van de middelen die sommige soorten gebruiken om het nest te maken. Dat geldt onder meer voor de behangersbijen (bladsnijders), die twee soorten stukken uit de bladeren uitsnijden afhankelijk van de plaats die ze moeten vullen in het gangetje dat ze maken (Jacob-Remacle 1989). Dat is ook het geval bij de honingbij als we kijken naar de sofisticatiegraad die haar gedrag bereikt en die haar in staat stelt om in een gemeenschap te leven en zich voortdurend aan te passen aan de lokale middelen van bestaan. We mogen niet vergeten dat niet-*Apis*-bijen, die weliswaar minder geavanceerde gemeenschappen vormen dan de honingbij, toch beschikken over geavanceerde gedragsinstrumenten die hen toelaten om in soms zeer bijzondere nissen te huizen.

4.2.2. Middelen van bestaan

Niet-*Apis*-bijen verzamelen stuifmeel en nectar, maar sommige onder hen zijn ook in staat om de oliën die sommige plantensoorten produceren, te verzamelen. Afhankelijk van de soort zijn ze min of meer algemeen of gespecialiseerd. Sommige

³⁰ Bron: atlas van de hymenoptera in België: <http://zoologie.umh.ac.be/hymenoptera/page.asp?id=146>.

³¹ Bron: *Ibid.*, <http://zoologie.umh.ac.be/hymenoptera/page.asp?id=150>.

verzamelen stuifmeel van zeer veel soorten (ze worden dan polylectisch genoemd); andere zijn zeer eclectisch, typisch bezoeken ze slechts één geslacht bloemdragende planten (dan zijn ze oligolectisch) en tot slot zijn sommige volledig gebonden aan één enkele soort (monolectisch); zo bezoeken twee *Osmia*'s uit onze contreien, *Hoplitis adunca* en *H. anthocopoides* (Megachilidae), uitsluitend slangenkruid (*Echium vulgare*)³². Die categorieën zijn echter niet altijd duidelijk afgegrensd: de in België voorkomende klimopbij (*Colletes hederæ*) bijvoorbeeld werd lange tijd als monolectisch beschouwd; vandaag de dag wordt zij als een polylectische soort beschouwd met een sterke voorkeur voor stuifmeel van klimop (Müller en Kuhlmann 2008). Bij ons zijn meerdere soorten oligolectisch; een van de vele voorbeelden is een andere *Colletes*, de *C. halophilus*, die zulte als drachtplant kent en typisch is voor zoutpannen; een ander voorbeeld is de *Macropis europea* (Mellitidae), met wederiken als drachtplant, want die soort verzamelt de olie die deze bloemen produceren. Omgekeerd trekken sommige planten heel wat oligolectische soorten aan, zoals de gewone rolklaver (*Lotus corniculatus*), Fabaceae en Asteraceae; en sommige plantensoorten zijn afhankelijk van één enkel geslacht of zelfs van één enkele bijensoort, zoals de hommelorchis (*Ophrys fuciflora*), die uitsluitend bestoven wordt door bijen van het geslacht *Eucera*, waarvan er op ons grondgebied slechts twee soorten voorkomen, *E. longicornis* en *E. nigrescens*.

Enkel zeer polylectische soorten bevliegen exotische flora, of althans bepaalde soorten ervan; oligolectische bijen, en monolectische bijen des te meer, zijn nauw verbonden met de inheemse flora.

4.3. Pathologie van de niet-*Apis*-bijen

Dat gebied is verre van ongekend, maar het onderzoek ernaar is zeer gedeeltelijk en gericht op enkele soorten. Dat is te begrijpen als we in ons achterhoofd houden dat *Apis mellifera* niet de enige bestuiver is die gekweekt wordt; dat geldt ook voor hommels (onder meer *B. terrestris*, *B. impatiens*), de alkalibij *Nomia melanderi*, de luzernebehangersbij *Megachile rotundata* en de metselbij *Osmia lignaria*; allemaal soorten die, vooral in de VS, hoofdzakelijk gekweekt worden voor de bestuiving in kassen (tomaten, paprika's, ...). *Bombus impatiens*, *Nomia melanderi* en *Osmia lignaria* zijn inheemse soorten van het Amerikaanse continent. *Megachile rotundata* en *Bombus terrestris* zijn Europese soorten; enkel de laatste was tot voor kort op ons grondgebied gekend; recentelijk, in augustus 2013, werd een exemplaar gevonden in de buurt van Bergen (Nicolas Vereecken, persoonlijke mededeling). Voor die soorten werd onderzoek gedaan naar de pathologie, aangezien kwekerijen ervoor zorgen dat de prevalentie van ziekten toeneemt, ook onder de wilde populaties. Want aangezien de bijen die gekweekt worden, niet in de kassen opgesloten blijven, vormen zij ziektehaarden waaruit ziektekiemen zich verspreiden bij hun in het wild levende collega's (Colla *et al.* 2006); een verschijnsel waarvan vermoed wordt dat het een rol speelt bij de teruggang van de hommels op het Amerikaanse continent (Otterstatter en Thomson 2008).

Net zoals honingbijen beschikken niet-*Apis*-bijen over een bijbehorende microflora, met daarin symbiotische, commensale of parasitaire soorten, soms occasionele

³² Bron: *ibid.*, <http://zoologie.umh.ac.be/hymenoptera/page.asp?id=111>.

parasieten, die ofwel de bij zelf ofwel de voedselvoorraden te lijf gaan (Batra *et al.* 1973). Die microflora omvat meer bepaald heel wat microsimmels, onder meer gisten en melkzuurbacteriën, zoals we ook zullen zien bij de honingbij. Honingbijen en hommels hebben meerdere geslachten van pathogenen (het microsporidium *Nosema*, het trypanosoom *Crithidia*³³, ...) gemeen; het geslacht *Ascospheera*, dat verantwoordelijk is voor een schimmelziekte in het broednest, is zeer wijd verbreid onder alle bestuivers (Evison *et al.* 2012). Niet-*Apis*-bijen worden ook getroffen door virussen, zoals het misvormde vleugel virus DWV, dat zowel bij hommels (Evison *et al.* 2012) als bij de honingbij voorkomt. Sommige eencelligen die niet pathogeen zijn bij de honingbij (*Beauveria bassania* bijvoorbeeld) kunnen pathogeen zijn bij andere soorten (*Nomia melanderi* bijvoorbeeld (Batra *et al.* 1973)). De prevalentie van de ziekten varieert naargelang van de bijensoort, des te meer omdat de leefomgevingen heel uiteenlopend kunnen zijn. Zo is bijvoorbeeld de *Nomia melanderi*, die haar hol in de grond graaft, gevoeliger voor schimmelziekten (meer bepaald *Aspergillus* spp., *Saccharomyces* spp.) dan de *Megachile rotundata*, waarvan de hoog gelegen nesten beter beschermd zijn tegen waterinsijpelingen (Batra *et al.* 1973); die laatste is evenwel gevoelig voor kalkbroed (*Ascospheera* spp.) (James en Xu 2008). De bestaande kennis over de pathologie of de epidemiologie van een soort kan dus niet worden geëxtrapoleerd naar de andere soorten. Bovendien is op dat vlak weinig onderzoek verricht naar andere soorten dan de soorten die gekweekt worden, en de meeste daarvan zijn geen inheemse soorten in België. Alles welbeschouwd vertoont de kennis over de pathologie van de niet-*Apis*-bijensoorten die op ons grondgebied voorkomen, dus heel veel leemten, en het aanvullen van die leemten zou een enorme hoeveelheid werk met zich meebrengen.

4.4. Toxicologie van de niet-*Apis*-bijen

Zowel wat toxicologie als wat pathologie betreft, hebben de meeste studies over niet-*Apis*-bijen betrekking op de soorten die gekweekt worden, hoofdzakelijk de *Bombus* (*terrestris* en *impatiens*), *Megachile rotundata* en *Osmia lignaria*. Er werd een specifieke testmethode op microkolonies van 5 werksters uitgevoerd bij de *Bombus terrestris* (Mommaerts *et al.* 2010).

Laboratoriumproeven om de CL₅₀³⁴ te bepalen, tonen aan dat de toxiciteit sterk varieert naargelang van de werkzame stoffen en naargelang van de soorten. De toxiciteitsverhouding tussen twee stoffen kan voor de ene soort het omgekeerde zijn dan voor de andere; zo is clothianidine giftiger dan imidacloprid voor de *Bombus impatiens* en *Megachile rotundata*, terwijl het omgekeerde het geval is voor de *Osmia lignaria* (Scott-Dupree *et al.* 2009). Dezelfde vaststelling werd gedaan tussen verschillende bijen die gekweekt worden met het oog op de honingverzameling: tussen *Apis mellifera* en *Apis cerana* (Sharma en Abrol 2005), en tussen verschillende soorten Meliponini, inheemse bijen van Mexico, die in dat land een groot economisch belang hebben (Valdonvinos-Núñez *et al.* 2009). Bovendien variëren de

³³ Over *Crithidia* spp. bijvoorbeeld, zie de website van Apivet: <http://www.apivet.eu/2011/08/crithidia-mellificae-trypanosomiose-de-labeille.html>

³⁴ LD₅₀: lethal dose 50 of dodelijke concentratie 50 = concentratie die statistisch de helft van de steekproeven doodt die eraan worden blootgesteld.

effecten van eenzelfde gif tussen de soorten onderling, afhankelijk van de ontwikkelingsduur tussen het ei en de komst van de volwassen bij, aangezien de effecten van het verlies van de haalbijen zwaarder zijn naarmate die duur langer is (*ibid.*).

Een aantal studies onderzoeken de mogelijke subletale effecten. Sommige studies vinden geen enkel effect bij de op het veld gebruikte concentraties (Franklin *et al.* (2004), clothianidine bij *Bombus impatiens*; Morandin en Winston (2003), imidacloprid bij *Bombus occidentalis* en *Bombus impatiens*). Andere studies daarentegen tonen het bestaan van dergelijke effecten aan. Zo hebben Abbott *et al.* (2008) imidacloprid op de *Osmia lignaria* en clothianidine op de *Megachile rotundata* getest; een ontwikkelingsachterstand (ontwikkeling van de larven en spinnen van de cocon) doet zich voor in het eerste geval, maar niet in het tweede. Gill *et al.* (2012) hebben kolonies hommels chronisch blootgesteld aan imidacloprid (10 ppb) en aan λ -cyhalothrine (37,5 ppm, op filterpapier); de doeltreffendheid van het bloembezoek is afgenomen bij de blootgestelde kolonies (de stuifmeelklompjes zijn kleiner, de werksters hebben meer tijd nodig om ze te halen) en bijgevolg recruterende kolonies meer haalbijen; en de kolonies die aan beide pesticiden blootgesteld zijn, verliezen meer werksters. Bijgevolg is de ontwikkeling van de kolonies aangetast, in die mate dat van de kolonies die aan beide pesticiden blootgesteld zijn (tien), er twee dood zijn. Zelfde resultaat voor de studie van Laycock *et al.* (2012), waar de broedproductie bij de *Bombus terrestris* met een derde afneemt bij een dosis van slechts één ppb imidacloprid. Een zorgwekkend resultaat, want enkel de sterkste kolonies zijn in staat om op het einde van het seizoen een correct aantal ouderdieren groot te brengen, hetgeen Whitehorn *et al.* (2012) bevestigen; zij infecteerden het voedsel met veldrelevante doses (stuifmeel 6 ppb en nectar 0,7 ppb bij de laagste blootstelling) en stelden vast dat het aantal voortgebrachte koninginnen op het einde van het seizoen daalde tot 12% van wat het bij de controles was. Ook deltamethrin vermindert de vruchtbaarheid bij de *Megachile rotundata* (Tasei *et al.* 1988).

Uit een in Italië uitgevoerde studie, die uitgaat van het oogpunt van het veld, blijkt een impact van het veelvuldige gebruik van insecticiden in de wijngaard op het aantal solitaire bijensoorten, evenals een negatieve correlatie tussen de pesticidenlast van een gebied en het aantal soorten bestuivers die men er aantreft (Brittain *et al.* 2010). Pesticiden zijn ook een van de factoren die verantwoordelijk geacht worden voor het feit dat inheemse bijen niet meer in staat zijn om in te staan voor de bestuiving in gebieden met intensieve landbouw in de VS, aldus Kremen *et al.* (2002), die ook andere factoren aanhalen, zoals de plots veranderde habitats en de afgenomen bestaansmiddelen.

Uit dat alles kunnen we besluiten dat de toxicologische gegevens die voorhanden zijn voor de honingbijen en de andere gekweekte bijen niet kunnen worden geëxtrapoleerd naar andere soorten. Dat feit wordt vandaag de dag op Europees niveau erkend en heeft de EFSA ertoe gebracht om de schema's voor de evaluatie van het risico van pesticiden voor bijen te herzien teneinde er met name specifieke tests voor hommels en solitaire bijen in op te nemen (EFSA 2013, zie met name p. 12).

We wijzen erop dat er geen gegevens beschikbaar zijn voor de niet-*Apis*-bijensoorten, behalve voor de *Bombus terrestris*. De kennis betreffende de toxicologie van de niet-*Apis*-bijen op ons grondgebied vertoont dus heel wat leemten, en zoals reeds gezegd is, vergt het heel wat onderzoek om die leemten aan te vullen.

Hoofdstuk 5: De honingbij

De honingbij is een insect dat in kolonies leeft en waarvan de omvang van de kolonies varieert naargelang van de seizoenen. In de zomer telt de kolonie 40 – 50 000 individuen (de cijfers variëren van auteur tot auteur); in de winter beperkt de kolonie zich tot een vijftiental duizend individuen. De kolonie overwintert dus, in tegenstelling tot wespen en hommels, waarvan enkel de ouderdieren overwinteren en de kolonies uitsluitend tijdens het seizoen gevormd worden.

5.1. Oorsprong en evolutie

Zoals wij gezien hebben onder punt 1.2.1., is de honingbij – een inheemse soort in ons land - afkomstig uit warme regionen. Ze koloniseerde Europa meermaals en zocht tijdens de ijstijden beschutting op de mediterrane schiereilanden, waardoor differentiatie van de inheemse ondersoorten van de verschillende gebieden van Europa mogelijk was (Garnery 1992; Jensen *et al.* 2005; Whithfield *et al.* 2006). Tijdens dat proces paste ze zich via evolutie aan koudere klimaten aan (De la Rúa *et al.* 2009). Die aanpassing vergde tal van ontwikkelingen op het vlak van fysiologie en gedrag, en meer bepaald de bouw van nesten met meerdere raten (de « nichtjes » van de honingbij, *Apis florea* en *Apis dorsata*, die deze aanpassing nooit moesten uitvoeren, bouwen nesten met één raat), de verandering van habitat (de voornoemde « nichtjes » koloniseren takken van bomen; in gebieden met koude winters leeft *Apis mellifera* in holtes in de rotsen of in boomstammen), de verzameling van propolis, de vorming van de wintertros waarvoor op het einde van het seizoen een bijzondere categorie van bijen moet worden voortgebracht, de winterbijen (Wilson 1971 *in* Han *et al.* 2012)³⁵. Die evolutie maakt van de honingbij een insect dat perfect aangepast is aan koude klimaten, op voorwaarde echter dat ze zich tegen de wind kan beschermen want als er wind is, kan de wintertros zichzelf niet correct reguleren; haar aanwezigheid in wilde of verwilderde toestand hangt dus nauw samen met de beschikbaarheid van geschikte plaatsen om te verblijven.

Die aanpassing, en het vermogen van de soort om de meest interessante voedselbronnen uit te zoeken en die zo rendabel mogelijk te benutten (zie bijvoorbeeld Schmid-Hempel 1987), hebben van *Apis mellifera* een kosmopolitische soort gemaakt die in staat is om zich snel aan te passen, zelfs op continenten waar ze niet inheems is, zoals de snelle kolonisatie van het Amerikaanse continent door de geafrikaniseerde honingbij³⁶ aangetoond heeft.

³⁵ Winterbijen beschikken over bijzondere voorraden vitellogenine. Deze lipoproteïne, die uitermate vaak voorkomt in het dierenrijk, is voornamelijk een precursor van dooierewit; bij de bijen is de rol ervan geëvolueerd naar specifieke functies: het is een van de belangrijkste precursoren van koninginnenbrood, en het speelt een centrale rol in de levensduur van winterbijen (zie met name Amdam en Omholt 2002, en voor een review Münch en Amdam 2010).

³⁶ De introductie van de Afrikaanse honingbij *Apis mellifera scutellata* gebeurde in Brazilië in 1956, en de hybride bij koloniseerde op heden een groot deel van het Amerikaanse continent; haar noordelijke grens, in de VS, is op heden niet gekend (Whithfield *et al.* 2006; Ellis en Ellis, op het Internet: <http://edis.ifas.ufl.edu/in790>, geraadpleegd op 31 juli 2013).

Niettemin is er geen overbevolking onder de honingbijen in West-Europa. De beschikbaarheid van natuurlijke habitats die voor hen geschikt zijn, werd sterk teruggeschoefd door de intensieve bos- en landbouwpraktijken; bij dat probleem komen nog, voor de inheemse bijen, het opduiken van de varroamijt, de vermindering van de bezoekbare flora en de kruising met de geïmporteerde rassen, die doorgaans minder aangepast zijn aan de specifieke klimaat- en florakenmerken van de streek (De la Rúa *et al.* 2009). Al die factoren hebben de potentiële populatie van de wilde honingbijen drastisch verminderd; Jaffé *et al.* (2010), die Europese, Afrikaanse en Aziatische bijenpopulaties bestudeerden via een genoomtechniek (microsatellietmarkers), hebben op ons continent enkel in Ierland en in Italië sporen gevonden van kolonies die genetisch verschillen van de huisbijen, dit wil zeggen van waarschijnlijk wilde kolonies. Volgens die auteurs bedraagt de dichtheid van de kolonies in onze contreien gemiddeld iets minder dan drie per km², wat dicht aanleunt bij het bestaande gemiddelde van de gekweekte kolonies – met andere woorden zijn er bijna geen kolonies meer buiten die die door bijenhouders gekweekt worden; een resultaat dat bevestigd wordt in een eerder uitgevoerde studie in Duitsland en Zuid-Afrika (Moritz *et al.* 2007). De in die twee publicaties gemeten dichtheid ligt duidelijk lager dan de dichtheid die in Zuid-Afrika gemeten is, een verschil dat niet gerechtvaardigd wordt door de klimaatomstandigheden (*Ibid.*); er zou in ons land dus een tekort zijn wat betreft het globale aantal kolonies honingbijen ten opzichte van een natuurlijke situatie. De auteurs van die twee publicaties benadrukken het belang om de beschermingsstatus van de honingbij, een essentieel element voor de biodiversiteit van ons land, te herbeschouwen.

In Europa zijn er in die zin door sommigen al stappen ondernomen. In Frankrijk is er een milieubeschermingsmaatregel in de landbouw (MAE API) die steun verleent aan imkers die hun kolonies in gebieden plaatsen waar de biodiversiteit bedreigd wordt³⁷. In Spanje heeft FAPAS (Fondo para la Protección de los Animales Salvajes) in samenwerking met bijenhouders een project ontwikkeld om in de hoogste zones van de Cantabrische bergketen (Noord-Spanje) weer honingbijen uit te zetten. Het is de bedoeling om opnieuw voldoende populaties te hebben voor de bestuiving van blauwebosbessenstruiken en kersenbomen, waarvan de vruchten genuttigd worden door twee voor het gebied symbolische soorten die allebei in gevaar zijn: het Cantabrische auerhoen en de bruine beer³⁸.

5.2. De honingbij als wetenschappelijk model

De biologie van de bij *Apis mellifera* heeft al veel inkt doen vloeien. Dat is toe te schrijven aan de belangstelling die wetenschappers tonen voor de soort op zich, maar ook aan het feit dat de honingbij zich leent voor de modellering van vele biologische functies en als basis dient voor de ontwikkeling van verschillende activiteiten inzake fundamenteel onderzoek die toepassingen vinden in de algemene

³⁷ Zie beschikking H in de rondzendbrief betreffende milieubeschermingsmaatregelen in de landbouw, op Légifrance: http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2013/03/cir_36671.pdf.

³⁸ Zie met name de website van FAPAS: <http://www.fapas.es/index.php/proyectos-fapas-2/proyecto-de-polinizacion-de-areas-de-montana>, en ook – een uitvoeriger artikel - *Las abejas que protegen a los osos*, Vida apícola nr. 177, januari-februari 2013, pp. 8-13.

biologie en zelfs tot in de menselijke geneeskunde. We brengen in herinnering dat een van de grote bijenbiologen, Karl von Frisch³⁹, in 1973 samen met twee andere grote ethologen de Nobelprijs voor de Fysiologie of Geneeskunde ontving « voor het onderzoek naar het gedrag van sociale dieren, in het bijzonder de verklaring van de "danstaal" van bijen en hoe jonge vogels gefixeerd raken op hun moeder »; een gericht feit dat evenwel duidelijk maakt dat het belang van onderzoek naar bijen veel groter is dan dat van zuivere kennis of toepassingen met betrekking tot de soort op zich.

Die modelfunctie heeft te maken met het feit dat de bij, op het vlak van gedragingen en fysiologie, veel overeenkomsten vertoont met de zoogdieren (bijvoorbeeld: begrip tijd, slaap, geheugen, veroudering), maar die functies worden bij bijen uitgevoerd via wegen die op verschillende niveaus liggen en soms vergelijkbaar zijn met en soms verschillend zijn van die bij de mens. Zo maakt de bij het mogelijk om een nieuw licht te werpen op bepaalde verschijnselen, of vormt ze een model van intermediaire complexiteit voor het bestuderen van zeer complexe elementen bij de mens, zoals het geval is voor de hersenen (zie punt 5.3.5. hieronder). Voeg daaraan toe dat ze grote populaties vormt, waardoor er veel individuen ter beschikking staan om laboratoriumproeven uit te voeren, en dat de kolonies vrij makkelijk te krijgen en te volgen zijn doordat ze door de mens gekweekt worden. Ze is een van de insecten waarvan het genoom ontcijferd werd (Genome Consortium 2006).

De bij is dus een modelsoort⁴⁰ (Dukas 2008), en ze wordt als dusdanig herhaaldelijk aangehaald in de literatuur, op diverse gebieden als:

- de genetica, meer bepaald epigenetische verschijnselen (Foret *et al.* 2009), de populatiegenetica (Parker *et al.* 2010),
- levensduur en veroudering (Baker *et al.* 2012, Münch *et al.* 2013),
- seksuele selectie (Baer 2005),
- arbeidsverdeling (Barchuk *et al.* 2007), en de overgangen tussen verschillende toestanden die verband houden met de verschillende levensfasen (Elekonich en Roberts 2005),
- navigatie en het vermogen om zich in de ruimte te situeren (Capaldi en Dyer 1999),
- het circadiaanse ritme en de interferenties ervan met complexe gedragingen (Bloch 2010),
- herkenning van soortgenoten (Couvillon *et al.* 2008),
- communicatie (dans: Dyer 2002),

³⁹ Karl von Frisch is vooral beroemd voor zijn ontdekkingen omtrent de dans waarmee haalbijen die een interessante bloem als voedselbron gevonden hebben, hun collega's informeren over de richting die ze moeten nemen en over de afstand die moet worden afgelegd om er te geraken. Zijn onderzoek had ook betrekking op heel wat andere gebieden, zoals bijvoorbeeld het gezichtsvermogen van bijen, navigatie enz.

⁴⁰ Er zijn nog andere modelsoorten onder de insecten, meer bepaald mieren (voor navigatie, zicht, ...) en de bananenvlieg of fruitvlieg (*drosophila*), een belangrijk model in de genetica, maar waarvan vele andere aspecten bestudeerd werden, meer bepaald geheugen en slaap.

- de organisatie van de levende systemen (meer bepaald zelforganisatie) en de manier waarop die systemen reageren op veranderingen in hun omgeving (Camazine 2003b; Boes 2010),
- de neurobiologie (gedragsniveau, cellulair niveau en moleculair niveau, en verbanden tussen die verschillende niveaus); de studie van de cognitie en van de leermechanismen (Barbara *et al.* 2005, Dacher en Gauthier 2008, Giurfa 2003, Menzel 2012) en meer bepaald visuele categorisering (Bernard *et al.* 2006) en conceptualisering (Giurfa *et al.* 2001),
- de effecten van de microbiële gemeenschappen op de voeding van de gastheer en zijn weerstand tegen pathogenen (Anderson *et al.* 2011).

Er zijn nog heel wat andere studies uitgevoerd, over diverse onderwerpen zoals het waterevenwicht van de kolonie, de thermoregulatie (warmteregeling) van het broednest, de thermoregulatie van de wintertros, diverse manieren van communiceren naast de kwispeldans (trildans, vibratiesignaal, geluiden), voeding, feromonen, het leggen van eitjes door de koningin en de werksters, de regulering van de nesthoeveelheden en van het aantal mannetjes, de tastzin en de memorisatie van texturen, het foerageergedrag, alarmering en verdediging, het metabolisme in vlucht of in rust, het aanleren van de beweging van de zon enz.

Zonder hier een volledige uiteenzetting te willen geven over de huidige biologische kennis met betrekking tot *Apis mellifera*, wat gezien de complexiteit van het onderwerp overigens een illusie zou zijn, loont het de moeite om in te gaan op een aantal publicaties uit het onderzoek naar bijen; sommige zijn verhelderend op het vlak van de relevantie van de keuze voor de honingbij bij de vorming van een indicator of van een project rond de bij als bewaker.

5.3. Enkele grondbeginselen uit de biologie van de honingbij

Wij weiden hier niet uit over de grondbeginselen van de biologie van de bij, en meer bepaald de jaarlijkse cyclus van de kolonie, die interessant kan zijn om te kennen. Daarover is een uiteenzetting te vinden in het Franstalige rapport « Biocides et abeilles » (Biociden en bijen; punt 2.), dat geraadpleegd kan worden op de website van de FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu (<http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@mixednews/documents/ie2form/19081892.pdf>). Dat rapport bevat ook bepaalde grondbeginselen uit de biologie die verband houden met de toxicologie van de bij.

Hier is het perspectief anders; van de uitgebreide kennis die voorhanden is op het vlak van de biologie van de bij, hebben wij dan ook die uitgekozen die een verhelderend licht kan werpen op de rol van dat insect als indicator voor het leefmilieu en als bewaker, of op de aan te wenden middelen om de bijenkolonie als dusdanig te gebruiken.

5.3.1. De bijenkolonie, een superorganisme

De idee dat een bijenkolonie als een uniek organisme kon worden gezien, werd voor de eerste keer naar voren geschoven door een imker, Johannes Mehring (1815-

1878)⁴¹. Mehring vergeleek de geslachtskenmerken bezittende insecten van de bijenkast – mannetjes, koningin – met de voortplantingsorganen, terwijl de werksters een rol vervulden die overeenstemde met die van de spijsverteringsorganen. Later werd de term superorganisme voor de eerste keer gebruikt, door een myrmecoloog, William Morton Wheeler (1865-1937). Volgens Jürgen Tautz (in zijn boek « L'étonnante abeille », Tautz 2009) is de bijenkolonie een « zoogdier met vele lichamen ». Het parallelisme is immers opvallend: verschillende van de functies die het organisme van een zoogdier vervult, worden door de bij vervuld, maar op het niveau van de kolonie en niet van het individu. Zo vindt in de bijenkolonie thermoregulatie plaats, terwijl de bij als individu weliswaar in staat is om warmte te genereren maar haar temperatuur niet constant houdt, ze kan schommelen van ongeveer 5 tot 49°C (Fahrenholtz *et al.* 1989, Käfer *et al.* 2012); het nest van een bijenkast biedt de jongen een bescherming die op vele vlakken te vergelijken is met de bescherming die de baarmoeder aan het zoogdierjong biedt; voedsters scheiden een stof af, koninginnenbrood, die bij het grootbrengen van de jongen dezelfde functie vervult als moedermelk bij de Gewervelden (Tautz 2009 pp. 5-7); diezelfde voedsters beschikken over enzymen die de eiwitten van het stuifmeel in veel grotere hoeveelheden kunnen verteren dan de andere categorieën van bijen, die (inclusief de haalbijen) daarvan afhankelijk zijn voor hun eiwitvoorziening, wat de voedsters de gedeeltelijke, maar uitgebreide rol van superspijsverteringsorgaan van de kolonie verleent (Crailsheim 1992).

Bijgevolg zijn sommige van de parameters inzake fysiologie of gedrag van de bij slechts op het niveau van de kolonie aanwezig of komen ze slechts op het niveau van de kolonie ten volle tot uiting. Dat is bijvoorbeeld het geval voor het leggen van eitjes door de koningin, dat slechts tot volle ontwikkeling komt in een kolonie waar veel jonge bijen ze kunnen grootbrengen; dat is ook het geval voor het grootbrengen van de mannetjes, waartoe de kolonie slechts overgaat als ze een bepaald ontwikkelingsstadium bereikt heeft (Boes 2010). Wij zullen daarop terugkomen als we dieper ingaan op het vermogen van *Apis mellifera* om een milieu-indicator of -bewaker te verschaffen.

5.3.2. De bijenkolonie, een gereguleerd systeem

De bijenkolonie is een strikt gereguleerd systeem; bij die regulering worden zowel fysiologische als gedragsgerelateerde mechanismen ingezet.

Een goed voorbeeld van die regulerende mechanismen is dat van de feromonen. Die stoffen, die meestal vluchtig zijn⁴², worden voortgebracht door een individu of een categorie van individuen en hebben een invloed op de fysiologie en/of het gedrag van andere individuen. De koningin in het bijzonder scheidt feromonen af die verhinderen dat de werksters eitjes gaan leggen of dat er koninginnencellen gebouwd worden voor het opkweken van een nieuwe koningin. Maar ze is niet de enige: alle bijencategorieën scheiden feromonen af. Zo is er een door de haalbijen

⁴¹ Zie bijvoorbeeld Wikipedia : http://de.wikipedia.org/wiki/Johannes_Mehring (in het Duits).

⁴² Ze zijn niet allemaal vluchtig. Meer bepaald broedferomonen zijn niet vluchtig zodat de werksters direct contact met het broed moeten hebben om er een invloed van te ondervinden (LeConte *et al.* 2001; Shemesh *et al.* 2010).

uitgescheiden feromoon (ethyloleaat) dat de binnenbijen – in het bijzonder de voedsters – in hun functies blokkeert, door het fysiologische proces dat hen tot haalbijen zal maken, te verhinderen of op zijn minst uit te stellen (Leoncini *et al.* 2004). Op die manier past de kolonie haar aantal voedsters, en dus de omvang van haar broed, aan het aantal haalbijen en dus aan het binnengebrachte voedsel aan. Het broed produceert ook feromonen, waarvan een van de effecten erin bestaat de stuifmeelopbrengst te verhogen (Pankiw 2004).

Maar de regulering heeft ook betrekking op het gedrag. Zo passen bijen bijvoorbeeld voortdurend de verhouding aan tussen het foerageren en het opslaan van de verzamelde nectar, dat uitgevoerd wordt door opslagbijen. Het aanpassingsmechanisme gebeurt via dans. Als de haalbijen bij terugkeer in de kast hun lading snel hebben kunnen lossen, voeren ze kwispeldansen uit, die ervoor zorgen dat nieuwe haalbijen uitvliegen. Maar als de haalbijen met hun lading bij terugkeer in de kast lang moeten wachten, dat wil zeggen dat het opslaan niet kan «volgen», doen ze een ander soort dans, de trildans, die twee effecten heeft: hij zorgt ervoor dat de andere haalbijen ophouden met hun kwispeldans en er dus geen nieuwe haalbijen uitvliegen; en hij stelt de haalbijen vooral in staat om nieuwe opslagbijen aan te trekken (Seeley 1992). Als er voldoende nieuwe opslagbijen aan de slag zijn, moeten de haalbijen niet meer wachten als ze van hun vlucht terugkeren en beginnen ze opnieuw kwispeldansen uit te voeren en zorgen ze er dus voor dat er nieuwe haalbijen uitvliegen.

Een andere regulering betreft het stuifmeel. Dat wordt niet massaal opgeslagen zoals het geval is voor honing; de *turn-over* van stuifmeel is veel groter dan die van honing (Camazine 1991), aangezien de bijen zich ermee tevreden stellen om – in de mate van het mogelijke – constant een buffervoorraad van ongeveer 1 kg in de bijenkast te bewaren (Seeley 1985 *in* Camazine 1993). Het opkweken kan dan ook maar met succes worden voortgezet als het stuifmeel min of meer regelmatig binnengebracht wordt. Na enkele dagen zonder dat er stuifmeel aangedragen is, passen de bijen het kweekniveau aan de beschikbare voedselbronnen aan door de eitjes en de jonge larven op te eten (Schmickl en Crailsheim 2001).

Nog een voorbeeld: als er een piekmoment is in de nectarverzameling, beginnen sommige van de haalbijen die met succes nectar hebben verzameld, bij momenten te «schudden»: ze lopen het raam af, en van tijd tot tijd grijpen ze een van hun collega's bij de voorpoten vast en schudden ze die heftig heen en weer. Dat schudden heeft geen invloed op de aard van de taak die de geschudde bij uitvoert, maar zorgt ervoor dat diens activiteitsniveau toeneemt: het is een signaal tot aanpassing. Hoe meer nectar er is, hoe groter het aantal «schuddende bijen» is. Op die manier past de kolonie haar algemeen activiteitsniveau aan de omvang van de onmiddellijk beschikbare bron aan (voor een review, zie Schneider en Lewis 2004).

Dat zijn maar een paar van de vele voorbeelden van mechanismen die toelaten om het evenwicht tussen de in de kolonie aanwezige krachten onderling, of tussen de kolonie en haar leefomgeving aan te passen. Ze tonen ons aan dat **de bijenkolonie een plaats is met een geheel van fijne reguleringen die absoluut noodzakelijk zijn voor de goede werking ervan, waarbij zowel fysiologische als gedragsgerelateerde mechanismen aangewend worden.** Die regulerende mechanismen stellen de kolonie in staat om zich aan de externe

omstandigheden aan te passen via compensatiemechanismen (kannibalisme van de eieren en larven, transformatie van een deel van de voedsters tot haalbijen enz.); maar die mechanismen hebben beperkingen. Ze putten de kolonie en de individuen immers gedeeltelijk uit en verkorten zo hun levensduur. Voorbij een bepaald punt ontstaat er decompensatie en valt de kolonie uiteen (Khoury *et al.* 2011). **De bijenkolonie plaatst ons dus voor het begrip « tolerantiedrempel » inzake de aantasting van de ecosystemen waarvan ze deel uitmaakt.**

5.3.3. De bijenkast, een zichzelf organiserend systeem

De bijenkolonie heeft geen centraal gezag. De koninginnenferomonen hebben weliswaar een invloed op de fysiologie van de werksters en op hun gedrag (zo bouwen bijen met een goede koningin bijvoorbeeld gewilliger), maar dat is onrechtstreeks en vaag: de werksters volgen geen bevelen op.

De coördinatie van de verschillende activiteiten binnen de kolonie is nochtans duidelijk: de prestaties waartoe een bijenkolonie in staat is, veronderstellen een perfecte coherentie van het geheel dat ze vormt. Zo volgt de plaatsing van het broed, het stuifmeel en de nectar op het raam een precieze en perfect intelligente indeling: het broed, dat verwarmd moet worden, ligt in het midden van het nest en wordt omsloten door een krans waarvan de buitenkant van honing gemaakt is, een stof die niet isolerend is maar die over thermische inertie beschikt en daardoor een regulerend effect heeft op de temperatuur van het nest. Die indeling komt evenwel tot stand zonder dat de bijen ooit enig bevel moeten opvolgen; zij passen gewoon, bijna automatisch, een paar eenvoudige regels toe. De nectar en het stuifmeel worden eender waar opgeslagen, maar de voedsters brengen stuifmeel en nectar bij voorkeur naar het midden van de ramen want daar bevinden zich de eitjes. Het nest is dus geconcentreerd in het midden van de ramen, zowel omdat de koningin geneigd is om daar haar eieren te leggen als omdat, aangezien daar de eerste te voeden larven liggen, de voedsters ook daar meestal de cellen leegmaken zodat er eitjes in gelegd kunnen worden. De voedselvoorraden worden dus aan de buitenkant van de ramen ondergebracht, waarbij de eerste krans rond het nest van stuifmeel gemaakt is enkel en alleen omdat stuifmeel een grotere *turn-over* heeft dan honing (Camazine 1991). Dergelijke processen voor zelforganisatie werden voor heel wat andere functies aangetoond, zoals de optimalisering van voedselbronnen (Seeley *et al.* 1991), de keuze van het nest na zwerming (Camazine *et al.* 1999), de thermoregulatie van de tros (Watmough en Camazine 1995) of de verdediging van de kolonie (Millor *et al.* 1999). In al die gevallen is de perfecte coördinatie waarvan de individuen blijk geven en die het geheel coherent maakt, het resultaat van een model van sociaal functioneren waarin er geen centraal gezag, geen plan en geen besturingssysteem is, maar waar hogere organisaties de kop opsteken doordat alle eenheden waaruit het systeem opgebouwd is (hier de bijen), zich in een bepaalde situatie op identieke wijze gedragen.

Het feit dat de bijenkolonie zich in ruime mate zelf organiseert, is een belangrijk selectief voordeel: het maakt het een insect met zeer kleine hersenen mogelijk om gesofisticeerde organisatievormen te ontwikkelen. Maar het heeft ook nadelen: als er zich een kunstmatige wijziging voordoet die de kolonie in gevaar brengt, is die niet in staat om daarop te reageren omdat er geen centraal analyse- en besturingssysteem

is om dat nieuwe gevaar te herkennen en er gepast op te reageren. **De bijenkast is dus een systeem dat kwetsbaar en gevoelig is voor milieuverstoringen van antropogene oorsprong.**

5.3.4. Voedselverbruik en uitwisseling van voedsel binnen de kolonie

De hoeveelheden nectar en stuifmeel die een individu inneemt, schommelen sterk. Wat het energierijke voedsel betreft (de suikers van de nectar), varieert het verbruik naargelang van de activiteit van de bij. In het laboratorium verbruikt een bij die in rust en onder gecontroleerde omstandigheden (ongeveer 26°C en 40% relatieve vochtigheid) gehouden wordt, 33 – 35 µL siroop per dag voor zijn persoonlijke behoeften (Decourtye *et al.* 2003; Decourtye *et al.* 2005). Het verbruik neemt evenwel sterk toe als de bij moet vliegen, warmte produceren⁴³ of ventileren. Een bij in vlucht zou zo ongeveer 12,8 mg suiker per uur verbruiken (Balderrama *et al.* 1992), hetzij 128 mg voor een dag van 10 vluchten (Rortais *et al.* 2005), wat neerkomt op 320 mg of 250 µL nectar. Een haalbij zou op die manier op één dag tot drie keer haar gewicht in nectar kunnen verbruiken, naast de nectar die ze naar het nest brengt om de andere bijen te voeden of om als voorraad op te slaan. **Het verbruik van bijen ligt dus aanzienlijk hoger dan dat van gewervelde dieren.**

Rortais *et al.* (2005) geven ook een samenvatting van de literatuur over het verbruik van stuifmeel. Een voedsterbij verbruikt ongeveer 6,5 mg stuifmeel per dag, een hoeveelheid die meer dan 10 keer hoger ligt dan die van een haalbij, wat te verklaren is door haar bijzondere functie in de bijenkast. Wij hebben immers gezien dat die bijen het stuifmeel verteren om niet alleen de koningin en de larven maar ook de andere werksters te voorzien van eiwitrijke voeding, meer bepaald koninginnenbrood.

De omloop van voedsel in de kolonie is bijgevolg zeer groot. Tien uur nadat bij 100 bijen in twee kolonies een gemerkt aminozuur ingespoten is, vindt Crasilheim (1992) gemerkte eiwitten in 15,6% en 9,6% van de individuen van die kolonies; daarbij waren alle categorieën van bijen betrokken, larven, werksters en individuen met geslachtskenmerken. Gelijkaardige experimenten werden uitgevoerd bij kolonies die gemerkte siroop kregen; daaruit bleek dat die siroop na 24 uren verspreid was in een individuverhouding die naargelang van de categorie van bijen varieerde tussen 2/3den en ¾den (DeGrandi-Hoffmann en Hager 2000). **Al het voedsel dat naar de bijenkast gebracht wordt, wordt dus snel verspreid onder de individuen**, nog een kenmerk dat het superorganisme dat de kolonie is, dichter doet aanleunen bij de gewervelde organismen.

5.3.5. Hersenen en cognitie: onverwachte vaardigheden

De hersenen van de bij zijn oneindig veel kleiner dan die van de mens: ze hebben een volume van ongeveer 1 microliter, 960 000 neuronen (Giurfa 2003), dus iets minder dan een miljoen neuronen terwijl de hersenen van de mens er om en bij de honderd

⁴³ Thermische regulatie van de kolonie impliceert het ontstaan van warmte. Die wordt geproduceerd door de bijen zelf, die daartoe de vliegspieren samentrekken door de vleugels los te koppelen (*shivering bees*); zowel bij hen als bij ons wekken spiersamentrekkingen warmte op.

miljard tellen⁴⁴. We zijn dan ook geneigd om te denken dat de bij slechts in staat is tot eenvoudige handelingen en reflexen en bijvoorbeeld niet over enig leervermogen of enige beslissingsautonomie beschikt. Wij gaan zien dat daar niks van waar is.

De kennis omtrent de cognitie bij de bij is zeer uitgebreid, aangezien de bij – zoals we reeds gezegd hebben – een modelsoort is die het mogelijk maakt om in te gaan op de relaties tussen het gedrag en de cognitieve vaardigheden enerzijds en de neuronale netwerken anderzijds (Menzel 2012). Dat onderzoek werd voornamelijk gevoerd in het departement neurobiologie van de *Freie Universität Berlin* (Prof. Dr. Randolph Menzel) en in het onderzoekscentrum voor dierlijke cognitie van de universiteit Paul Sabatier in Toulouse (Prof. Dr. Martin Giurfa). De twee hierboven aangehaalde artikels zijn reviewartikels waarin al de op heden verworven kennis op dat gebied aan bod komt.

Er werd een atlas van de hersenen van bijen gepubliceerd, waarin een 3D-beeld gegeven wordt van niet alleen de hersenen in het algemeen, maar ook van bepaalde specifieke neuronen, die de reukkwabben verbinden met de *corpora pedunculata*, centra voor neuronale integratie bij de bij. Zo krijgen we een beeld van de verbindingen die de opbouw van het reukgeheugen bij haalbijen mogelijk maken (Brandt *et al.* 2005). Daaruit blijkt onder meer dat één enkel neuron, het *ventral unpaired median neuron maxillare 1* of *VUMmx1*, alleen verantwoordelijk is voor het olfactieve leergedrag van de bij; dat neuron zorgt ervoor dat de bij een geur die ze waarneemt, associeert met de bijbehorende suikerbeloning (Menzel en Giurfa 2001). Dergelijke « doelspecifieke neuronen » zijn kenmerkend voor ongewervelde dieren (*Ibid.*).

De geheugen- en leercapaciteiten van de bij kunnen via diverse instrumenten bestudeerd worden. Hierna volgt slechts een beknopt overzicht daarvan.

De bij heeft een geconditioneerde (pavloviaanse) reflex: als men haar een geur laat waarnemen (of iets laat voelen) en haar tegelijkertijd een druppeltje suiker voorlegt, associeert zij de geur (of de textuur) met de suikerbeloning zodat zij, wanneer ze die geur opnieuw waarneemt, haar tong zal uitsteken om de suiker te krijgen, zelfs al wordt die haar niet voorgelegd⁴⁵ (Kuwabara 1957). Die reflex, die noodzakelijk is om op doeltreffende wijze te foerageren, wordt in het laboratorium op verschillende manieren aangewend om het aanleervermogen van de bij (hoeveel keer moet de associatie haar voorgelegd worden opdat zij de reflex vertoont?), het afleervermogen van de bij (hoeveel keer moet haar de geur zonder suiker worden voorgelegd opdat ze de eerder verworven reflex vergeet?) of de gewenning (hoeveel keer moeten haar antennes met een sucroseoplossing aangeraakt worden voordat zij haar tong niet meer uitsteekt?) te testen (zie onder meer Belzunces 2012). Zo kon aangetoond worden dat de bij over een korte-, middellange- en langetermijngeheugen beschikt, overeenkomstig de duur die ze nodig heeft om een bloem als voedselbron te memoriseren bij haar vluchten van bloem naar bloem, van bloemengroep naar bloemengroep of van de ene dag op de andere (Menzel 1999).

⁴⁴ Over het aantal neuronen van de menselijke hersenen, zie bijvoorbeeld « Brain, facts and figures » op de website <http://faculty.washington.edu/chudler/facts.html>.

⁴⁵ Die reflex is te zien op filmpjes op Youtube, meer bepaald: <http://www.youtube.com/watch?v=iNEcSOD9iSA>.

Menzel (1999) onderzocht dat gedrag op het terrein en kon het mechanisme ervan uitpluizen, van de neuronale circuits tot de cellulaire machinerie. Via de reflex van het uitsteken van de tong kunnen ook de effecten van contaminanten op het aanleer- en memorisatievermogen bestudeerd worden (voor een review zie Belzunces 2012).

Een ander belangrijk instrument dat gebruikt wordt om de vaardigheden van de bij te testen, is de zogenaamde “decision box” (beslissingsdoos). Dat is een buis in de vorm van een Y waarin 3 signalen geplaatst zijn, één in elk van de vertakkingen. De bij moet door een opening in de eerste vertakking gaan – de basis van de Y – ; die opening is gemarkeerd met een signaal. Dan moet zij een van de twee eindvertakkingen kiezen en zij beschikt daarvoor over de signalen die op die vertakkingen voorkomen (ze kan de “feeder” of voedselbron noch zien noch ruiken). Als de voedselbron systematisch geplaatst wordt achter een signaal dat hetzelfde is als het signaal dat de bij heeft moeten passeren (bijvoorbeeld een blauwe cirkel), terwijl de andere vertakking voorzien is van een ander signaal (bijvoorbeeld een gele cirkel), zal zij vervolgens systematisch naar de voedselbron achter de blauwe cirkel gaan, ongeacht waar de proefnemer die plaatst. Vervolgens kunnen de signalen volledig veranderd worden, bijvoorbeeld de blauwe cirkels vervangen door horizontale strepen en de gele door verticale strepen; de bij heeft geen nieuw aanleerproces nodig om onmiddellijk naar de voedselbron te gaan achter het signaal dat hetzelfde is als het signaal dat zij kort na het binnenkomen van de doos heeft moeten passeren. Ze is met andere woorden in staat om vanuit een concrete situatie (ik passeer blauw dus de suiker bevindt zich achter blauw) een regel te extrapoleren die de vorming van concepten veronderstelt, in dit geval de concepten gelijkenis en verschil (de suiker bevindt zich altijd achter het signaal dat hetzelfde is als het signaal dat ik gepasseerd ben) (Giurfa *et al.* 2001). Proeven in de beslissingsdoos tonen ook aan dat de bij in staat is om te categoriseren (kleuren, patronen) of te generaliseren: nadat de bij een aanleerproces met patronen met een tweevoudige of drievoudige symmetrie doorgemaakt heeft, extrapoleert ze wat ze aangeleerd heeft naar andere patronen met een tweevoudige of drievoudige symmetrie (zie met name Bernard 2007, doctoraalscriptie).

De bij heeft dergelijke vaardigheden nodig om voedsel te halen (herkennen van bloemen van hetzelfde type ook al zijn ze niet identiek, memoriseren van de interessante bronnen enz.). Ze moet bovendien over vaardigheden beschikken om zich in de ruimte te oriënteren teneinde haar weg te kunnen vinden en naar de bijenkast te kunnen terugkeren. Dat doet ze op grond van een systeem van vectoriële berekening van haar trajecten, gebaseerd op de koers van de zon (*path integration* of padintegratie) en algemeen voorkomend bij insecten, en op basis van de visuele herkenning van het landschap (Collett en Collett 2004). Wij gaan niet dieper in op dit zeer uitgebreide onderwerp, maar wijzen enkel op een klein experiment waarbij bijen als enig oriëntatiepunt ten aanzien van een voedselbron een welbepaald aantal gekleurde pergola's krijgen; dat aantal wordt 's nachts gewijzigd zonder dat de afstand van de bijenkast tot de voedselbron verandert. De meeste bijen bereiken de voedselbron door af te gaan op de afstand, maar ongeveer een vierde onder hen bereikt het doel door zich te baseren op het aantal pergola's (Chittka en Geiger 1995). Dit kleine experiment toont aan dat (1) de bij in staat is

tot *protocounting* of protoberekening, en vooral (2) dat verschillende individuen die in eenzelfde situatie geplaatst worden, keuzes maken die niet noodzakelijkerwijs identiek zijn, aangezien niet iedereen dezelfde oriëntatiepunten gebruikt heeft. De bij gedraagt zich dus niet zuiver mechanisch en instinctief: de keuze van de oriëntatiepunten die zij maakt, hangt gedeeltelijk samen met haar vroegere ervaringen, met haar verleden.

De hersenen van de bij hebben dus voldoende functionaliteiten om cognitieve vaardigheden zoals aanleergedrag, categorisering, generalisering en conceptualisering toe te laten. Bijen zijn in staat om elementen in hun geheugen op te slaan en die er vervolgens uit te halen om ze te confronteren met de zintuiglijke informatie van het moment, om op grond daarvan beslissingen te nemen over wat ze gaan doen. Al die functionaliteiten moeten worden uitgevoerd met een beperkt aantal neuronen, waarbij sommige daarvan « doelspecifiek » zijn, dit wil zeggen dat ze elk voor een functionaliteit instaan.

5.4. Pathologie van de honingbij

De honingbij wordt, net als elk ander levend wezen, blootgesteld aan ziekten.

Die kunnen te wijten zijn aan:

- externe parasieten zoals *Varroa destructor* (zie hieronder) of *Acarapis woodi*, de ziekteverwekker van mijtmijt. Acariose of mijtziekte werd voor de eerste keer in 1904 ontdekt op het eiland Wight en dunde begin de XX^{ste} eeuw de Engelse bijenkasten uit. Die epidemie lag aan de basis van een kruisingsprogramma dat tot doel had een tegen de ziekte resistente bij te selecteren die even rustig en productief zou zijn. Dat programma, onder leiding van broeder Adam Kehrle van de abdij van Buckfast, leidde tot het ontstaan van de bij met dezelfde naam, een geselecteerde bij die op ons grondgebied veel gebruikt wordt;
- bacteriën: Amerikaans vuilbroed, Europees vuilbroed. Die broedziekten zijn endemisch, zoals we zullen zien; niettemin is Amerikaans vuilbroed gevaarlijk omwille van zijn virulentie en zijn er strenge maatregelen ter voorkoming van de ziekte: het is, net als Europees vuilbroed overigens, een ziekte die verplicht moet worden aangegeven en die leidt tot de vernietiging van de aangetaste kolonies⁴⁶;
- microsimmels: kalkbroed, aspergillose (steenbroed);
- microsporidia: Nosema-infecties, waarvan de ziekteverwekkers *Nosema apis* of *Nosema ceranae* zijn; die laatste is afkomstig uit Azië, waar hij een natuurlijke parasiet van *Apis cerana* is, en lijkt *Nosema apis* te verdringen, althans in bepaalde gebieden van Europa (APENET 2010, Ravoet *et al.* 2013). Nosema werkt in synergie met sommige giftige stoffen van de bij, meer bepaald de als zaadbehandeling toegepaste insecticiden, waarvan het de effecten verergert

⁴⁶ Zie de relevante pagina op de website van het FAVV:
<http://www.favv.be/bijenteelt/dierengezondheid/>.

(Alaux *et al.* 2009, Vidau *et al.* 2011, Pettis *et al.* 2012, Aufauvre *et al.* 2012).

- virussen. De voornaamste gekende virussen zijn het acute verlamningsvirus ABPV (acute bee paralysis virus), het chronische verlamningsvirus CBPV (chronic bee paralysis virus), het misvormde vleugel virus DWV (deformed wings virus), het zakbroedvirus SBV (sacbrood virus), het zwartekoninginnencelvirus BQCV (black queen cell virus). De prevalentie van virale ziekten zou verhoogd worden door *Varroa destructor*, zowel omdat die als vector werkt (Schöning *et al.* 2012) als omdat hij een immunosuppressief effect heeft (Yang en Cox-Forster 2005). Dat geldt zeker voor het DWV, en de aanwezigheid van bijen met misvormde vleugels is voor de imker overigens een signaal om te controleren op varroase.

De meeste van die ziekten komen bij alle honingbijen ter wereld voor, met uitzondering van bepaalde parasieten die (nog?) niet doorgedrongen zijn tot onze contreien: de mijt *Tropilaelaps* spp. en de kleine bijenkastkever *Aethina tumida*.

Bijenziekten komen aan bod in praktische gidsen en handboeken voor imkers⁴⁷. Bij de meeste van die ziekten gaat het om opportunistische parasieten, die in veel bijenkasten latent aanwezig zijn en die zich enkel in gunstige omstandigheden ontwikkelen. Een opmerkelijke uitzondering is *Varroa destructor*, een niet-natuurlijke parasiet van de bij, waaraan die dus niet aangepast is.

5.4.1. Varroase, een uitwendige parasitose

Varroa destructor is een mijt die nauw verwant is aan *Varroa jacobsoni*, een parasiet van de Aziatische honingbij *Apis cerana*. De mijt is waarschijnlijk in de jaren 1960 in de Filippijnen bij *Apis mellifera* terechtgekomen, nadat die in Azië was binnengebracht. Sindsdien heeft de parasiet zich in heel de wereld meedogenloos verspreid en bereikte hij in de jaren '70 het Amerikaanse continent en in de jaren 1980 Europa. Tegenwoordig zijn enkel eilanden ervan gespaard gebleven: Australië is daar het voornaamste van (maar Nieuw-Zeeland is besmet); dichterbij ons hebben we het eiland Ouessant waar de parasiet nog altijd niet aanwezig is (Colin 2008). Vanaf 2000 werd de parasiet van *Apis mellifera* als een aparte soort geïdentificeerd en kreeg hij de naam *Varroa destructor*⁴⁸.

Apis cerana verdraagt de mijt, die diens natuurlijke gastheer is, want haar hygiënisch gedrag enerzijds en de specifieke kenmerken van haar fysiologie anderzijds beperken de expansie van de parasiet in haar kolonies (*V. jacobsoni* parasiteert bij *A. cerana* enkel op het mannelijke broed) (Rath 1999). De honingbij heeft niet dezelfde eigenschappen, en de Varroamijt kan in haar kolonies binnendringen en ze volledig vernietigen, omdat de mijt –zoals we gezien hebben – een immunosuppressief effect heeft op de bij en sommige virale infecties versterkt. Sommige lijnen vertonen evenwel duidelijker hygiënisch gedrag dan andere, een interessante eigenschap in de

⁴⁷ Bijvoorbeeld Ritter en Akrotanakul 2006: Honey bee diseases and pests, a practical guide, FAO, terug te vinden op het internet:

http://afghanag.ucdavis.edu/c_livestock/bees/Man_Honeybee_diseases_and_pests_FAO.pdf.

⁴⁸ Voor een samenvatting van de geschiedenis van *Varroa destructor*, zie Wikipedia, Engelse versie: http://en.wikipedia.org/wiki/Varroa_destructor.

strijd tegen Varroa en tegen broedziekten (zie met name Pernal *et al.* 2012). Maar het lopende onderzoek op dat gebied is nog onvoldoende ontwikkeld om de parasiet met succes te kunnen bestrijden. Mechanische behandelingen zijn ook mogelijk, zoals het verwijderen van het mannelijke broed bij het begin van het seizoen, waardoor het aantal Varroa-vrouwtjes in de kolonie sterk ingeperkt wordt. Maar dergelijke werkwijzen hebben slechts gedeeltelijke resultaten, en Varroa wordt meestal bestreden via behandelingen met synthese-geneesmiddelen of op basis van organische zuren of etherische oliën.

Als bijenkolonies opgevolgd worden, moet de aandacht uitgaan naar het niveau van besmetting met varroase en moet men perfect op de hoogte zijn van de toegepaste behandelingen.

5.4.2. Meegeëvolueerde parasieten

Microbiële organismen, zowel bij de bij als bij de mens, werden eerst bestudeerd via de pathologie, waarbij er verwarring ontstaan is tussen hygiëne en extreme bestrijding van alle soorten microben. Recentelijk is die visie geëvolueerd, en de microbiële flora wordt nu meer bekeken vanuit een ecologisch oogpunt, waarbij men zich richt op het bestuderen van de nissen die de verschillende soorten innemen, en van de relaties die zij onderhouden met hun gastheer. Die relaties zijn verre van altijd negatief.

De bijenkast is, vanuit microbiëel oogpunt, een zeer bijzonder universum: hij bevat talrijke voedselbronnen (stuifmeel, nectar) en fragiele larven met een opperhuid die dun en ook rijk aan voedingsstoffen is. Ondanks die eigenschappen, die zeer gunstig zijn voor de ontwikkeling van parasietsoorten, heeft de bijenkast zich toch kunnen ontwikkelen omdat de bij in de loop der tijd middelen heeft uitgewerkt om zich tegen microbiële invasies te verdedigen: stuifmeel ondergaat, zodra het opgeslagen is, een melkzuurgisting (Gilliam 1979); honing, propolis en koninginnenbrood hebben allemaal bacteriostatische of bactericide eigenschappen (honing: o.a. Cooper 2008; propolis, o.a. Burdock 1998; koninginnenbrood: Romanelli *et al.* 2011). In de bijenkast leven echter veel micro-organismen, wat doet veronderstellen dat zij zich op de een of andere manier kunnen aanpassen en dus meeëvolueren met de bij.

Wetenschappelijke studies ondersteunen die hypothese. De ventriculus (maag/middendarm) van de bij (het deel van het spijsverteringskanaal waar de eigenlijke vertering gebeurt) bevat een microbiële flora waarvan men heeft kunnen aantonen dat (1) die strikt genomen alleen bij bijen voorkomt en dat (2) die zowel bij de Afrikaanse bijen *A.m. capensis* en *A.m. scutellata* als bij de Italiaanse bij *A.m. ligustica* grotendeels dezelfde is. De aanwezigheid van vergelijkbare flora bij stammen honingbijen die zich meer dan een miljoen jaar geleden gedifferentieerd hebben, doet sterk vermoeden dat de flora en de gastheer ervan meegeëvolueerd zijn (Anderson *et al.* 2011).

Van de microbiële stammen zijn er bepaalde (Actinobacteria, Lactobacillen) die duidelijk niet-pathogeen zijn en bovendien bijdragen tot de regulatie van de pathogene organismen door de nissen in te nemen waar die laatste zich kunnen ontwikkelen (*Ibid.*). In het laboratorium werd aangetoond dat de melkzuurbacteriën het immuunsysteem van de bij stimuleren ((Evans en Lopez 2004). Andere soorten

zijn opportunistische pathogenen: ze zijn in groten getale aanwezig en ontwikkelen zich slechts in welbepaalde omstandigheden zodanig dat ze klinische symptomen veroorzaken (bijvoorbeeld afkoeling van het broednest voor *Ascospheera apis*, de ziekteverwekker van kalkbroed (Wilson-Rich 2009)). Microbiële stammen komen in gezonde bijenkasten dus vaak voor; zo blijkt bijvoorbeeld uit een studie (Nguyen *et al.* 2008) dat er sporen van de verwekker van Amerikaans vuilbroed, *Paenibacillus larvae*, aangetroffen zijn in 26% van de onderzochte honingmonsters, afkomstig uit 50 bijenstallen in het Waals Gewest; klinische tekenen van vuilbroed werden slechts in één van die bijenstallen vastgesteld. De aanwezigheid van die microbiële stammen is een essentieel gegeven bij selectie, om resistente stammen te kweken. Bovendien kunnen de gezondheidsproblemen gepaard gaan met een verandering van het microbiële profiel van de kolonie, zoals Cox-Foster *et al.* (2007) hebben aangetoond voor het Colony collapse disorder (bijenverdwijnziekte) in de VS. De samenstelling van de microbiële flora zou op die manier een interessante onderzoeksparameter kunnen verschaffen voor de opvolging van de gezondheid van de kolonies en zou zelfs gebruikt kunnen worden voor de biologische controle van de ziekten in de bijenkast (Crotti *et al.* 2013).

Een laatste punt is van belang met het oog op het onderwerp dat ons bezighoudt: de pathogeniteitsdrempels zijn niet gekend. Het is dus op heden niet mogelijk om op basis van een kwantitatieve analyse via PCR te zeggen of de onderzochte kolonie al dan niet als ziek beschouwd moet worden (bron: verschillende mondelinge mededelingen, onder meer Monique L'Hostis tijdens haar voordracht op 6 juni 2013).

Als bijenkolonies opgevolgd worden, moet de gezondheidstoestand van de kolonies regelmatig gecontroleerd worden. In geval van analyses via PCR met positieve resultaten zal de kolonie nauwlettend onderzocht worden en zal, afhankelijk van de aan- of afwezigheid van klinische tekenen, een uitspraak gedaan worden over een gewone aanwezigheid of een echte pathologische toestand. De samenstelling van de microbiële flora zou een onderzoeksparameter kunnen zijn voor de opvolging van de gezondheid van de kolonies.

5.5. Toxicologie van de honingbij

Net zoals naar de biologie is ook naar de toxicologie van de honingbij heel wat onderzoek gedaan. De bij wordt door haar leefwijze immers sterk blootgesteld aan milieucontaminanten. We denken daarbij aan fytosanitaire producten aangezien ze teelten bezoekt, maar ze wordt ook blootgesteld aan biociden, meer bepaald producten voor de behandeling van gebouwen (zie daarover het rapport « Biocides et abeilles » op de website van de FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu⁴⁹). In Frankrijk bijvoorbeeld heeft de reiniging van gebouwen en vervoermiddelen in de strijd tegen de culicoïde (bij schapen), die de vector van blauwtong is, gezorgd voor de vernietiging van bijenkasten, meer bepaald

⁴⁹ Dat rapport is terug te vinden via de volgende link:

<http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@mixednews/documents/ie2form/19081892.pdf>

in de Ariège; uit analyses die op initiatief en op kosten van de imkers uitgevoerd zijn, bleek dat er werkzame stoffen aanwezig waren (deltamethrin in de honing, bifenthrin en permethrin in de bijen enz.) (bron: niet-gepubliceerde analyses van het nationaal centrum voor wetenschappelijk onderzoek CNRS) zodat de oorzaak als vaststaand moet worden beschouwd hoewel het nationaal agentschap voor de voedselveiligheid ANSES dat nooit erkend heeft. Maar het grootste aantal incidenten waarvan de bijen op heden het slachtoffer waren, is voornamelijk te wijten aan landbouwpesticiden. Die incidenten hebben de overheden aan beide zijden van de Atlantische Oceaan ertoe aangezet om instrumenten te creëren voor de evaluatie van de toxiciteit van werkzame stoffen en gewasbeschermingsmiddelen voor bijen. Het loont de moeite om de gemeenschappelijke geschiedenis van bijen en landbouwpesticiden nog eens kort te schetsen want, gelet op de rol die de bij daarin gespeeld heeft, is die geschiedenis verhelderend ten aanzien van de begrippen indicator en bewaker die ons hier bezighouden.

5.5.1. Bijen en pesticiden: een (lange) gemeenschappelijke geschiedenis

5.5.1.1. Organochloorverbindingen

DDT, het eerste insecticide ooit ontdekt, bleek eerst wonderbaarlijk door de voordelen die het bood: schadelijke insecten konden chemisch bestreden worden, en met name de vectoren van tyfus en in tweede instantie malaria konden onder controle gehouden worden, met als gevolg dat die ziekten op het einde van de tweede wereldoorlog een aanzienlijke teruggang kenden. De ontdekker ervan, de chemicus Paul Hermann Müller, kreeg in 1948 voor zijn ontdekking de Nobelprijs voor de fysiologie of geneeskunde. Pas met de publicatie van het boek « Silent spring » van Rachel Carson kreeg het publiek langzamerhand besef van de ongewenste en negatieve effecten van pesticiden.

DDT heeft een gematigde toxische werking op de honingbij (acute LD50: 5 µg/bij⁵⁰). Het stond eerst bekend als weinig toxisch voor zoogdieren (het werd rechtstreeks op de personen verstoven), maar is zeer persistent en vooral in hoge mate bioaccumuleerbaar. Die laatste eigenschap heeft, in combinatie met het opduiken van resistentie bij de bestreden pestepidemieën, ertoe geleid dat het van de markt gehaald werd (VS 1971; Frankrijk 1973); wereldwijd wordt DDT beschouwd als een POP (*persistent organic pollutant*), een persistente organische verontreinigende stof, en het gebruik ervan in de landbouw wordt door het in 2001 ondertekende Verdrag van Stockholm inzake POP's verboden. Het gebruik ervan in de landbouw was overigens al vroeger opgehouden, maar de stof werd verder ingezet in de strijd tegen vectoren van ziekten bij mens en vee, zoals bijvoorbeeld de tseetseevlieg. De effecten ervan op gezondheid en leefmilieu worden vandaag de dag nog altijd betwist⁵¹.

⁵⁰ Bron: Footprint

⁵¹ Zie de debatten naar aanleiding van de honderdste verjaardag van de geboorte van Rachel Carson: <http://www.pbs.org/moyers/journal/09212007/profile2.html>.

Er is weinig geweten over het effect van de invoering van organochloorpesticiden op het bijenbestand. Er waren incidenten in Engeland door verkeerd gebruik van triazophos (Greig-Smith *et al.* 1994). De acute toxiciteit is niet het enige probleem: in Italië bleek uit onderzoek dat endosulfan niet alleen zeer toxisch is voor de bijen die er rechtstreeks en acuut aan blootgesteld worden, wat men al wist, maar ook voor de bijen die eraan blootgesteld worden door besmette nectar in te nemen, hetgeen de periode van blootstelling en het toxische risico van de stof aanzienlijk verlengt (Giordani *et al.* 1978 in Celli en Maccagnani 2003). Op grond van die vaststelling werd enkele jaren later het gebruik van endosulfan op bloementeelten aan banden gelegd.

Toen DDT van de markt gehaald werd, doken andere insecticiden op die zijn plaats innamen: carbamaten, organofosforverbindingen en pyrethroïden.

5.5.1.2. Carbamaten en organofosforverbindingen, en de zaak Penncap-M®

Carbamaten en organofosforverbindingen werden verkozen boven organochloorverbindingen want ze zijn veel minder persistent in het leefmilieu en veel minder bioaccumuleerbaar (zo hebben aldicarb, dimethoaat en parathion-methyl een laag bioaccumulatiepotentieel⁵²). Ze zijn echter veel toxischer voor zoogdieren en over het algemeen toxischer voor de bij (bijvoorbeeld: LD₅₀ bij = 0,09 en 0,12 µg/bij voor respectievelijk aldicarb en dimethoaat) hoewel sommige van die verbindingen een lagere toxiciteit vertonen, althans bij acute blootstelling (LD₅₀ = 19,5 en 14,39 µg/bij voor respectievelijk parathion-methyl en cumafos); cumafos, een organofosforverbinding, wordt overigens gebruikt in de strijd tegen varroa (Perizin®). Niettemin zijn ze verantwoordelijk voor incidenten die de ondergang betekenden voor honderden en soms duizenden bijenstallen, vaak door een verkeerd gebruik van het product (zie bijvoorbeeld de cijfers 1995-2001 voor het Verenigd Koninkrijk in de studie van Fletcher en Barnett (2003)). De intoxicatie van een kolonie door die producten gebeurt op een typische manier: er zijn veel dode bijen te zien vóór de bijenkast of achter in de kast (bronnen: o.a. Luc Belzunces, mondelinge mededeling tijdens de bijscholingscursus aan het CARI op 26 februari 2011; persoonlijk onderzoek).

Van de organofosforverbindingen verdient parathion-methyl bijzondere aandacht. Die werkzame stof, die zeer toxisch is voor insecten, is daardoor doeltreffend maar levert een reeks problemen op: ze wordt snel gefotolyseerd zodat het effect ervan van zeer korte duur is; ze is relatief fytotoxisch; ze is zeer toxisch voor de mens en het leefmilieu. Bovendien is ze moeilijk te emulgeren. Om dat laatste probleem op te lossen, heeft de fabrikant een poging gedaan om het in een capsule te doen: de stof, vermengd met een formuleringshulpstof, neemt de vorm aan van microcapsules waarvan de grootte varieert van 30 tot 130 micron. Het op die manier geformuleerde product, Penncap-M® genaamd, heeft kwaliteiten die de uitvinders niet verwacht hadden: behalve dat het effectief emulgeerbaar is, is het voor zoogdieren en voor het leefmilieu veel minder toxisch dan parathion-methyl, dat niet in capsulevorm aangeboden wordt (het is met name minder uitloogbaar); en het blijft

⁵² Bron: Footprint

meerdere dagen aanwezig, hetgeen de doeltreffendheid ervan verhoogt (DeSavigny 1971). Niettemin heeft het op die manier geformuleerde product schadelijke effecten voor bijen. De microcapsules hebben ongeveer dezelfde grootte als een stuifmeelkorrel. Ze worden gevangen door de vertakte haren van de bijen, samen met het stuifmeel in de korfjes verzameld en naar de bijenkast teruggebracht, zonder dat dit enig probleem geeft voor de haalbij, want die komt niet in contact met de stof, die in dat stadium opgeborgen zit in de capsule. De bijenkast wordt in een later stadium vergiftigd naarmate er stuifmeel geconsumeerd wordt (Stoner *et al.* 1978). In de jaren '70, en later in de jaren '90, werden op die manier in de Verenigde Staten duizenden bijenkasten vernietigd door vergiftiging met Penncap-M® (Stoner *et al.* 1979). Die zaak lag aan de basis van een grote polemiek die de imkers tegenover de fytofarmaceutische industrie en zelfs de evaluatoren plaatste⁵³. In de Verenigde Staten is parathion-methyl sinds december 2012 niet meer toegelaten⁵⁴; in Europa maakte de stof het voorwerp uit van een beschikking van 10 maart 2003 betreffende de niet-opneming ervan in bijlage I (beschikking 2003/166/EG⁵⁵).

5.5.1.3. Pyrethroïden en de zaak Decis®

De pyrethroïden van de eerste generatie werden ontwikkeld in de jaren '60, maar hadden het nadeel zeer onstabiel te zijn. Een tweede generatie met persistentere producten zag het licht in 1974 en ontwikkelde zich sterk in de jaren '80. Toen die op de markt kwamen, doken tegelijkertijd ook nieuwe problemen op in de bijenkasten. In de Verenigde Staten was dat de « disappearing disease », waarvan de officiële oorzaak nooit achterhaald werd (Wilson en Menapace 1979). In Frankrijk ondervinden imkers dezelfde problemen en zij geven de schuld aan Decis®, een product op basis van deltamethrin (Schiro 2002). In beide gevallen zijn de symptomen vergelijkbaar: de haalbijen verdwijnen, en die verdwijning verzwakt of vernietigt zelfs de kolonies. Er zijn maar weinig dode bijen te zien vóór of achter in de kast, wat zowel de Amerikaanse als de Franse overheid doet twijfelen over het feit of het wel om een intoxicatieprobleem gaat (Wilson en Menapace 1979, Shiro 2002), omdat pyrethroïden geacht worden insecten te verjagen en het foerageren onmiddellijk stopt nadat het product gespreid is. Nochtans zal Rieth (1986) met permethrin aantonen dat het stoppen van het foerageren niet te wijten is aan het insectenverjagende karakter van het product voor de bij, maar wel aan een vorm van *knockdown* effect; en Cox en Wilson (1984), die deze theorie bevestigen, tonen aan dat de bij na haar eerste contact met het toxicum meestal niet in staat is naar de bijenkast terug te keren en problemen heeft op het vlak van thermoregulatie. Als ze 's nachts haar 35°C behoudt, zal ze de volgende dag nog leven en recupereren; maar als ze op het veld vergiftigd is, zal ze in 90% van de gevallen sterven door de plotse temperatuurdaling 's nachts. Die ontdekkingen lijken de stelling van de imkers aannemelijk te maken, maar de controversie werd eigenlijk nooit definitief opgelost. Wetenschappelijke studies hebben evenwel de subletale effecten van pyrethroïden

⁵³ Zie met name het artikel *Bees Under Siege* van Paul Larmer in High Country News, 20 januari 1997

⁵⁴ Zie de database van het Amerikaanse EPA:
http://www.epa.gov/oppsrrd1/reregistration/status_page_m.htm.

⁵⁵ Link Eur-Lex: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:067:0018:0019:NL:PDF>

aangetoond, meer bepaald op het oriëntatie- en thermoregulatievermogen van bijen (Vandame *et al.* 1995), of op de werking van de hartspeer (Papaefthimiou en Theophilidis 2001), evenals de synergetische effecten van de combinatie pyrethroiden - fungiciden die de ergosterolbiosynthese remmen (EBR-fungiciden), meer bepaald op de thermoregulatie (Pilling en Jepson 1993, Vandame en Belzunces 1998).

5.5.1.4. Insectengroeiremmers (IGR) en de zaak Insegar®

Fenoxycarb is een groeiremmer die in de jaren '80 in de handel werd gebracht onder de naam Insegar®. Die stof, waarvan was vastgesteld dat ze het bloemenstuifmeel besmet, werd in 1982 in Zwitserland onderworpen aan een risicobeoordeling voor bijen⁵⁶; uit die beoordeling bleek dat er geen risico was voor bijen, gelet op de geringe toxiciteit van het molecuul. Niettemin zorgde het gebruik van Insegar® in boomgaarden al snel voor problemen in de naburige bijenstallen (Gerig 1991; van Heemert 1986). Uit toxicologische proeven op het bijenbroedsel (De Ruijter en Van der Steen 1987 in Tasei 2001) bleek dat de besmette larven niet-levensvatbare nimfen voortbrachten; alle larven die binnen de 5 dagen na het sproeien het tweede larvenstadium bereikten, stierven. Een typisch symptoom van die intoxicatie is dat bijen geboren worden met strepen in de ogen, en dit tot 10 dagen na gebruik, en tot 12 dagen na gebruik was er sterfte in het broednest (voor een review van de historie zie Tasei 2001). Gebleken is dat fenoxycarb weliswaar weinig risico's inhield voor volwassen bijen – in zijn laboratoriumproeven had Gerig enkel volwassen bijen gebruikt, overeenkomstig de geldende richtsnoeren – maar dat dit niet gold voor de larven; en de stof kreeg enkel en alleen de classificatie « low risk » omdat er geen enkele test was die betrekking had op de toxiciteit voor bijenlarven.

Naar aanleiding van dat probleem werd een larventest ontwikkeld (Oomen 1992); het gaat om een tunneltest, met telling van het broed dat blootgesteld is aan kunstmatig besmet stuifmeel. Die test werd door de EPPO in haar beoordelingsschema ingevoerd (EPPO PP 3/10, 2003) en is als referentie opgenomen in de bijlagen van richtlijn 91/414/EG (en dus in die van verordening 1107/2009); het uitvoeren ervan is verplicht voor alle fytosanitaire stoffen die als groeiremmer gebruikt kunnen worden. Insegar® wordt vandaag de dag standaard als toxicum aangewend bij tests op het broed, meer bepaald in het kader van de risicobeoordeling van pesticiden op Europees niveau (zie bijvoorbeeld de vol. B9 van de DAR van sulfoxaflor, spiroadiclofen, lambda-cyhalothrine, ...).

5.5.1.5. Als zaadbehandeling toegepaste insecticiden

Een laatste geval, dat nog altijd aan de gang is, is dat van de als zaad- of bodembehandeling toegepaste insecticiden. Die insecticiden zijn neonicotinoïden of, voor één ervan, een fenylpyrazool. Ze kunnen allemaal toegepast worden als omhulling rond het zaad; de toepassing van het product gebeurt dus tijdens het

⁵⁶ De beoordeling van de mogelijke risico's van pesticiden voordat ze in de handel gebracht worden, werd weliswaar pas met richtlijn 91/414/EG verplicht gemaakt, maar er bestonden daarvoor al schema's voor de beoordeling van het risico voor bijen, meer bepaald dat van de Franse *Commission des essais biologiques* (CEB1982), een methode voor beoordeling via drempelwaarden die al de volledige logica van het huidige beoordelingsschema bevat.

zaaien; de insectendodende stof is systemisch en dringt de plant binnen tijdens de kiemvorming, wat de groei ervan beschermt. Het is niet meer nodig om insecticiden te sproeien⁵⁷. Neonicotinoïden, die zeer oplosbaar zijn in water, kunnen ook toegepast worden als injectie in boomstammen, of als bodembehandeling via druppeling of onderdompeling (Jeschke *et al.* 2010). Al die toepassingsvormen zijn plaatselijk en voorkomen verspreiding in het leefmilieu. Bovendien is de toxiciteit van die moleculen zeer selectief (o.a. Tomisawa en Casida 2005), aangezien ze veel hoger is voor geleedpotigen dan voor zoogdieren – en dus voor de mens. Met andere woorden, toen die producten op de markt kwamen, werden ze voorgesteld als bijzonder milieuvriendelijk.

Dat ogenblik viel evenwel samen met het opduiken van nieuwe problemen in de bijenstallen. Eerst stelden Franse imkers vast dat hun bijenkasten, bij bloeiende zonnebloemen, op enkele dagen tijd aangetast waren, en onmiddellijk wezen de vermoedens in de richting van Gaucho®, een product voor zaadbehandeling op basis van imidacloprid. Later verspreidden die problemen en die vermoedens zich langzamerhand over heel de wereld: er werd een abnormale hoge bijensterfte (tot 40% verloren kolonies) vastgesteld in heel West-Europa en in de meeste Oost-Europese landen (Neumann en Carreck 2010), in Noord-Amerika (Canada-VS), in China en Japan⁵⁸, in Egypte (UNEP 2010), in Uruguay⁵⁹ en in Chili, waar het verdwijnen van de bijen leidde tot de oprichting van een NGO voor de bij (<http://www.ongplanbee.com/quienes-somos.php>). Het vaakst beschreven symptoom is het verdwijnen van de bijen: ze keren niet terug naar de kast en laten voedselvoorraad en broedsel achter; in de Verenigde Staten werd een poging ondernomen om het syndroom, *Colony collapse disorder* genaamd, te beschrijven (vanEngelsdorp *et al.* 2009) zonder dat de voor gezondheid bevoegde overheden van de verschillende landen zich daarom duidelijk kunnen uitspreken over het feit of de bijensterfte in hun land al dan niet in verband staat met dat syndroom⁶⁰.

Het verband tussen die problemen en de als zaad- of bodembehandeling toegepaste insecticiden lokt heel wat controverses uit en wekt zelfs de belangstelling van sociologen (o.a. Maxim en van der Sluijs 2010; Suryanarayanan en Kleinman 2013). Op heden is de enige bijensterfte die met zekerheid gelinkt wordt aan het gebruik van als zaadbehandeling toegepaste insecticiden (daaronder verstaan wij dat er tussen de partijen overeenstemming is om dat feit te erkennen) de sterfte als gevolg van stof dat vrijkomt bij het uitzaaien van maïs, wat leidde tot de vernietiging van duizenden bijenkasten in Duitsland (2008), Italië (2008) en Slovenië (2008-

⁵⁷ We merken op dat insecticiden niet de enige klasse van pesticiden zijn die systemische stoffen bevatten. Dat geldt ook voor bepaalde fungiciden, boscalid bijvoorbeeld, die we in stuifmeel en nectar vinden (zie bijvoorbeeld Wallner 2009).

⁵⁸ Zie met name Tanigushi *et al.* 2012, een publicatie waartoe wij geen toegang konden krijgen maar waarvan het resumé terug te vinden is op het internet: <http://www.dbpia.co.kr/Journal/ArticleDetail/2163286>

⁵⁹ Bron: Mendoza Y : *Informe : Estudio de casos de mortandad de colonias de abejas donde se encontro fipronil en las colmenas*

⁶⁰ Zie bijvoorbeeld het artikel over de bijenverdwijnziekte van de faculteit diergeneeskunde van de universiteit van Chili: <http://www.veterinaria.uchile.cl/noticias/83007/la-extrana-desaparicion-de-las-abejas>.

2011)⁶¹ (Forster *et al.* 2009; Bortolotti *et al.* 2009; Girolami *et al.* 2011; Sgolastra *et al.* 2012). Maar we merken op dat het om incidenten gaat met een sterfte door acute blootstelling, waarbij het oorzakelijk verband veel makkelijker te leggen is dan wanneer de sterfte of de verzwakking van de kolonies gelinkt is aan chronische vergiftiging, die bovendien onrechtstreekse en andere effecten kan hebben. Imkers in het algemeen en een deel van de wetenschappelijke wereld blijven dus vermoeden dat die insecticiden op zijn minst gedeeltelijk in verband staan met dat syndroom.

In het kader van die controverse, of parallel daarmee, werden heel wat wetenschappelijke artikels uitgebracht over de toxiciteit van die moleculen voor bijen. Die artikels hebben betrekking op de acute en chronische, letale en subletale toxiciteit van die moleculen (reviews: Desneux *et al.* 2007; Belzunces *et al.* 2012). Daaruit blijken de effecten ervan op talrijke fysiologische en gedragsgerelateerde functies van de bij, alsook de synergetische effecten ervan met het pathogene microsporidium van de bij, *Nosema* spp. (Alaux *et al.* 2009, Vidau *et al.* 2011, Pettis *et al.* 2012, Aufauvre *et al.* 2012).

Maar het aan de kaak stellen van die insecticiden waaraan de bij blootgesteld wordt via volkomen nieuwe wegen (of via wegen die tot op heden op zijn minst weinig voorkwamen) heeft er vooral voor gezorgd dat het volledige proces van de risicobeoordeling van pesticiden voor bijen dat op heden in Europa gebruikt wordt, opnieuw aan de kaak wordt gesteld aangezien dat proces er niet in slaagt om de effecten op te sporen die verband houden met de chronische blootstelling van de bij via het verbruik van stuifmeel of nectar (Alix en Vergnet 2007; EFSA 2012); bovendien kwamen zo bepaalde functionele gebreken aan het licht in het systeem voor de invoering van de beoordelingsregels, meer bepaald een delegatie van de expertise die leidt tot belangenconflicten (CEO en EBC 2010).

5.5.2. Enkele grondbeginselen uit de toxicologie van de honingbij

5.5.2.1. Detoxificatie

De bij beschikt net als alle andere insecten over een detoxificatiesysteem bestaande uit drie grote superfamilies van enzymen die in staat zijn om xenobiotica af te breken: de cytochroom P450 monooxygenasen, de carboxylesterasen en de glutathion-S-transferasen. Die enzymen worden gecodeerd door specifieke genen, en de resistentie van insecten tegen pesticiden is meer bepaald afhankelijk van het expressieniveau van die genen (Johnson *et al.* 2006). De bij beschikt over een kleiner aantal genen met betrekking tot die superfamilies van enzymen dan de andere insecten waarvan het genoom ontcijferd werd (Claudianos *et al.* 2006), wat doet veronderstellen dat ze eigenlijk minder goed gewapend is om zich tegen contaminanten te verdedigen; die vaststelling lijkt logisch als we weten dat de bij haar voedsel, in tegenstelling tot veel tweevleugeligen, voornamelijk uit bloemen haalt, dit wil zeggen in een weinig besmet milieu⁶². Maar in de praktijk is die grotere

⁶¹ Voor Slovenië, zie bijvoorbeeld de link <http://www.rtvsllo.si/okolje/prepoved-uporabe-semen-koruze-obdelanih-z-nekaterimi-fitofarmaceutskimi-sredstvi/256443>.

⁶² Als er te weinig bloemen zijn, halen ze hun suikervoorraad ook elders, meer bepaald uit afgevallen fruit of zelfs uit industrieel afval, zoals het geval was in Ribeauvillé, waar bijen een helderblauwe honing

gevoeligheid niet voor alle stoffen aangetoond als we de letale dosis van de bij vergelijken met die van andere insecten (Hardstone en Scott 2010); want net als bij elk ander dier varieert de gevoeligheid van de bij naargelang van de aard van de contaminant (of van het mengsel van contaminanten) waarmee ze geconfronteerd wordt. We merken evenwel op dat Hardstone en Scott slechts acute LD₅₀ vergeleken hebben; rekening houdend met het feit dat bijenkolonies ook aangetast kunnen worden als gevolg van subletale effecten, menen wij de idee te kunnen verdedigen dat de bijenkolonie een bijzonder gevoelig element vormt in de waarschuwing voor milieucontaminatie.

We wijzen erop dat sommige van die superfamilies van enzymen gebruikt worden als biomarkers voor pesticidenbesmetting bij de ongewervelden in het algemeen (Hyne & Maher 2003) en bij de bij in het bijzonder (zie punt hieronder).

5.5.2.2. Subletale effecten

De subletale effecten zijn bij de bij bijzonder belangrijk omwille van het feit dat ze, zonder dat ze leiden tot de dood van het individu, toch dodelijk kunnen zijn voor de hele kolonie. Het overleven en de goede ontwikkeling van de kolonie is, zoals we gezien hebben, immers gebaseerd op fijne reguleringen waarbij gedragsgerelateerde en fysiologische mechanismen ingezet worden; de integriteit van die mechanismen is dus noodzakelijk om de goede werking van het geheel te verzekeren. Als we bijvoorbeeld het geval nemen van een contaminant dat bijen desoriënteert, zien we dat de gedesoriënteerde haalbijen niet naar de kast terugkeren en dat, bij gebrek aan het feromoon dat zij overbrengen op de werksters in de kast, een bepaald aantal onder hen op hun beurt haalbijen worden. Als de besmetting voortduurt, zal de bijenkast langzamerhand leeglopen, waarbij nieuwe cohorten haalbijen regelmatig de kast verlaten en niet meer terugkeren, tot op het ogenblik waarop er te weinig bijen in de kast overblijven om de taken te kunnen vervullen die noodzakelijk zijn voor de werking van het superorganisme, zoals het verzamelen van voedsel of de thermoregulatie van het nest. De kast valt dan uiteen en verdwijnt, zelfs al was geen enkele bij van die kolonie aan een letale dosis van de contaminant blootgesteld.

De subletale effecten van de moleculen die gebruikt worden bij fytosanitaire behandelingen of als biociden, zijn al heel lang gekend. De eerste studies betroffen een organofosforverbinding, parathion, waarvan aangetoond werd dat het de kwispeldans verstoort (Schrickler en Stephen 1970 *in* Cox en Wilson 1984). Sindsdien hebben zeer vele studies de subletale effecten van die moleculen op verschillende functies van de bij geïnventariseerd en gemeten. Er werden reviewartikels (Desneux *et al.* 2007; Belzunces *et al.* 2012) aan gewijd; we beperken ons hierna tot een opsomming van de voornaamste categorieën van subletale effecten die op heden bestudeerd zijn, samen met de families van insecticiden waarvoor dat soort effect aangetoond werd⁶³:

produceerden nadat ze hun voedsel uit het omhullingsafval van M&Ms haalden:
http://www.lemonde.fr/planete/article/2012/10/03/en-alsace-une-colonie-d-abeilles-produit-un-mysterieux-miel-bleu_1769281_3244.html.

⁶³ Wat die families van insecticiden betreft, wijzen wij erop dat er geen verband is tussen het vermogen van een familie om effecten te hebben, en het aantal studies die dergelijke effecten hebben aangetoond. De neonicotinoïden, zeer controversiële moleculen, waren vaker het onderwerp van studies

- effecten op leergedrag en geheugen: die proeven zijn gebaseerd op de reflex van het ontrollen van de proboscis. Er bestaan studies die aangetoond hebben dat organofosforverbindingen (Guez *et al.* 2010), pyrethroïden (Taylor *et al.* 1987, Decourtye *et al.* 2004), neonicotinoïden (Decourtye *et al.* 2003, Decourtye *et al.* 2004, Guez *et al.* 2001, El Hassani *et al.* 2007) en fipronil (Bernardou *et al.* 2009; ElHassani *et al.* 2009) dergelijke effecten hebben;
- effecten op reuk- en smaakzin (pyrethroïden: Taylor *et al.* 1987, Kadala *et al.* 2011; fipronil: Aliouane *et al.* 2009; neonicotinoïden: Lambin *et al.* 2001, Eiri en Nieh 2012);
- effecten op de motorische activiteit (fipronil: Aliouane *et al.* 2009, ACTA 2006; imidacloprid: Teeters *et al.* 2012, Lambin *et al.* 2001);
- effecten op het foerageren (pyrethroïden, neonicotinoïden: Ramirez-Romero *et al.* 2005; Bortolotti *et al.* 2003, Colin *et al.* 2004);
- effecten op het gedrag (fipronil: toename van de agressiviteit: Aliouane *et al.* 2009, Brunet *et al.* 2011; neonicotinoïden, effecten op het dansvermogen: Eiri en Nieh 2012);
- verlies van oriëntatievermogen (neonicotinoïden: Schneider *et al.* 2012, Henry *et al.* 2012, Han *et al.* 2010; pyrethroïden: Vandame *et al.* 1995);
- effecten op de thermoregulatie (pyrethroïden: Vandame en Belzunces 1998, Cox en Wilson 1984);
- effecten op de levensduur (neonicotinoïden, pyrethroïden: Dechaume-Montcharmout *et al.* 2003; Lu *et al.* 2012);
- aantasting van weefsels of organen (neonicotinoïden: apoptosen in de cellen van de darm: Gregorc en Ellis 2011, Kakamand *et al.* 2008; pyrethroïden: effecten op de samentrekking van de hartspier (Papaefthimiou en Theophilidis 2001).

Tot slot kunnen xenobiotica in het organisme sporen nalaten via een stijging of daarentegen een daling van het niveau van aanmaak van bepaalde enzymen. Die enzymen kunnen zo dienst doen als biomarkers voor de blootstelling van de bij, omdat de verschillende moleculen verschillende effecten hebben op de verschillende enzymen, waardoor een profiel kan worden opgesteld voor elk van de toxica. Biomarkers kunnen vele toepassingen hebben in de toxicologie van de bij: ze maken het immers mogelijk om de blootstelling van de bij aan een molecule op te sporen dat niet meer in het insect te detecteren is omdat het volledig afgebroken is; ze hebben geen hoog prijskaartje en er zijn weinig bijen voor nodig (Badiou-Bénéteau *et al.* 2012; Luc Belzunces, voordracht tijdens het congres van de FNOSAD, 12 februari 2011⁶⁴).

dan de pyrethroïden, en die staan nog voor op de organofosforverbindingen: grosso modo is er met de tijd steeds meer onderzoek gevoerd en zijn er meer studies over recentere families dan over oudere families.

⁶⁴ Die conferentie kwam aan bod in het bijentijdschrift *La Santé de l'abeille* nr. 244, juli-augustus 2011.

5.5.2.3. Toxische synergieën

In de studies hierboven wordt aandacht geschonken aan de toxische effecten van een bepaald xenobioticum. In het leefmilieu wordt de bij blootgesteld aan een cocktail van xenobiotica waarvan de gezamenlijke effecten elkaar kunnen tegenwerken (de toxische effecten van het ene verhinderen de toxische effecten van het andere), additief (de effecten van het ene komen boven op die van het andere) of synergetisch kunnen zijn (een van de twee verbindingen versterkt de andere, of de twee versterken elkaar wederzijds zodat de effecten van het mengsel veel groter zijn dan de som van de effecten van de twee afzonderlijk beschouwde verbindingen).

Hierboven haalden wij studies aan waaruit dergelijke synergetische effecten bleken voor bepaalde moleculen, met in het bijzonder het voorbeeld van de EBR-fungiciden en de pyrethroïden. Die synergieën maakten ook het voorwerp uit van heel wat toegepast onderzoek in de fytofarmacie, en verschillende patenten hebben betrekking op mengsels die het synergetische karakter van combinaties van moleculen benutten: pyrazool/azoolfungicide (Colliot *et al.* 1997); neonicotinoïde/fipronil of ethyprole (Jamet *et al.* 2011); neonicotinoïde/benalexyl-M of metalaxyl-M (Krohn *et al.* 2008), ... Sommige biociden (houtbehandelingsproducten) combineren ook een pyrethroïde en een EBR-fungicide.

Naast die studies, die uitgaan van het standpunt van het laboratorium, bestudeerden andere onderzoekers het probleem vanuit de werkelijkheid van het veld. Ze onderzochten voornamelijk de aard van de mengsels die effectief in de kasten voorkomen (welke pesticiden, wat zijn de meest voorkomende werkzame stoffen). Het aantal stoffen die effectief aanwezig zijn in was, stuifmeel of bijen, is groot: in de VS vonden Mullin *et al.* (2010) op die manier 121 verschillende stoffen (inclusief geneesmiddelen tegen varroase) in de bemonsterde bijenkasten; 60% van de was- of stuifmeelmonsters bevatte minstens een van die stoffen, met een gemiddelde van 6 verschillende stoffen voor de wasmonsters. Chauzat *et al.* (2010) vinden ook niet te verwaarlozen contaminaties in de monsters van Franse bijenkasten, waarbij de vaakst aangetroffen stof 6-chloronicotinezuur is, een metaboliet van imidacloprid, die voorkwam in 18,7% van de bijen- en stuifmeelmonsters en in 17,6% van de honing- en wasmonsters. In die laatste studie was bijvoorbeeld 69,5% van de stuifmeelmonsters besmet; 37,8% van die monsters bevatte meer dan één stof. Dergelijke contaminaties hebben natuurlijk hun effecten. Wu *et al.* (2012) toonden aan dat bijen die in gelijk besmette ramen grootgebracht zijn, gevoeliger zijn voor *Nosema*-infecties dan bijen die in gezonde ramen grootgebracht zijn. Maar er is nog veel werk aan de winkel om de potentiële letale of subletale effecten van de mengsels van xenobiotica waaraan de bij wordt blootgesteld door de diergeneeskundige en agrarische praktijken, correct af te bakenen.

Hoofdstuk 6: Vermogen van wilde bijen en huisbijen om als indicator of als bewaker te fungeren

Hier zien we in welke mate *Apis*/niet-*Apis*-bijen, wilde bijen of huisbijen, in staat zijn om als ecosysteemindicator of als bewaker te fungeren.

6.1. De bij als ecosysteemindicator

Ecosysteemindicatoren verschaffen informatie over

- de samenstelling van het ecosysteem (welke associaties van planten/dieren zijn aanwezig?) en/of
- de toestand ervan (is het ecosysteem gezond of aangetast?).

De honingbij is bij ons als wild dier zo goed als verdwenen (zie punten 1.2.1. en 5.1). Imkers geven honingbijen een habitat, diergeneeskundige verzorging (medicatie tegen varroase, verwijderen van ziektegevoelige ouderdieren, ...) en voedsel (de meeste imkers in België geven wintervoeding, sommigen gebruiken af en toe een eiwitdeeg); ze breiden de kolonies uit en voeren kruisingen uit, zo nodig via inseminatie. De aan- of afwezigheid van honingbijen, die bijvoorbeeld op een transect gemeten worden, heeft bijgevolg vanuit ecologisch oogpunt totaal geen betekenis. **De aanwezigheid van wilde of verwilderde kolonies op het grondgebied zou daarentegen beschouwd kunnen worden als een «wilde bijen»-indicator;** die aanwezigheid is immers enkel mogelijk als natuurlijke gebieden op zeer lange termijn in stand gehouden worden. Wij hebben evenwel gezien dat de aan-/afwezigheid van dergelijke kolonies de toestand van de parameters « habitat » en « middelen van bestaan » niet exact weerspiegelt aangezien een derde parameter, varroase, kan interfereren met de eerste twee en de kolonies kan vernietigen; bovendien zijn sommige verwilderde kolonies eigenlijk gehuisvest in een antropogeen milieu, bijvoorbeeld in een onderdak – maar dat geldt ook voor kolonies niet-*Apis*-bijen die dergelijke plaatsen regelmatig als habitat hebben.

Niet-*Apis*-bijen vormen een opmerkelijk geheel door

- hun specifieke rijkdom: die omvat algemene soorten maar ook soorten die nauw gebonden zijn aan een milieu, een habitat of een florasort,
- de diversiteit van hun middelen van bestaan,
- de diversiteit van hun habitats.

Dankzij die kwaliteiten komen ze in aanmerking om als uitstekende ecosysteemindicatoren te fungeren.

Bovendien zijn gewonere soorten waarvan de toxicologie en de pathologie gekend zijn (bijvoorbeeld Hommels, *Bombus spp.*), ook in staat om als bewaker te fungeren.

Het lijkt ons zeer belangrijk om de kennis die wij hebben over de wilde bijen op ons grondgebied, de diversiteit aan soorten, de middelen van bestaan en de habitats verder te ontwikkelen teneinde over een ruim palet aan gegevens te beschikken aan de hand waarvan we instrumenten voor de opvolging (van een soort, van een groep soorten) kunnen creëren die onze ecosystemen ruim kunnen bestrijken en die

informatie kunnen geven over de kwaliteit ervan. Alleen door de globale hedendaagse kennis over de bijenfauna in België uit te breiden, zal het mogelijk zijn om inzicht te krijgen in de rol van de verschillende soorten als indicator en/of bewaker in seminatuurlijke milieus, stedelijke milieus en in agro-ecosystemen.

We wijzen erop dat men voor een dergelijk werk moet kunnen rekenen op een team dat over de vereiste competenties beschikt op het vlak van de taxonomie van wilde bijen, gelet op de ervaring die nodig is om de soorten te identificeren.

6.2. De bij als bewaker

Een goede bewaker is:

- een soort die door haar habitat en haar gewoonten blootgesteld is aan de onderzochte contaminanten;
- een soort die op de contaminatie reageert door verschijnselen van pathologische aard, of die verschijnselen nu betrekking hebben op de voortplanting, de fysiologie of het gedrag van de individuen; dat antwoord moet meetbaar zijn om goed te zijn;
- een soort waarvan de populaties makkelijk te bemonsteren en te tellen zijn; de omvang en de dichtheid van die populaties moeten bovendien voldoende zijn om het tellen en het opmaken van een statistiek mogelijk te maken;
- een soort waarvan de biologie en de pathologie voldoende gekend zijn om de resultaten van de studies te kunnen interpreteren.

De honingbij voldoet opvallend goed aan die verschillende criteria.

6.2.1. Blootstelling van de honingbij aan milieucontaminanten

De bijenkolonie wordt voornamelijk door het foerageren aan milieucontaminanten blootgesteld; de ongeveer 10 000 haalbijen die een bijenkast telt, verkennen de mogelijke bronnen immers over een omvangrijke oppervlakte, afhankelijk van het foerageerbereik. Dat bedraagt doorgaans 800m-1km als er voldoende voedselbronnen zijn; het gebruikelijke maximum bedraagt 3 km en uitzonderlijk 10 km (Beekman en Ratnieks 2000); gewoonlijk wordt in studies over de bij als bio-indicator aangenomen dat bijen een oppervlakte van 7 km² bevliegen, wat een foerageerbereik van 1,5 km veronderstelt (o.a. Conti en Botré 2001, Tonelli *et al.* 1990; Abrol 2012). Blootstelling gebeurt via verschillende wegen, die hierna achtereenvolgens bestudeerd worden.

6.2.1.1. Lucht

De bij wordt aan contaminanten uit de lucht blootgesteld via de ademhaling, die bij de bij actief of passief kan zijn. Zo zou de bij radionucléïden (zie punt 7.1. hieronder) vergaren in gasvorm, via het ademhalingsstelsel en de externe membranen (Tonelli *et al.* 1990).

Niettemin deed een ander mechanisme voor vergaring nog meer inkt vloeien. Typisch voor bijen, zoals we gezien hebben, is dat ze zich uitsluitend met planten voeden, en ze beschikken over anatomische eigenschappen die instrumenten vormen om

stuifmeel te verzamelen: stuifmeelborstels, die zich doorgaans aan de binnenkant van de achterpoten bevinden, en korfjes, waarin de bijen het stuifmeel duwen. De bijen vergaren stuifmeel door zichzelf te borstelen; de borstels verzamelen de korrels die aan het lichaam vastkleven, een doeltreffend systeem aangezien het lichaamsoppervlak de stuifmeelkorrels vasthoudt en zelfs aantrekt. Daartoe is het bijenlichaam bedekt met vertakte haren, die overigens het taxonomische criterium vormen om binnen de superfamilie van de Apoidea⁶⁵ de bijen te kunnen onderscheiden van de wespen. Die haren zijn zo gevormd dat ze partikels met de afmeting van stuifmeelkorrels kunnen vangen, zo een 10 tot 100 micron groot⁶⁶. Bovendien is het lichaam van de bij (net zoals bij andere bestuivende insecten overigens) elektrostatisch geladen, waardoor verzamelde partikels - de stuifmeelkorrels - er zodanig aan vastkleven dat die elektrische krachten in staat zijn het stuifmeel van de bloem los te maken om het aan het lichaam van de bij te doen kleven (Vaknin *et al.* 2001). Die eigenschappen maken bijen tot bijzonder doeltreffende verzamelaars van besmettende partikels (Abrol 2012).

Dat mechanisme verklaart de massale contaminaties van bijenstallen in twee hiervoor aangehaalde gevallen, met name de zaak Penncap-M[®], en de contaminaties door zaaistof afkomstig van zaad dat met systemische insecticiden behandeld was. In beide gevallen verzamelden de bijen het stof samen met het stuifmeel en sloegen ze het op dezelfde manier op, waardoor later veel larven stierven doordat ze vergiftigd waren toen ze de brij kregen die de voedsters met het besmette stuifmeel gemaakt hadden. De bijen waren immers in staat om naar de bijenkast terug te keren, in het geval van Penncap-M[®] omdat ze contact hadden met het omhulsel van de microcapsule en niet met de contaminant zelf, in het geval van de neonicotinoïden omdat de toxiciteit van de contaminant, als die in contact komt met het lichaam, afhankelijk is van de vochtigheidsgraad van het milieu waarin ze evolueren tot op het ogenblik waarop ze zich kunnen reinigen, waarbij hun overlevingskans groot is bij een relatief lage vochtigheid (Marzaro *et al.* 2011; Tapparo *et al.* 2012).

Dat heeft allemaal betrekking op alle bijensoorten. De honingbij onderscheidt zich als bewaker voor luchtverontreiniging van de andere soorten door de omvang van haar populaties, waardoor het foerageergebied op een vollediger en representatiever manier bevlogen kan worden. Bovendien heeft de honingbij een groot foerageerbereik; andere bijen kunnen even ver (de Hommels (Hagen *et al.* 2011)) of zelfs nog verder (de blauwzwarte houtbij (Pasquet *et al.* 2008)) vliegen, maar het foerageerbereik van de meeste solitaire bijen is kleiner.

6.2.1.2. Nectar en stuifmeel

Een kolonie honingbijen is, door haar verzamelpotentieel, een uitstekend instrument om monsters in het leefmilieu te nemen: we kunnen grofweg aannemen dat een

⁶⁵ Zie met name het BWARS-bee-book, An introduction to bees in Britain, hoofdstuk 1, p. 6. Het boek is terug te vinden op het internet: http://www.bwars.com/sites/www.bwars.com/files/diary_downloads/Bees_in_Britain_Chapters_1_3edit_G_Allen_2.10.12.pdf.

⁶⁶ Een foto van die vertakte haren is overigens terug te vinden in de rubriek die het Amerikaanse netwerk Extension aan bijen wijdt: <http://www.extension.org/pages/21748/adult-bee-anatomy-basic-bee-biology-for-beekeepers#.UgTzluDBASo>.

kolonie dagelijks ongeveer 10 miljoen micromonsters uit het leefmilieu haalt (10 000 haalbijen voeren elk 10 vluchten uit, en ze nemen 100 monsters per vlucht), en dat binnen een bereik van een kilometer, schommelend volgens de bronnen van de plaats en van het moment (Sabatini 2005).

Als bijen nectar en stuifmeel verzamelen, worden ze blootgesteld aan de contaminanten die op het bloemenoppervlak voorkomen. Zo zorgde de besmetting via bloemen waarop een laag arsenicum van industriële oorsprong lag, in Servië voor massale sterfte in de bijenkasten (Terzić *et al.* 2000).

Ze worden ook blootgesteld aan de contaminanten die in stuifmeel en nectar aanwezig zijn. Van alle voorbeelden die we kunnen aanhalen, is hetgeen het meeste inkt doen vloeien heeft, dat van de vier systemische insecticiden die voor zaad- of bodembehandeling gebruikt worden: imidacloprid, fipronil, clothianidine en thiamethoxam. Niettemin zitten er in stuifmeel en nectar ook andere systemische fytosanitaire stoffen, die als spuitmiddel toegepast worden. Dat is meer bepaald het geval voor de systemische fungiciden, zoals boscalid, die we in de twee matrices terugvinden, of prothioconazool, dat nectar besmet (Wallner 2009). We wijzen er ook op dat veel stoffen die als niet-systemisch gelden, in de analyses van bijenmatrices gedetecteerd worden. Chauzat *et al.* (2010) vinden, in bepaalde toevallig genomen stuifmeelmonsters in 24 Franse bijenstallen, verbindingen die als niet-systemisch gelden⁶⁷, zoals deltamethrin, endosulfan of parathion. Sommige andere moleculen die niet systemisch zijn en niet in stuifmeel aanwezig zijn, zijn aangetroffen in een significant aantal wasmonsters; dat is met name het geval voor cyfluthrin, cypermetrine en mevinfos. Dezelfde vaststelling deden Mullin *et al.* (2010): zij vonden in de onderzochte bijenkasten 121 verschillende stoffen, waaronder veel fungiciden, pyrethroïden en organofosforverbindingen die als niet-systemisch gelden en toch in stuifmeel aanwezig zijn. Die aanwezigheid is te verklaren door het vermogen dat planten bezitten om bepaalde stoffen vanuit de lucht te concentreren, een vermogen dat varieert volgens de eigenschappen van de moleculen en in het bijzonder volgens hun verdelingscoëfficiënten octanol/water en octanol/lucht (Villa *et al.* 2000). Bovendien is de translocatie niet beperkt tot het xyleem; ze kan ook plaatsvinden via het floëem (zie met name Aajoud *et al.* 2008), dat lipiden kan binden en transporteren (Benning *et al.* 2012). Het is een wijdverbreid idee dat in vet oplosbare stoffen, waarvan de octanol/water-verdelingscoëfficiënt ($\log P_{ow}$) hoog is, niet systemisch zijn en dus niet in bijenmatrices kunnen voorkomen; dat idee is evenwel onjuist. De oplosbaarheid van een stof in water of in vet houdt immers maar weinig verband met het translocatievermogen ervan in de plant (Klittich *et al.* 2008).

De bij komt dus, door het foerageren, in contact met een groot aantal contaminanten die ze in de bijenkast kan opstapelen. De in dat opzicht meest representatieve matrix is doorgaans stuifmeel: stuifmeel verzamelt een groter deel van de contaminanten waaraan de bijenkast wordt blootgesteld, dan was of bijen (zie meer bepaald de tabellen in Mullin *et al.* 2010; zie ook de voordracht van Monique L'Hostis tijdens het colloquium van 6 juni 2013).

⁶⁷ Zie met name Footprint: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/fr/index.htm>.

6.2.1.3. Water

Een kolonie honingbijen heeft water nodig; Seeley (1985) raamt die nood op ongeveer 25l per jaar. Water kan door de bijen niet als voorraad worden opgeslagen. Zij moeten dus voortdurend bijregelen en beschikken daartoe over *ad-hoc* materiaal (hun antennes zijn gevoelig voor de vochtigheidsgraad van de lucht (Lacher 1964 *in* Ellis *et al.* 2008)). Die bijregeling impliceert dat er water moet binnenkomen en buitengaan, meer bepaald (Nicolson 2008):

- binnenkomend water:
 - metabolisch water dat geproduceerd wordt bij het samentrekken van de vliegsperen, hetzij door bijen in vlucht, hetzij door verwarmingsbijen. Dat metabolische water, dat wij ook via de ademhaling produceren, vormt bij ons een te verwaarlozen, maar bij de bijen een grote hoeveelheid, gelet op het uiterst hoge karakter van hun metabolisme.
 - water dat vanuit de nectar verdampt bij de aanmaak van honing. Over het algemeen bevat nectar immers 15 tot 40% suiker; in honing zit niet meer dan 20% suiker (idealiter ligt de relatieve vochtigheidsgraad van honing tussen 16,5 en 18%). De verdunde nectar wordt rechtstreeks door de voedsters geconsumeerd, voor wie het een drinkbron is; het overschot wordt opgeslagen, en het overtollige water wordt door de bijen verdampt, waartoe zij zo nodig de bijenkast goed verluchten.
- buitengaand water:
 - het produceren van de voedselbrij voor de larven – dat water wordt eigenlijk geconsumeerd door de voedsters en gaat naar de afscheidingen van de hypofaryngale klieren van de bij en naar de bereiding van de voedselbrij. De nood daaraan overdag is beperkt als er nectarpieken zijn, aangezien er met de nectar meestal voldoende water binnenkomt om de voedsters tevreden te stellen; maar de voedsters werken de hele nacht door, en 's nachts komt er geen nectar binnen. 's Ochtends heeft de kast dorst, en de waterdraagsters zijn vaak de eerste die buitenkomen, nog vóór de haalbijen.
 - de afkoeling van de kolonie als de buitentemperatuur zodanig is dat verluchten niet meer volstaat. De bijen werpen dan druppeltjes water op de ramen van het nest om hun broed af te koelen.

Wellicht biedt water de bij nog andere elementen die goed voor haar zijn; bijen houden immers minder van gedestilleerd water dan van regenwater, lichtzout water of water dat verrijkt is met organische stoffen zoals rottende bladeren, mest of gier (Butler 1940). Ze zuigen liever water op uit iets dat nat is (vochtige aarde of vochtig mos) dan dat ze aan een open wateroppervlak drinken (zo stellen imkers vast!). Bijgevolg drinken ze waar ze willen, meer bepaald in de vochtige sporen en plassen van bebouwde akkers, druppelsgewijs, aan de drinkbakken van dieren, ... en het is niet altijd eenvoudig om hen naar de drinkplaats te lokken die voor hen bestemd is.

Op bebouwde akkers en in de buurt van landbouwbedrijven en industriële gebouwen kan het water uit plassen besmet zijn met in water oplosbare contaminanten

(meststoffen, biociden, fytosanitaire producten). Er is ook een andere blootstellingsweg mogelijk, die in heel wat debatten aan bod kwam: guttatiewater. Guttatie is een verschijnsel dat onder bepaalde temperatuur- en drukomstandigheden bij planten opduikt. Het opstijgen van het ruwe sap in de plant gebeurt tegelijk door de verdamping van de plant en door de worteldruk. Als er maar weinig mogelijkheid tot verdamping is, speelt de worteldruk een beslissende rol en kan die er zelfs voor zorgen dat er waterparels aan de randen van de bladeren voorkomen (voor de beschrijving van het verschijnsel, zie met name het advies 2009-SA_0065 van het Franse AFSSA). Dat verschijnsel komt vaak voor in de lente, meer bepaald op jonge maïsplanten; het kan echter voorkomen op veel plantensoorten, op volwassen planten, en in alle seizoenen (H. Riebe pers. med., Hoffmann en Castle 2012). Girolami *et al.* (2009) stelden bijen bloot aan druppeltjes guttatievocht van planten die afkomstig waren van zaad dat met nicotinoïden behandeld was; de bijen waren op slag dood aangezien de toxische concentratie van die druppels veel hoger was dan de LD₅₀.

Sindsdien werden meerdere publicaties aan dat verschijnsel gewijd, met de bedoeling inzicht te krijgen in de omvang en de betekenis ervan op toxicologisch gebied (Shawki *et al.* 2006; Reetz *et al.* 2011; Hoffmann en Castle 2012; Tapparo *et al.* 2011). Pistorius *et al.* (2011) maakten er een samenvatting van. Daaruit blijkt dat:

- de toxische hoeveelheid die door de plant uitgescheiden wordt, inderdaad zeer hoog is en dat ze afneemt met de tijd en met de groei van de plant;
- de plant maar af en toe guttatiewater produceert en het nog minder vaak voorkomt dat bijen daarvan gaan drinken;
- maar dat in een bepaald aantal gevallen daardoor toch bijen sterven; de stoffen in kwestie zijn in de bijen aangetroffen.

De sterfte door guttatiewater is in de eerste plaats acuut en treft de waterdraagsters; tijdens elk van de dagen waarop het verschijnsel zich voordoet, zijn meerdere honderden bijen voor de bijenkast dood aangetroffen. Die sterfte komt slechts binnen een beperkte straal voor want de bijen verzamelen het water zo dicht mogelijk bij de kast – het verzamelen van water is voor hen een risicovolle activiteit want het gebeurt 's morgens vroeg en in alle weersomstandigheden. Volgens Pistorius *et al.* (2011) zou die sterfte beperkt zijn en op lange termijn geen invloed hebben op de kolonies. Met de globale impact van de toxiciteit van guttatievocht op de biodiversiteit werd bij de evaluatie van de moleculen geen rekening gehouden; dat probleem zou nochtans grondig onderzocht moeten worden.

6.2.1.4. Andere besmettingswegen

Naast de bovenstaande besmettingswegen worden haalbijen natuurlijk ook rechtstreeks blootgesteld aan de verstuiwing van fytosanitaire producten. In principe mogen de voor bijen toxische producten niet verstoven worden tijdens de bloei; bijen worden dus blootgesteld door een verkeerd gebruik of doordat producten soms terechtkomen op aangrenzende velden die in bloei staan. Die blootstelling gebeurt voornamelijk via contact; we wijzen erop dat sommige stoffen, met name pyrethroïden, toxischer zijn bij contact dan via orale weg (wetenschappelijk exacter gezegd is de LD₅₀ bij contact kleiner dan de LD₅₀ via orale weg; de chronische

toxiciteit is te weinig gekend om deze vaststelling, die gedaan is bij acute blootstelling, te kunnen veralgemenen). Met die klassieke blootstellingsweg wordt in ruime mate rekening gehouden bij de beoordeling van de milieurisico's van pesticiden, een beoordeling waarvan de grondslagen ontwikkeld werden voor spuitmiddelen⁶⁸.

Een andere blootstellingsweg wordt momenteel nog altijd niet in aanmerking genomen en blijft in ruime mate onderkend: de extraflorale uitscheidingen. Veel planten hebben extraflorale nectariën, die onder aan de bladeren of bloemhoofdjes suikerhoudende stoffen afscheiden⁶⁹. Bagnoli (1975), aangehaald door Hurd (1980), observeerde bijen op zonnebloemen en oordeelde dat 10% van die bijen geen bloemen maar extraflorale nectariën bevlogen⁷⁰. Wij konden geen enkele vorm van evaluatie terugvinden van het risico in verband met de eventuele contaminatie van die uitscheidingen.

6.2.2. Zichtbare en meetbare pathologische verschijnselen

Zoals we hebben gezien, is de bij zeer gevoelig voor pesticiden. In aanwezigheid van toxische contaminanten vertoont ze een breed gamma van symptomen. Daartoe behoren de klinische tekenen van acute intoxicatie: trillingen, stoornissen van het bewegingsapparaat, desoriëntatie, agressiviteit, abnormaal vaak poetsen, ... (talrijke studies, o.a. Visser en Blacquièrre 2010, Brunet *et al.* 2011) of het *knockdown* effect (Rieth 1986). Die stoornissen kunnen niet alleen aan de ingang van de kast maar ook op het veld tijdens het foerageren waargenomen worden; in tunnelstudies (Giffard en Mamet 2008) werd een schema voorgesteld om de omvang ervan in relatieve waarde te kunnen kwantificeren (aantal tekenen bij de "behandelde" bij in verhouding tot het aantal tekenen bij de controlebij).

De chronische, meer bepaald subletale stoornissen maakten het voorwerp uit van eerder aangehaalde studies. Die studies, en ook nog andere, bieden een brede waaier aan methoden om gedragsgerelateerde (leergedrag, navigatie, ...) of fysiologische (vruchtbaarheid, levensduur, ...) stoornissen te meten (Kievits *et al.* 2012). De studies in kwestie zijn evenwel geen monitoringstudies; ze hebben voornamelijk tot doel de effecten van één of van meerdere gegeven stoffen op een vooraf vastgelegde fysiologische of gedragsgerelateerde parameter te bepalen. De voorgestelde methoden zijn echter meer geschikt om een evaluatieschema uit te werken dan om een project rond de bij als bewaker uit te voeren, want ze zijn

⁶⁸ Het schema voor de evaluatie van het risico van pesticiden voor bijen begint in eerste instantie met de berekening van een risicocoëfficiënt op basis van de LD50 en de toepassingsdoses; die coëfficiënt, de HQ (Hazard Quotient), is zuiver empirisch en werd vastgelegd op basis van de concrete gevallen van incidenten met spuitmiddelen (SANCO 2002), met als gevolg dat het enige evaluatieschema dat voor bijen voorhanden is, enkel rekening houdt met die toepassingswijze. Die situatie, die natuurlijk nadelig is, is aan het veranderen aangezien de EFSA momenteel aan een ander evaluatieschema werkt (EFSA 2012, EFSA 2013).

⁶⁹ Zie met name het artikel van R.F. Mizell op de website van de Universiteit van Florida: <http://edis.ifas.ufl.edu/in175> (geraadpleegd op 12 augustus 2013)

⁷⁰ Een fotobibliotheek waarop de extraflorale uitscheidingen van de zonnebloem te zien zijn, is terug te vinden onder de volgende link: http://www.sunflowerusa.com/gallery/library_sub.asp?categoryID=21&subcategoryID=178#top.

gericht op een beperkt aantal waarnemingsparameters die elk verbonden zijn aan een gamma gekende doseringen van één of meerdere gegeven stoffen. De biomarkers lijken daarentegen van groot belang bij een dergelijke actie, want ze kunnen een globaal beeld geven van de gezondheid van de bij (meer bepaald de toestand van het immuunsysteem), alsook informatie over de contaminanten waaraan de bij blootgesteld is. Het gaat om zeer gevoelige parameters, die een systeem vormen voor vroegtijdige waarschuwing op het vlak van de blootstelling van de bij (Badiou-Bénéteau *et al.* 2012); aangezien elke biomarker een specifieke reactie heeft in aanwezigheid van elke contaminant, maakt het gebruik van een set biomarkers het bovendien mogelijk om typische toxicologische profielen op te stellen voor elke contaminant. Dit onderwerp staat nog in de kinderschoenen en zou nog verder ontwikkeld kunnen worden; maar het zou nu al het voorwerp kunnen uitmaken van een origineel project rond milieubewaking en rond bewaking van de bij zelf.

Tot slot zijn de pathologische verschijnselen min of meer individueel of collectief naargelang van de aard van de contaminant en naargelang van de blootstellingsweg. De haalbijen die via contact blootgesteld worden aan een toxicum van het type organofosforverbinding of carbamaat bijvoorbeeld, zullen achter in de kast een laag dode bijen vormen; worden ze blootgesteld aan pyrethroïden, dan keren ze niet naar de kast terug, en de imker zal lege hoogsels⁷¹ aantreffen als hij de kast bezoekt, wat hij beslist zal doen als hij vaststelt dat de activiteit aan de vliegopeningen in elkaar stort. De toxische contaminanten van nectar en stuifmeel veroorzaken symptomen die alle leden van de kolonie snel treffen, gezien de vele uitwisselingsstromen die daar plaatsvinden (Crailsheim 1992; DeGrandi-Hoffmann en Hagler 2000); dat hebben we gezien met de voorbeelden van Penncap-M® en het zaaistof. We merken evenwel op dat een bepaald aantal contaminaties aanleiding geeft tot een vertraagde intoxicatie; als die bovendien chronisch en subleetaal is, wordt het moeilijk om een link te leggen tussen het instorten van de kast en de contaminant (of de contaminanten) die de instorting veroorzaakt heeft (hebben); de epidemiologie zal de onderzoeker dan te hulp komen, voor zover die zich kan baseren op gegevens (bijvoorbeeld inzake gebruik van fytosanitaire producten per bedrijf of per perceel) waarvan hij het verband kan onderzoeken met de verschijnselen die in de betrokken stallen vastgesteld zijn.

6.2.3. Makkelijk te tellen populaties die voldoende groot zijn

De bij levert grote populaties individuen; de individuele parameters (biomarkers bijvoorbeeld) kunnen dus gemakkelijk gemeten worden bij een groot aantal individuen. Veel parameters hebben evenwel slechts betekenis als ze bekeken worden op het niveau van de kolonie. Hetzelfde geldt voor de pathologie: de toestand van de kolonie wordt in aanmerking genomen, en niet die van de bij; het sterven van bijen in de kolonie is een normaal verschijnsel, en elke gezonde kolonie heeft dode bijen onder aan de vliegplank⁷². In epidemiologische studies wordt dus de

⁷¹ De honingkamers of hoogsels zijn een deel van de kast, bestaande uit een behuizing en ramen die geplaatst worden op het kastelement om het te vergroten op het ogenblik dat de bijen honing verzamelen. Enkel de hoogselhoning wordt door de imker geoogst.

⁷² ... wat niet wil zeggen dat geen rekening gehouden moet worden met een symptoom dat slechts bij enkele afzonderlijke individuen opduikt; alles hangt af van de aard van het symptoom in kwestie. Zo

kolonie bekeken, en er worden statistieken gemaakt op basis van een aantal kolonies en niet op basis van een aantal individuen. België telt volgens FAOSTAT ongeveer dertigduizend bijenkolonies; via samenwerking met de bijenwereld zouden dus voldoende kolonies aangeleverd kunnen worden om dergelijke studies uit te voeren.

6.2.4. Voldoende kennis van de biologie/pathologie van de soort

De biologie, de pathologie en de toxicologie van de honingbij zijn wetenschappen in volle expansie, die al zeer uitgebreid zijn zoals we gezien hebben, en die deel uitmaken van een stevig kennisimperium. Die wetenschappen vormen een basis die het mogelijk maakt om zowel de parameters te selecteren als om de eruit voortvloeiende maatregelen te interpreteren in het kader van een project rond de bij als « bewaker ».

Toch moeten veel gebieden nog verkend worden: zo zou het bijvoorbeeld interessant zijn om de invloed te bestuderen die de xenobiotica waaraan winterbijen vanaf de herfst worden blootgesteld, op hun fysiologie zouden kunnen hebben (biomarkers: lipofuscine, vitellogenine (zie Münch *et al.* 2013)), aangezien de sterfte onder honingbijen in België vooral in de winter voorkomt en een tabel oplevert waaruit een levensduurtekort blijkt voor de individuen die deel uitmaken van de wintertros.

6.2.5. Conclusie: de honingbij als bewaker

De honingbij beantwoordt dus zeer goed aan alle voorwaarden die vereist zijn om een bewakerssoort te vormen (blootstelling, pathologische verschijnselen, gemakkelijke bemonstering, soort die wetenschappelijk voldoende gekend is).

De fysiologie van een insect verschilt weliswaar van die van een gewerveld dier, maar heel wat fundamentele biochemische mechanismen (enzymssystemen van de energieproductie, neurotransmissiesystemen enz.) zijn grotendeels vergelijkbaar; en ook al is de toxiciteit van veel insecticiden selectief, en duidelijk geringer voor de gewervelden dan voor de geleedpotigen (o.a. Iwasa *et al.* 2004), toch kan die hogere gevoeligheid van het insect hem tot een systeem van vroegtijdige waarschuwing maken ten aanzien van toxica waarvan de negatieve uitwerkingen bij de mens soms pas op zeer lange termijn duidelijk worden.

De bijenkolonie wordt blootgesteld aan bijna alle soorten omgevingen die in het milieu besmet kunnen zijn (lucht, water, planten, en via de planten bepaalde bodemeigenschappen); ze neemt monsters van de drie media waarlangs de contaminanten vervoerd kunnen worden (vaste stoffen, vloeistoffen en gassen), en in het bijzonder is ze een ongeëvenaarde verzamelaar van particuliere contaminanten uit de lucht. Haar haalbijen bevliegen grote gebieden, bezoeken voor de mens moeilijk toegankelijke plaatsen en keren vervolgens naar een vast punt terug – de bijenkast. Dat alles maakt de bijenkolonie tot een uitzonderlijk instrument om informatie te verzamelen.

volstaan bijvoorbeeld twee of drie mummies van kalkbroed om duidelijk te maken dat *Ascospheara apis* in de kolonie ontwaakt is ...

Bovendien kunnen de verschillende bijenmatrices die bemonsterd kunnen worden – bijen, honing, stuifmeel, was, propolis – bijna alle verbindingen, zowel de hydrofiele als de lipofiele, vasthouden of opstapelen aangezien sommige van die matrices een waterbasis hebben terwijl andere geheel of gedeeltelijk lipiden zijn; aangezien de raten beschermd zijn tegen licht, is fotolyse er zeer beperkt, waardoor de organische contaminanten, waarvan vele lichtgevoelig zijn en na een paar uren of dagen in de openlucht vernietigd worden, goed bewaard worden. De bijenkast is dus een uitstekend instrument voor bemonstering.

Een gewone, maar regelmatige bewaking van de kolonies brengt heel wat milieuproblemen aan het licht, waarbij de bijen zelf een detectie-instrument vormen dat via twee wegen werkt, ofwel door stoornissen te tonen (sterfte, gedragsstoornissen), ofwel via de residuen afkomstig van een regelmatige analyse van bijenmatrices. Wij hebben overigens gezien dat de bij, buiten alle onderzoeksprojecten zelf, meermaals aangetoond heeft dat ze als bewaker kan fungeren, en dit ten koste van haarzelf: duizenden kolonies gingen op heden verloren omwille van vervuiling, voor een deel industriële vervuiling en vooral fyto-sanitaire vervuiling. Die problemen hebben de bijensector weliswaar zwaar getroffen, maar zorgden er ook voor dat er wetenschappelijk onderzoek op gang kwam op gebieden die tot dan toe ongekend waren; bovendien bewerkstelligden ze dat men op brede schaal begon na te denken over de risicobeoordeling van pesticiden, met resultaten waarvan het belang veel verder gaat dan enkel en alleen de honingbij.

Bovendien vormt het netwerk van imkers op het grondgebied een reeds bestaand potentieel bemonsteringsnetwerk. Die imkers bewaken hun kolonies voortdurend, wat een groot voordeel is aangezien elk probleem, elke abnormale situatie, elke opvallende gebeurtenis onmiddellijk gemeld kan worden aan het onderzoeksorgaan dat belast is met het bewakingsproject.

In die omstandigheden is het niet verwonderlijk dat kolonies honingbijen al zeer vroeg gebruikt werden voor milieumonitoring.

Tot slot is de bij ook een « symboolsoort » zoals hierboven is vastgelegd (zie punt 3.1.1.). Sinds de vroegste oudheid staat ze centraal in mythes⁷³; en het verdwijnen van de bij voedt ook een verschijnsel van mythische aard, waarbij verhalen van de werkelijkheid loskomen maar op ruime schaal uitgedragen worden want ze vertolken een krachtig collectief gevoel. Een goed voorbeeld daarvan is een zin die wordt toegeschreven aan Einstein en die zich op het internet als een vuurtje verspreidde: « Als de bij zou verdwijnen, heeft de mens maar vier jaar meer te leven ». Die zin werd waarschijnlijk nooit uitgesproken door Einstein⁷⁴; maar gezien de snelheid waarmee hij zich sinds het opduiken ervan (blijkbaar in een perscommuniqué van een imkervereniging) verspreidde, hebben veel medeburgers het gevoel dat de mens in zijn relatie met de natuur een grens overschreden heeft en dat hij voorbij die grens

⁷³ Over de mythe van Aristaios, zie het opmerkelijke essay van JP Albert in het tijdschrift *Persée*: « Vierges nées d'un taureau mort » ; en over de voortzetting ervan in het christelijke Westen, zie het boek van Gilles Tétart « Le sang des fleurs », Odile Jacob éd. Het essay van JP Albert is terug te vinden op het internet: http://www.persee.fr/web/revues/home/prescript/article/metis_1105-2201_1992_num_7_1_978.

⁷⁴ Zie daarover de toelichting van Snopes: <http://www.snopes.com/quotes/einstein/bees.asp>.

zichzelf in gevaar brengt; en dat de bijensterfte, ongeacht de oorzaak ervan, het signaal is dat de grens overschreden is. Het gevoel dat de bij die rol van bewaker vervult, is zoals we gezien hebben, gegrond. Dat het brede publiek de meeste redenen daarvoor niet kent, verandert niks aan het feit dat de essentie perfect aangevoeld werd. Werken rond bijen is dus niet uitsluitend het domein van een kring van geleerden of een elite van technici: de weerklank ervan bij het publiek kan er een uitstekend instrument van maken om onze medeburgers, ongeacht hun leeftijd, bewust te maken van de werking van de levende systemen en van het belang van de natuurlijke evenwichten.

Hoofdstuk 7: De bij als bewaker: uitgevoerde of bestaande projecten

De bij werd meermaals als bewaker ingezet, voor diverse contaminaties: radioactiviteit, zware metalen, koolwaterstoffen, landbouwpesticiden. Er werden heel wat studies op dat gebied uitgevoerd. Die zijn niet allemaal toegankelijk, omdat ze van vóór het digitale tijdperk dateren (veel studies zijn in de jaren '70 of '80 gemaakt) en omdat sommige ervan nooit in het Engels vertaald zijn en enkel voorhanden zijn in talen die voor ons niet onmiddellijk toegankelijk zijn. Celli en Maccagnani (2003), en Balayannis en Balayannis (2008) halen er een aantal aan; andere kennen we via recentere artikels. Wat hieronder aan bod komt, is dus niet exhaustief, maar vormt een representatieve steekproef van hetgeen in de literatuur te vinden is over elk van de aangehaalde punten.

7.1. Detectie van radioactiviteit

7.1.1. Rond Amerikaanse nucleaire sites

Bijenkolonies werden vanaf de jaren '70 in de Verenigde Staten ingezet om in de omgeving van nucleaire sites zoals die van Los Alamos en White Rock/Parajito Acres (New Mexico) of Hanford (Washington)⁷⁵ radioactiviteit te detecteren en om de biologische beschikbaarheid van radioactieve elementen in te schatten. De geanalyseerde matrices zijn de bijen zelf en (of) de honing; de onderzochte elementen zijn tritium, cesium-137, plutonium en andere radionucleïden.

Daartoe werden de bijenkolonies langs of op de site geïnstalleerd; in Los Alamos werden de kolonies dicht bij containers met vloeibaar afval geplaatst. De bijenkasten zijn na een zekere blootstellingstijd bemonsterd, en er zijn bijen- en honingmonsters genomen en ingevroren en vervolgens naar het labo gestuurd voor onderzoek. Parallel daarmee zijn oppervlaktewater- en plantenmonsters genomen om de radioactiviteitswaarden die men daarin vindt, te vergelijken met de waarden die in de bijen gevonden zijn. In Los Alamos werd een dergelijk bewakingsnetwerk met « bijen» gedurende 17 jaar gebruikt, tussen 1979 en 1995 (Fresquez *et al.* 1997).

Uit die studies blijkt dat bijen heel geschikt zijn om te controleren op radioactiviteit. Zo komen de concentraties tritium die men erin aantreft, overeen met die van het oppervlaktewater; tijdens het foerageerseizoen evolueren die concentraties en komen ze in de buurt van die van de planten. De concentraties cesium-137 zijn dezelfde als die van de planten op de site. Op grond van die studies besluiten de auteurs dat bijen die aan radioactiviteit worden blootgesteld, voor de verschillende gemeten radioactieve elementen concentraties hebben die representatief zijn voor

⁷⁵ De sites van Los Alamos en Hanford zijn een van de eerste en grootste nucleaire centra in de VS; ze werden opgericht tijdens de tweede wereldoorlog en speelden allebei een vooraanstaande rol bij de productie van kernwapens (zie Wikipedia: http://nl.wikipedia.org/wiki/Los_Alamos_National_Laboratory en http://nl.wikipedia.org/wiki/Hanford_Site).

de milieuconcentraties, meer bepaald die van water, lucht en planten; bijen kunnen dus gebruikt worden om toe te zien op radioactiviteit, bijvoorbeeld om de betrouwbaarheid van monitoringstudies die via andere middelen uitgevoerd zijn, te bevestigen (Simmons *et al.* 1990).

7.1.2. Na het ongeval in Tsjernobyl

Na het ongeval in Tsjernobyl werd een project voor de monitoring van milieucontaminatie uitgevoerd door onderzoekers van de universiteiten van Bologna en Modena (Tonelli *et al.* 1990). Daartoe werden stuifmeel-, honing- en bijenmonsters van bijenstallen uit verschillende streken in Italië (Piëmont, Lombardije, Venetië, Friuli, Emilia-Romagna en Lazio) genomen en onderzocht. Uit de honingmonsters blijkt duidelijk de besmetting, meer bepaald met jodium; die besmetting, die het hoogst is na het ongeval (in mei 1986, ter herinnering), neemt gauw af en verdwijnt in juni van datzelfde jaar. De contaminatie van de honing schommelt echter naargelang van parameters zoals de periode waarin de honing verzameld is en de verstreken tijd tussen twee verzamelingen in, en de botanische oorsprong van de honing aangezien niet alle planten de radioactieve elementen op dezelfde manier vasthouden; om die redenen is honing niet de meest geschikte matrix. Toch zorgt de analyse ervan voor interessante waarnemingen: bepaalde aangetroffen waarden ($^{103}\text{Ru}/^{137}\text{Cs}$) zijn bijvoorbeeld een nauwkeurige weergave van de waarden die waargenomen zijn voor de contaminatie van de lucht, terwijl de verhouding $^{131}\text{I}/^{137}\text{Cs}$ duidelijk hoger is dan die van lucht of planten, wat erop wijst dat er een concentratieproces is op het niveau van de nectar.

De in stuifmeel waargenomen concentraties zijn een nauwkeurige weergave van de waarden die waargenomen zijn in de lucht. In tegenstelling tot honing lijkt stuifmeel een uitstekende matrix voor dat soort studies, wat toe te schrijven zou zijn aan de grote blootstellingsoppervlakte die korrels bieden, die overigens voortdurend in contact staan met het milieu, of het nu op de bloem is of tijdens het transport. Stuifmeel is bovendien aan de val makkelijk te verzamelen, en het verzamelen ervan kan exact gedateerd worden. Wat de bijen betreft, zijn de hoeveelheden ^{137}Cs die erin werden vastgesteld, een nauwkeurige weergave van de besmetting van de bodem. Nog volgens die studie zou ook was onderzocht kunnen worden. De studie kon aan het licht brengen dat op een van de sites een andere radioactieve besmetting boven op die van Tsjernobyl aanwezig was.

7.2. Detectie van metalen

De bij wordt al decennia lang gebruikt voor de monitoring van metalen. Er werden daarover studies uitgevoerd sinds de jaren '80, tot op heden, meer bepaald in de VS, Mexico (Reyes Carillo en Gallardo 2008), Iran (Sadeghi *et al.* 2012), Spanje (Rodriguez García 2006), Italië (Conti en Botrè 2001), het Verenigd Koninkrijk (Jones 1997), Nederland (Van der Steen *et al.* 2012), Polen (o.a. Madras-Majewska en Jasinski 2003 en 2005; Roman 2010), Tsjecho-Slowakije (Veleminsky *et al.* 1990), Finland (Fakhimzadeh en Lodenius 2000) en in ons land, in Brussel – die laatste studie behandelen wij iets uitvoeriger aangezien die betrekking heeft op ons grondgebied. Sommige ervan stonden niet te onzer beschikking omdat ze oud zijn,

niet op het internet staan of niet in het Engels vertaald zijn; de belangrijkste resultaten ervan zijn in recentere studies samengevat.

In de meeste studies wordt de bij gebruikt voor de monitoring van milieubesmettingen. Een ervan ziet evenwel een andere mogelijkheid, namelijk om de bij en haar honing te gebruiken als instrumenten voor mijnprospectie. Die Engelse studie (Jones 1997), die tot doel had die mogelijkheid te onderzoeken voor een reeks metalen (Ag, Cu, Cd, Pb), komt echter niet tot de conclusie dat de bij nuttig is voor dat soort onderzoek. Zo blijkt immers dat honing een slecht beeld geeft van de contaminaties – de honing is eigenlijk onderbesmet, met name in vergelijking met de bijen. Wat de bijen betreft, zijn de schommelingen in de concentraties die men erin aantreft naargelang van de verschillende sites, geen weergave van de bestaande schommelingen op het niveau van de bodemconcentraties; ze zijn daartoe dus weinig geschikt en vormen volgens de auteurs een betere indicator voor besmettingen in de lucht.

7.2.1. Milieumonitoring

De bestaande studies op het vlak van milieucontaminatie bevestigen dat feit. In die studies is getest of het interessant is om de bij en haar producten te gebruiken voor de monitoring van metalen – meestal zware metalen, maar soms ook andere metalen elementen (Van der Steen *et al.* 2012, Sadeghi *et al.* 2012). Het soort onderzochte omgeving verschilt naargelang van de studies; het kan gaan om stedelijke (Conti en Botrè 2001, Røevros *et al.* 2004; Roman 2010) of industriële omgevingen (Höffel 1985 *in* Roman 2010; Reyes Carillo en Gallardo 2008), of om bermen langs hoofdverkeerswegen (Leita *et al.* 1996, Pratt en Sikorski 1985 *in* Madras-Majewka en Jasinski 2003), waarbij ter controle meestal nog een bemonstering in een agrarische omgeving of bosomgeving komt. Sommige studies hebben betrekking op een volledig nationaal grondgebied (Madras-Majewska en Jasinski 2003 bijvoorbeeld). De gebruikte matrices zijn (altijd) bijen, die over het algemeen aan de vliegopening bemonsterd en dan ingevroren worden; Leita *et al.* 1996 gebruikten de dode bijen die buiten de kast gebracht zijn. Daarbij komen nog, volgens de studie, honing en stuifmeel, alsook was en propolis in de studie van Conti en Botrè (2001); één studie neemt ook de besmetting van het broed in aanmerking (Madras-Majewska en Jasinski 2003).

Hoewel sommige auteurs van mening zijn dat honing geschikt is voor milieumonitoring, meer bepaald van metalen (Rodríguez García *et al.* 2006), blijkt uit verschillende studies dat die matrix verre van de beste is. Die metalen stapelen zich daarin immers niet op, en de honing lijkt minder besmet dan de bijen (Conti en Botrè 2001, Madras-Majewka 2003, Sadeghi *et al.* 2012, ...), wat erop wijst dat het proces waaruit de honing ontstaat, een zeker filtereffect ondergaat (Fakhimzadeh en Lodenius 2000); de gehaltes van de elementen in de honing en de bijen zijn eigenlijk zelfs niet met elkaar gecorreleerd (Roman 2010). Het bijenbroed lijkt zelf ook weinig besmet in de studie van Madras-Majewska en Jasinski (2003), maar die studie heeft enkel betrekking op lood. De bij zelf daarentegen is een zeer goede matrix; de concentraties die daarin aangetroffen zijn, variëren volgens de site en geven de concentraties weer die er typisch voor zijn – zie bijvoorbeeld de correlatie tussen de vermindering van de in de bijen gemeten vervuiling en de afstand ten opzichte van

de industriegebieden in de Mexicaanse studie (Reyes Carillo en Gallardo 2008). Stufmeel, was en propolis zijn ook geschikt voor dit soort monitoring (Conti en Botrè 2001). De concentratie in de bijen varieert volgens het seizoen, waarbij sommige elementen geconcentreerder zijn in de lente en andere in de herfst (Roman 2010). De metalen concentreren zich vooral aan het oppervlak van het insect, waarschijnlijk omdat de haren van de bij particuliere contaminanten kunnen vasthouden (Leita *et al.* 1996, die drie elementen onderzoeken: Pb, Cd, Zn). Bijen zijn, zoals we weten, een vergankelijk medium want in de kast volgen de generaties elkaar tijdens het seizoen zeer snel op. Matrices als was en propolis, die meerdere jaren achtereen in de kast blijven, zijn in staat om de elementen die er in de loop der tijd in oplossen, op te stapelen; de matrix die in de studie van Madras-Majewka en Jasinski (2003) meest besmet was met lood, was propolis.

Twee studies wijzen op de mogelijkheid van een besmetting van de monsters door de metalen onderdelen van de bijenkasten (Van der Steen *et al.* 2012 en Conti en Botrè 2001). In de tweede studie werden de bijenkasten speciaal gebouwd voor de uitvoering van de studie, waarbij geen gebruik werd gemaakt van metalen onderdelen die dat soort probleem zouden kunnen veroorzaken.

Er zijn wellicht andere soortgelijke studies die nooit gepubliceerd zijn. Op zijn minst één maakte recentelijk het voorwerp uit van artikels in de Spaanse kranten: in Tapa de Casariego (Asturië) werden bijen gebruikt om te verzekeren dat de site die het bedrijf Astur Gold wou gebruiken om een goudmijn opnieuw te openen, niet met metalen besmet was. Het project kwam tot stand in samenwerking met FAPAS (Fondo para la Protección des los Animales Salvajes). De projectontwikkelaars benadrukken het feit dat een dergelijke methode niet alleen betrouwbaar maar ook goedkoop is: de totaalprijs ervan bedroeg ongeveer 300€, voor de analyse van 25 metalen (bronnen: *Abejas para detectar metal*, artikel van El País, 22 augustus 2013; *Abejas «detectives» en Salave*, la Nueva España, 26 augustus 2013). Dat project komt ook aan bod in een filmpje op Youtube⁷⁶).

7.2.2. Een bijzonder geval: het project in Brussel

In 2003-2004 voerde de *Université libre de Bruxelles*, in samenwerking met de *Société royale d'apiculture de Bruxelles et ses environs* (SRABE)⁷⁷ een voorbereidende haalbaarheidsstudie uit over de relevantie van het gebruik van de bij als bio-indicator voor de vervuiling in Brussel (« *Etude préliminaire et de faisabilité sur la pertinence de l'utilisation de l'abeille comme bio-indicateur de la pollution à Bruxelles* ») (Roelvros *et al.* 2004); die studie, in opdracht van het BIM (Brussels Instituut voor Milieubeheer), spitte zich toe op één enkel element: lood. De resultaten van analyses op bijen werden vergeleken met de waarden van de sensoren van het netwerk voor de bewaking van de luchtkwaliteit van het BIM. Gekozen matrices waren honing en bijen. De studie liep van half juni tot eind juli. In de bijen dalen de loodgehaltes sterk in de loop van de tweede helft van juni, en is er een trend tot stabilisatie op een laag niveau in juli, maar gedurende de tweede helft van juli stijgt het loodgehalte weer in bepaalde groepen bijen. In de honing zijn de

⁷⁶ <http://www.youtube.com/watch?v=uj-FHwtKwyc>

⁷⁷ De SRABE heeft een website: <http://www.api-bxl.be/>.

resultaten veel uiteenlopend, en de auteurs merken op: *Het lijkt in de literatuur vast te staan dat bijen doeltreffende decontaminatiesystemen hebben waarmee ze in ruime mate kunnen verhinderen dat de honing die ze produceren, besmet wordt. Die systemen zorgen ervoor dat de loodgehaltes die in (of op) de bijen en in de honing gemeten zijn, tot op een zeker punt losgekoppeld worden.* Hier zien we dus weer de hierboven vermelde vaststelling. De Brusselse studie is niet ruim genoeg om definitieve conclusies te kunnen trekken. Ze werd uitgevoerd in een tijd waarin loodhoudende benzine niet meer gebruikt werd, maar de gehalten in de bijen lijken de intensiteit van het wegverkeer te volgen. De auteurs merken op: *mocht blijken dat de residuele luchtvervuiling door lood nog altijd te wijten is aan benzine, dan moet de bij beschouwd worden als een uitermate gevoelige bio-indicator voor de blootstelling aan lood.*

7.3. Detectie van pesticiden

De besmetting van bijenmatrices, inclusief honing, door fyto-sanitaire stoffen is een zorgwekkende realiteit, niet alleen voor de gezondheid van de bij maar zelfs ook voor de gezondheid van de mens (Al Waili *et al.* 2012). Met de komst van de als zaad- en bodembehandeling toegepaste fyto-sanitaire stoffen werd heel wat onderzoek gedaan naar de besmetting van die matrices⁷⁸; maar uit studies blijkt ook de aanwezigheid van stoffen die men minder verwacht had, omdat ze als niet-systemisch gelden of omdat de bij er niet aan blootgesteld kan worden, zoals wij hieronder zullen zien.

Eerder haalden wij enkele studies aan (zie punt 5.5.2.3.), die bestaan uit volledige multiresiduanalyses van bijenmatrices, waaruit blijkt dat die ruim besmet zijn door die stoffen, ongeacht hun aard (herbicide, fungicide, insecticide) (Chauzat *et al.* 2010, Mullin *et al.* 2010, Wu *et al.* 2012). In een reviewartikel geven Karazafiris *et al.* (2011) een zeer volledig overzicht van het probleem van de besmetting van honing, ook door imkerpraktijken (medicatie tegen varroase, gebruik van antibiotica).

Meer specifiek in de zin die ons hier aanbelangt, werden verschillende studies uitgevoerd die dat soort maatregelen in verband brengen met de toestand van het agrarische milieu, meer bepaald in Italië en in Griekenland.

De Griekse studie (Balayannis en Balayannis 2008) is vertrokken vanuit de verzameling van toevallig genomen monsters in de bestaande bijenstallen van 6 regio's van het land, gaande van het zuiden voor de citruscultuur, over het centrum voor katoen, naar het noorden voor zonnebloemen. Het onderzoek spitste zich toe op de insecticidemoleculen die bij die teelten gebruikt worden. Cumafos werd in het onderzoek opgenomen want het wordt door imkers gebruikt voor de behandeling van varroase. De enige onderzochte matrix is honing (50 monsters). Van de om en bij de tien onderzochte moleculen werden er slechts drie in de honing gedetecteerd: chloorfenvinfos, chloorpyrifos en foraat. De aanwezigheid van chloorfenvinfos is verrassend want dat pesticide is niet toegestaan op citrusvruchten, maar wordt vaak

⁷⁸ Zie met name het hoofdstuk over fipronil, punt 4, en imidacloprid, punt 3, van het hiervoor aangehaalde rapport « Biocides et abeilles »

(<http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@mixednews/documents/ie2form/19081892.pdf>).

aangetroffen, ook in monsters van Argolis; conclusie van de studie is een verkeerd gebruik in de landbouw.

In Italië zijn de studies veel ruimer; ze gingen van start in de jaren '80 en breidden zich uit tot algemenere bewakingsprojecten die hieronder aan bod zullen komen. Ghini *et al.* (2004) onderzochten 32 organofosforverbindingen en 5 carbamaten in bijen. Die bleken ruim besmet, met 58% positieve monsters voor malathion, 53% voor fenitrothion en 48% voor pirimifos-methyl. Sommige van die contaminaties hielden verband met stoornissen van de bijen; dat is meer bepaald het geval voor malathion (dubbel zo grote bijensterfte als gemiddeld na behandeling van de aangrenzende velden). Pirimifos-ethyl besmette 35% van de bijen: een verrassend resultaat als we weten dat de bij in principe niet wordt blootgesteld aan dat pesticide dat gebruikt wordt tegen bodeminsecten.

Die twee studies zijn maar twee voorbeelden, wellicht zijn er nog andere te vinden. Ze volstaan om ons te doen begrijpen dat dit soort onderzoek veel informatie oplevert, en ook enkele verrassingen want er worden stoffen aangetroffen die men niet verwacht had, ofwel omdat de producten verkeerd gebruikt zijn (in de landbouw of in de bijenteelt), ofwel omdat de modellen voor de wording van de stoffen in het milieu de werkelijkheid niet volledig in aanmerking nemen. Wat Ghini *et al.* (2004) ontdekken voor pirimifos-ethyl, geldt bijvoorbeeld ook voor fipronil: die molecule wordt enkel in het donker toegepast (als biocide ter bestrijding van termieten, mieren en kakkerlakken, of als fyto-sanitair product voor bodem- of zaadbehandeling). Bijgevolg wordt zijn fotometaboliet niet verwacht. In bepaalde studies die uitgevoerd zijn in het kader van de DAR, is hij toch aanwezig, maar in geringe hoeveelheid zodat hij niet opgenomen is in de definitie van de residuen (EFSA 2006: Final addendum to the Draft Assessment Report, active substance fipronil, p. 244). Die metaboliet, fipronil desulfynil, is nochtans wel aanwezig in het milieu, meer bepaald in stuifmeel (Chauzat *et al.* 2006) en zeeorganismen (IFREMER 2007). Ook in Italië zorgden andere monitorings rond « pesticiden » voor verrassingen, zoals de ontdekking van al lang verboden moleculen, lindaan, endosulfan of parathion (Porrini 1993 *in* Celli en Mccagniani 2003).

7.4. Algemene projecten rond de bij als bewaker

De woorden « bij als bewaker » (*abeille sentinelle* in het Frans) zorgen soms voor verwarring.

Een groot project met de naam « L'abeille sentinelle de l'environnement » is eigenlijk een project om het publiek te sensibiliseren voor die rol van de honingbij (website: <http://www.abeillesentinelle.net/>). Het werd gelanceerd door de Franse imkervereniging *Union nationale de l'apiculture française* (die aan de basis van de benaming *sentinelle* ligt) en heeft tot doel overheden en privébedrijven ertoe aan te zetten om op hun eigendom een bijenstal te plaatsen en toe te treden tot een handvest waarmee de partner zich er onder meer toe verbindt om de acties van de vereniging te ondersteunen. « L'abeille sentinelle » organiseert ook de API days, nationale bijendagen die plaatsvinden in juni en die gezinnen heel wat animatie bezorgen rond de bij en de bijenkast.

In Australië waakt het « National Sentinel Hive Program » over de gezondheid van de bij en voornamelijk over de exotische parasieten die de bij vernietigen: *Varroa* spp., *Tropilaelaps* spp., Aziatische hoornaar en acariose (mijtziekte).

Dat is natuurlijk niet het soort projecten dat ons hier aanbelangt, en wij zullen ons toespitsen op de breed opgezette projecten voor monitoring van de bij, niet alleen op het vlak van haar gezondheid, maar ook op het vlak van milieucontaminaties waarover de bij waakt; en, via de bij, voor monitoring van het milieu waarin ze evolueert.

7.4.1. Italiaanse projecten

Veel Italiaanse wetenschappers investeerden decennia lang in monitoringprojecten rond de bij; een uitzonderlijke situatie die meer bepaald te danken is aan de invloed van prof. Giorgio Celli van de Universiteit van Bologna⁷⁹, en aan verschillende grote figuren uit zijn team.

Die projecten gingen in de jaren '70 van start, meer bepaald met het project rond organochloorverbindingen waarvan hiervoor sprake was (zie punt 5.5.1.1.). Van 1983 tot 1986 werd in het noorden van Italië een uitgebreid netwerk met meerdere honderden bijenkasten opgezet. De werking ervan was simpel: per station werden twee bijenkasten geselecteerd; die werden allebei uitgerust met vallen waarin de dode bijen werden opgevangen, en zodra de sterfte een vastgelegde grens overschreed, werden monsters geanalyseerd. Met dat systeem konden in 76% van de gevallen de stoffen geïdentificeerd worden die de sterfte veroorzaakt hadden; het ging altijd om fytosanitaire producten, waaronder insecticiden – dimethoat, parathion, ... - maar ook fungiciden, meer bepaald de dithiocarbamaten⁸⁰, stoffen waarvan de neurale, immunosuppressieve en kankerverwekkende effecten voor de gezondheid van de mens vastgesteld zijn (Rath *et al.* 2011). In 1987 en 1988 vond een extensieve monitoring plaats in de provincie Ferrara (Celli en Maccagniani 2003).

In 1986 werd na het ongeval van Tsjernobyl in de monitoring ook de meting van de radioactiviteit opgenomen, zoals hierboven onder punt 7.1. is aangegeven (één monsterneming per week). Later werden ook de zware metalen in het project opgenomen. Terwijl pesticiden enkel onderzocht werden in geval van verdachte sterfte, gebeurden de analyses van zware metalen (bemonstering van haalbijen en honing om de twee weken) en van radioactiviteit (wekelijkse bemonstering) op systematische wijze (Porrini *et al.* 2003).

Het project ApeNet (ApeNet 2009; ApeNet 2011) vloeit voort uit een decreet van 2008, waarin het de taak krijgt om licht te werpen op de oorzaken van de hogere bijensterfte in Italië. Het heeft dus een ander onderwerp dan de voorgaande werken, maar toch vormt het op wetenschappelijk vlak een voortzetting ervan. Het project werd in 2009 opgestart en is gebaseerd op een netwerk van stations die in principe

⁷⁹ De intellectuele invloed van G. Celli (1935-2011) beperkte zich niet tot de entomologie en de ethologie; Celli was ook een man van literatuur en film. Zie het artikel over hem in de Italiaanse versie van Wikipedia: http://it.wikipedia.org/wiki/Giorgio_Celli of het *in memoriam* dat Stefano Maini aan hem gewijd heeft: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol64-2011-279-287memcelli-maini.pdf>.

⁸⁰ Tot die familie behoren zineb, maneb, mancozeb, ...

alle regio's van Italië moeten bestrijken. In 2011 telde het 930 kolonies, verdeeld over 19 modules van 4 of 5 bijenstallen (10 kolonies per bijenstal). Elk jaar vonden vier routineonderzoeken plaats; die bestaan uit een bezoek van de kolonies teneinde de toestand ervan vast te stellen op het vlak van gezondheid, voeding, ontwikkeling (aantal bijen en omvang van het broed) en situatie ten aanzien van de koningin (aanwezigheid, afwezigheid van een koningin/van koninginnencellen); ook wordt gekeken naar de weersomstandigheden op het ogenblik van het bezoek, de omgeving (soorten planten, teelten) en de toestand van die omgeving. De monsteranalyses hebben betrekking op de residuen van pesticiden (alle matrices) en de identificatie van stuifmeel en eventuele ziekteverwekkers (bijen: *Nosema* spp. en virussen; broed: Amerikaans vuilbroed). Naast die gewone analyses werd een alarmsysteem op poten gezet: een interventieteam gaat ter plaatse zodra een imker een probleem meldt. Dat team heeft in 2009 twee keer ingegrepen bij incidenten door maïszaad dat omhuld was met neonicotinoïden. Later registreerde het geen soortgelijke incidenten meer, maar greep het meerdere keren buiten maïsgebieden in (7 incidenten in 2009, 21 in 2010 en 16 in 2011).

Die monitoring leverde interessante resultaten op: zo bleek de enzoötische aanwezigheid van *Nosema ceranae* in Italië, kon er een geografische spreiding van de virussen opgesteld worden, werd er een statistiek van de wintersterfte opgemaakt en kon over het algemeen een betere kennis van de bijensector in Italië opgebouwd worden.

Bovendien deed het project ApeNet uitgebreid onderzoek naar de effecten van het stof afkomstig van het inzaaien van zaden die met insecticiden omhuld zijn (wat dat betreft, herinneren we eraan dat Italië in 2008 het decor was van grote incidenten naar aanleiding van het inzaaien van maïs in de Powlakte). Dat onderzoek omvat proeven met zaadomhulsels van verschillende kwaliteiten en zaaimachines die al dan niet uitgerust zijn met deflectoren: langs het proefveld worden petrischalen gezet om het stof op te vangen, en de inhoud ervan (hoeveelheid neergeslagen werkzame stoffen) wordt gemeten. Ook werden toxiciteitsproeven op bijen uitgevoerd, door langs het proefveld kooien te plaatsen met daarin levende bijen, of door ervoor te zorgen dat de bijen naar een feeder uitvliegen die zich, ten opzichte van de bijenkast, aan de andere kant van het proefveld bevindt. De auteurs besluiten daaruit dat de via die middelen verkregen vermindering van de uitstoot van stof niet volstaat om de onaanvaardbare effecten op de bijen te voorkomen.

Er werd ook specifiek onderzoek gevoerd naar de contaminatie van guttatedruppels. In het laboratorium of op het veld werden toxiciteitstests uitgevoerd met betrekking tot de letale en subletale effecten van de moleculen die voor zaadbehandeling gebruikt worden, meer bepaald de geheugencapaciteiten en het oriëntatievermogen, en met betrekking tot het bijenbroed.

Tot slot maakten de auteurs een inschatting van het landbouwkundige belang van het gebruik van de moleculen die voor zaadbehandeling gebruikt worden.

Na het project ApeNet kwam in 2011 het project BeeNet. Dat project heeft het netwerk van ApeNet overgenomen, uitgebreid en gereorganiseerd, en telt momenteel een duizendtal kolonies. BeeNet zet de uitvoering van het gewone bewakingsprotocol van ApeNet voort. De eerste resultaten van BeeNet zijn online

terug te vinden (<http://www.reterurale.it/api>). De algemene conclusies (alomtegenwoordigheid van Varroa en het misvormde vleugel virus; bijna integrale vervanging van *N. apis* door *N. ceranae* op het Italiaanse grondgebied) bevestigden die van ApeNet.

7.4.2. Project Oniris – CVFSE: « de bij als bewaker van de ecosysteemgezondheid »

Dat project werd uitgevoerd door het *Centre Vétérinaire de la Faune Sauvage et des Ecosystèmes des Pays de la Loire* (CVFSE) van de *Ecole Nationale Vétérinaire Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique* (Oniris). Het komt uitvoerig aan bod in de doctoraalscriptie van Olivier Lambert, die er een van de spilfiguren van was (Lambert 2012). Het werd door Monique L'Hostis voorgesteld tijdens het colloquium van 6 juni 2013 in Brussel.

Dat project is gebaseerd op de bemonstering en de analyse van matrices die in 18 bijenstallen genomen zijn op een landschapstransect in het Loiregebied; het was de bedoeling om via drie matrices (bij, honing, stuifmeel) de aanwezigheid van polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK's), lood, pesticiden en diergeneesmiddelen in het milieu te evalueren. Vier soorten landschappen waren vertegenwoordigd: steden, bossen, agrarische gebieden en eilanden.

Het project, dat twee jaar duurde, had tot doel niet alleen de bij, maar ook de omgeving waarin ze evolueert, te monitoren. Het omvatte dus:

- een gedetailleerde analyse van de omgeving van elke bijenstal, om die in een van de ecotypes onder te brengen en er de onderdelen van te kennen; die analyse werd aangevuld met een onderzoek naar de fytosanitaire en diergeneeskundige praktijken;
- de palynologische analyse van het verzamelde stuifmeel en de verzamelde honing teneinde de voedselbronnen zoveel mogelijk te identificeren;
- analyses van residuen in de bijen en in de andere bijenmatrices;
- een sanitaire opvolging van de kolonies en van de pathologische analyses om de contaminatie van de kolonies door de onderzochte besmettelijke agentia te evalueren; en een epidemiologische opvolging van de bijenstallen.

Het foerageergebied (bodembedekking en haaglijnen) werd getypeerd op basis van de gegevens van CORINE Land Cover⁸¹ en van het grafische perceelsregister GLB⁸².

De monsternemingen vonden vier keer per jaar plaats:

- bij het begin van het seizoen (eerste activiteitspieken van de bijen)
- bij de bloei in de lente
- bij de zomerbloei
- op het einde van het seizoen bij de laatste bloei (meer bepaald klimop).

⁸¹ CORINE is een Europese database rond bodembedekking:
http://fr.wikipedia.org/wiki/Corine_Land_Cover.

⁸² Het gaat eigenlijk om het grafische perceelsregister dat opgemaakt is op basis van de contractuele verklaringen van de landbouwers om steun te krijgen in het kader van het Gemeenschappelijk Landbouwbeleid.

Alle analyses werden uitgevoerd in de drie matrices bij, stuifmeel en honing.

Wat de PAK's betreft: de drie matrices zijn besmet, maar enkel bijen en stuifmeel vertonen besmettingspieken. Stuifmeel is de meest besmette matrix, en de besmetting houdt verband met de milieucontext van de site. Door het gebruik van stuifmeel en bijen kunnen de basiscontaminaties en de pieken aan het licht gebracht worden. **Stuifmeel en bijen zijn dus bewakersmatrices voor PAK's.**

Wat lood betreft: honing is de minst besmette matrix (wat in overeenstemming is met de eerder aangehaalde literatuur); stuifmeel is de meest besmette matrix, en bijen zijn de gevoeligste matrix. Door het gebruik van stuifmeel en bijen kunnen de basiscontaminaties en de pieken aan het licht gebracht worden. **Stuifmeel en bijen zijn dus bewakersmatrices voor lood.**

De pesticiden en diergeneeskundige stoffen (die gebruikt worden in de strijd tegen varroase) werden aan een multiresiduanalyse onderworpen, met een LOQ < 10 ng/g (bepaalbaarheidsgrens). De analytische techniek maakte het voorwerp uit van een publicatie (Wiest *et al.* 2011), evenals de resultaten (Lambert *et al.* 2013). Honing is de vaakst besmette matrix maar in geringere doses; stuifmeel is minst vaak besmet maar in hogere doses – maar de detectiegrenzen liggen in die matrix hoger dan in bijen en honing. *De matrix bij weerspiegelt rechtstreeks de praktijken inzake gebruik van pesticiden en diergeneesmiddelen en geeft een nauwkeurig beeld van de besmetting van het milieu, terwijl de matrix honing een geheugenefect van die besmetting heeft en meer de verschillen met betrekking tot de landschappen weerspiegelt* (Lambert 2012 p. 2018).

Gelet op het feit dat honing om eerder aangehaalde redenen de minst besmette matrix is (zie punt 7.2.), kunnen we globaal genomen stellen dat de meeste geschikte matrices voor milieubewaking bijen en stuifmeel zijn; niettemin liggen de detectie- en bepaalbaarheidsgrenzen in honing lager dan in de andere matrices. De auteurs raden ook aan om de monsters per bijenstal te bundelen om het probleem te omzeilen van de variabiliteit tussen kolonies, die samenhangt met het feit dat elke kolonie haar eigen foerageerstrategieën heeft, hetgeen onderlinge verschillen oplevert voor de blootstelling aan pesticiden.

Het aantal uitgevoerde onderzoeken (1242) is groot. Die onderzoeken tonen het grote aantal uitgevoerde behandelingen en verschillende moleculen die gebruikt worden (223 in agrarische gebieden).

Op sanitair vlak werden de bijenstallen vier keer per jaar bezocht en beoordeeld op basis van criteria met betrekking tot de toestand van de bijenkast vóór en tijdens de opening (902 beoordelingen over het hele project). Twaalf besmettelijke agentia werden gecontroleerd (2 bacteriën, 2 microsporidia en 8 virussen). Uit die opvolging bleek

- het belang van de imkerpraktijken, in het bijzonder de regelmatige vervanging van de koninginnen en de bestrijding van varroase;
- dat de stammen van besmettelijke agentia variabel zijn volgens de kolonies, wat impliceert dat men waakzaam moet zijn bij de uitwisseling van biologisch materiaal;

- dat er bovendien een grote asymptomatische aanwezigheid is (gemiddeld 9 agentia per bijenstal, 5 per kolonie); dat de pathogeniteitsdrempels niet gekend zijn.

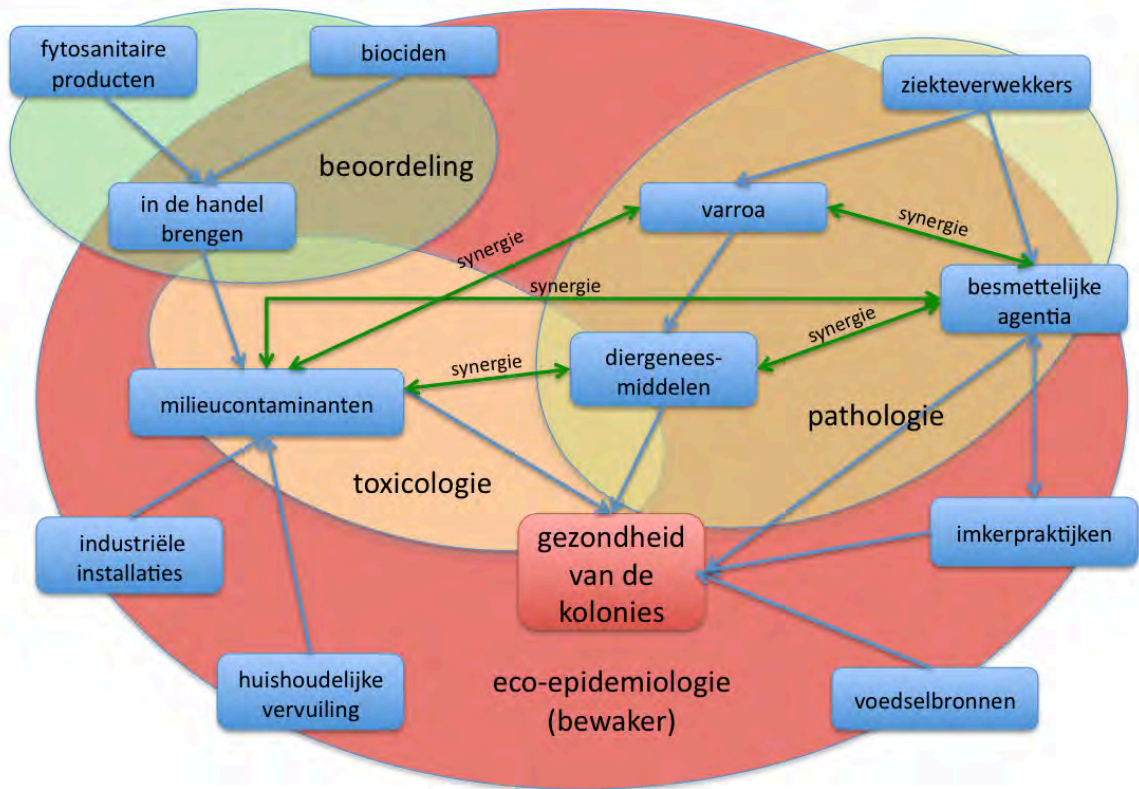
7.5. Bij wijze van besluit...

Uit de reeds uitgevoerde projecten blijkt dat een project rond de bij als bewaker, met de bedoeling de kolonies en de bijenmatrices te gebruiken om toezicht te houden op de bij zelf en op de omgeving die ze bevliegt, effectief uitvoerbaar is en zeer interessante gegevens oplevert voor het voeren van het milieubeleid.

Dit soort project

- geeft een beeld van de situatie op het terrein,
- laat toe de contaminanten op te sporen waaraan een populatie (mensen, bijen) effectief wordt blootgesteld, met inbegrip van de cocktail effecten van die contaminanten waarvan de toxische risico's individueel geëvalueerd worden terwijl er op het terrein meerdere zijn,
- maakt het mogelijk om aan dat contaminatieniveau een gezondheidsniveau van de bijenkolonies te verbinden dat een vroegtijdige waarschuwing geeft ten aanzien van de gezondheid van de mens.

We weten dat het verband tussen een gezondheidsprobleem en een contaminant zeer moeilijk aan te tonen is met klassieke proeven zoals die gebruikt worden bij de evaluatie van moleculen (inclusief veldproeven) aangezien de toxiciteit zich chronisch en op een subleetaal niveau manifesteert. Enkel een eco-epidemiologische studie (met name een project rond de bij als bewaker) kan duidelijkheid scheppen over een dergelijk verband. Het uitvoeren van een studie rond de bij als bewaker is dus een noodzakelijke aanvulling op de activiteiten betreffende de evaluatie van chemische moleculen, ongeacht of het gaat om biociden, fytosanitaire of industriële stoffen.



Hoofdstuk 8: Een project rond de bij als bewaker/indicator in België?

8.1. Indicator of bewaker?

Hiervoor zagen we dat wilde bijen in staat zijn om als ecosysteemindicator te fungeren, terwijl de huisbij een uitstekende bewakerssoort is. De twee soorten projecten zijn op het Belgische grondgebied volledig op hun plaats.

1. De biodiversiteit op ons grondgebied is in gevaar: een meerderheid van de soorten die er werden geïnventariseerd, is verdwenen of wordt bedreigd⁸³. De economische en sociale kosten die ontstaan als we op een dergelijke situatie niet reageren, zijn hoog⁸⁴. Een herstelbeleid is dus noodzakelijk, en er worden stappen ondernomen. Om dat beleid te beoordelen, zijn monitoringacties nodig; wilde bijen vormen in dat opzicht een goede opportuniteit. Maar gelet op de verdeling van de bevoegdheden tussen de federale overheid en de Gewesten valt dat beleid in kwestie onder de bevoegdheid van de Gewesten – zij organiseren en sturen met name acties zoals Natura 2000. Het opzetten en opvolgen van een «bijen»-ecosysteemindicator valt ons inziens dus onder de verantwoordelijkheid van de Gewesten in plaats van de federale overheid; in ieder geval zou het project gevoerd moeten worden in nauwe samenwerking met het Belgische team dat meewerkt aan het Europese programma STEP⁸⁵ (zie de toespraak van Denis Michez en Nicolas Vereecken tijdens het colloquium van 6 juni 2013).

2. Geheel anders gesteld is het met een project rond de bij als «bewaker», dat volledig onder de bevoegdheden van de federale overheid valt omdat het leefmilieu en volksgezondheid met elkaar verbindt. Aangezien dit rapport bestemd is voor de federale overheid, zullen wij dit tweede punt hieronder verder ontwikkelen.

8.2. Belang van een project rond de bij als bewaker in België

8.2.1. De bij, bestaande projecten

De situatie van de huisbij is zowel nationaal als internationaal zorgwekkend. Dat bracht een aantal projecten op gang, waarvan sommige breed opgezet zijn als we kijken naar de financiële middelen die ervoor aangewend zijn. We gaan die projecten kort doorlopen want ze vormen natuurlijk een context die in het kader van een project rond de bij als bewaker zeker gekend moet zijn. Wij nemen hier enkel de informatie op die ons met het oog op die doelstelling relevant lijkt; extra informatie is terug te vinden in het federale plan «Bijengezondheid, ook onze gezondheid» (FOD VVVL 2012), dat daarvan een volledige inventaris geeft.

⁸³ Bron: <http://www.biodiv.be/biodiversity/statustrends>

⁸⁴ Zie bijvoorbeeld http://www.biodiv.be/biodiversity/about_biodiv/importance-biodiv.

⁸⁵ STEP is het acroniem voor Status and Trends of European Pollinators. STEP heeft een website: <http://www.step-project.net/?P=20>.

8.2.1.1. Op Europees niveau

Het project CoLoss (Prevention of Honey bee colony losses), dat gefinancierd wordt door een COST-programma⁸⁶, realiseerde met name een gestandaardiseerde vragenlijst om een overzicht van de bijensterfte te krijgen dat tussen de landen onderling coherent is, alsook een *Bee-Book* waarin de standaardmethodes worden opgesomd die bruikbaar zijn in het wetenschappelijk onderzoek naar bijen. Tot op heden spitste CoLoss zich sterk toe op de ziekten; sommige van de standaardmethodes zijn evenwel bedoeld voor de toxicologie van de bij (bijvoorbeeld een testprotocol op broed). Het totale budget van de actie, die over 4 jaar liep (2009–2012), bedraagt 525 000 €. Het eindrapport is terug te vinden op het internet:

http://w3.cost.eu/fileadmin/domain_files/FA/Action_FA0803/final_report/final_report-FA0803.pdf.

2. De EFSA legde zich ook toe op de gezondheid van bijen, en dit vanuit twee invalshoeken⁸⁷.

a. In augustus 2008 bracht de EFSA een rapport uit met de naam « Bee mortality and bee surveillance in Europe »⁸⁸. Dat rapport, dat op verzoek van het Franse AFSSA tot stand kwam, vergelijkt de verschillende soorten « bijenmonitorings » die in Europa uitgevoerd zijn, en eindigt met drie aanbevelingen: (1) een gemeenschappelijk protocol voor de nationale monitorings tot stand brengen teneinde de gegevens van de lidstaten te kunnen combineren om een epidemiologische opvolging op Europees niveau te realiseren, (2) de historische gegevens over sterfte en achteruitgang vergelijken en (3) die gegevens en de bestaande wetenschappelijke literatuur doorlopen teneinde dichter te komen bij de mogelijke oorzaken van het hogere sterftecijfer.

b. Anderzijds is er een sterk vermoeden dat landbouwpesticiden (sommige onder hen, of de cocktail die ze samen vormen) een rol spelen in de hogere sterfte die de huisbij treft. In de context daarvan kreeg de EFSA van de Europese Commissie de opdracht (schrijven van 18 mei 2011) om een wetenschappelijk advies uit te brengen over de huidige beoordelingsmethodes en de beperkingen ervan, en een guidance document op te stellen voor de beoordeling van de risico's van pesticiden voor bijen. De EFSA werd ook belast met de herbeoordeling van vier werkzame stoffen die gebruikt worden voor zaad- en bodembehandeling (drie neonicotinoïden en fipronil). Die werken werden gepubliceerd tussen 25 mei 2012 en 27 mei 2013 (EFSA 2012, EFSA 2013). Daaruit blijkt dat bij de beoordeling zoals die uitgevoerd werd vooraleer de genoemde stoffen in de handel gebracht zijn, geen rekening gehouden is met alle toxische effecten die ze kunnen teweegbrengen; in het bijzonder zijn de – letale of subletale - risico's die verbonden zijn aan de chronische blootstelling van bijen, onvoldoende gedekt (EFSA 2012). Over die vaststelling is er

⁸⁶ COST (European Cooperation in Science and Technology) is een intergouvernementele structuur met daarin 36 Europese landen (zie de website van de organisatie: http://www.cost.eu/about_cost).

⁸⁷ Zie de pagina van de EFSA over bijengezondheid: <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/beehealth.htm>.

⁸⁸ <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/154r.pdf>

eensgezindheid in de wetenschappelijke wereld. Bijgevolg maakten de vier werkzame stoffen die herbeoordeeld werden, het voorwerp uit van adviezen waarin benadrukt wordt dat sommige van de toxische risico's ervan niet beoordeeld werden. De adviezen van de EFSA zijn terug te vinden op de website:

- neonicotinoïden: <http://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/130116.htm>;
- fipronil: <http://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/130527.htm>).

3. In antwoord op de eerste conclusie van het EFSA-rapport over bijenmonitoring (voorlaatste paragraaf hierboven) stelde het Europese referentielaboratorium inzake bijengezondheid van Sophia-Antipolis in juni 2011 guidelines op voor een pilootproject voor de bewaking van de sterfte van bijenkolonies⁸⁹.

4. De Europese Commissie bracht in 2010 een omvangrijk rapport over bijengezondheid uit⁹⁰; de Raad heeft op 17 mei 2011⁹¹ advies uitgebracht over die mededeling, en het Europees Parlement (Commissie landbouw en plattelandsontwikkeling) heeft op 25 oktober 2011⁹² een resolutie over hetzelfde onderwerp aangenomen. Bovendien maakte de Commissie in 2012 en 2013 fondsen vrij om in verschillende van haar lidstaten monitoringprojecten te financieren (Uitvoeringsbesluiten van de Commissie van 4 juli 2012 en 17 mei 2013). België maakt deel uit van de lidstaten waarop die besluiten van toepassing zijn. Tot slot schortte de Commissie, op grond van de adviezen van de EFSA, de vier insecticidemoleculen voor zaad- of bodembehandeling op (uitvoeringsverordeningen 485/2013 van 24 mei 2013 en 781/2013 van 14 augustus 2013).

8.2.1.2. Op Belgisch niveau

1. Ter uitvoering van het besluit van de Commissie van 4 juli 2012 lanceerde het FAVV een Pilootbewakingsprogramma voor bijenziekten 2012-2013⁹³. In een bericht aan de bijenteeltfederaties preciseert het FAVV de doelstellingen van die monitoring als volgt: *Daarnaast wensen we meer informatie te bekomen over de graad van varroabesmetting en het voorkomen van vuilbroed, noseose en ziekten veroorzaakt door bepaalde virussen (ABPV, DWV en CBPV). Verder zal ook een screening gebeuren op de aanwezigheid van de kleine bijenkastkever en de Tropilaelapsmijt. Tenslotte zal ook gekeken worden of er een verband bestaat tussen de wintersterfte en de aanwezigheid van ABPV en DWV.* Klinische onderzoeken en monsternemingen zijn voorzien.

2. Reeds eerder sloten de universiteiten van Luik (fac. Gembloux) en Gent met de FOD VVVL onderzoeksovereenkomsten over bijenvirussen over de periode 2007-2010 (VIRBEE-project: *Mise en place d'une méthode moléculaire de diagnostic des virus chez l'abeille domestique, Apis mellifera L.: détection et approche*

⁸⁹ http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/bees/docs/annex_i_pilot_project_en.pdf

⁹⁰ http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/bees/docs/honeybee_health_communication_nl.pdf

⁹¹ http://www.consilium.europa.eu/uedocs/cms_data/docs/pressdata/fr/agricult/122024.pdf

⁹² <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?type=REPORT&reference=A7-2011-0359&language=NL#title4>

⁹³ <http://www.afsca.be/bijenteelt/dierengezondheid/#pilot>

épidémiologique des maladies virales dans les ruchers en Belgique – invoering van een moleculaire methode voor het diagnosticeren van virussen bij de huisbij, *Apis mellifera* L.: epidemiologische aanpak en detectie van virale ziekten in Belgische bijenstallen; promotor: E. Haubruge; copromotor: C. Saegerman) en over de Varroamijt (MINBEE-project: project: RT-06/07-MINBEE; coördinator: F. Jacobs; copromotor: E. Haubruge). Die projecten zijn in 2010 afgesloten. Behoudens vergissing staan die rapporten niet op het internet. Virbee zou het mogelijk gemaakt hebben om de prevalentie van 6 virussen in de Belgische bijenkolonies vast te stellen (bron: *Abeilles et Cie*, tijdschrift van het CARI, nr. 136 p. 8) (maar de pathogeniteitsdrempels zijn niet gekend, n.d.r.). MinBee verrichtte onderzoek naar het nut van mierenzuur ter bestrijding van Varroa en concludeerde dat die methode niet interessant is.

3. Het CARI deed in samenwerking met CRA-Gembloux en de faculteit van Gembloux monsternemingen in de Waalse bijenkasten, met de bedoeling een analyse te maken van de impact van virussen en pesticiden op de gezondheid van de kolonies⁹⁴. Het gaat hier, behoudens vergissing, om het eerste project met analyses van contaminanten in een opvolging van bijenstallen in België. Dat project is op heden afgerond. De resultaten ervan zijn momenteel nog niet gepubliceerd.

4. De FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu liet een rapport maken over de toxiciteit van 4 biocidemoleculen voor bijen (imidacloprid, fipronil, deltamethrin en cypermetrine)⁹⁵. Dat rapport, dat gebaseerd is op de gepubliceerde wetenschappelijke literatuur en peerreview, analyseert op grond daarvan de blootstelling van de bij aan die stoffen, alsook de letale en subletale risico's die ze inhouden voor de bijen, gelet op hun toxische eigenschappen bij acute en chronische blootstelling.

8.2.2. De bij als bewaker, belang ten aanzien van de uitgevoerde of aan de gang zijnde werkzaamheden

We wijzen erop dat zeer veel werkzaamheden rond de gezondheid van de kolonies zich beperkten tot het onderzoeken van ziekten van infectieuze oorsprong - of die nu viraal of bacterieel zijn - en geen rekening houden met de contaminanten. Parallel daarmee hebben veel studies betrekking op de potentiële toxiciteit van de milieucontaminanten voor de bij, maar die studies hebben geen epidemiologische inslag. Enkel in de studie CARI/CRA/FUSAGx waren die elementen opgenomen maar die studie, die enkel betrekking had op het zuidelijke deel van het grondgebied, is op heden afgesloten.

Bovendien worden de contaminanten die de gezondheid van de bij het meest kunnen schaden, met name fyto-sanitaire producten en biociden, onderworpen aan een beoordeling van hun toxische risico's - en meer bepaald van de risico's voor de bijen - nog voor ze in de handel gebracht worden. Maar die beoordeling heeft slechts betrekking op één enkele stof of één product tegelijk. We zagen bovendien dat die

⁹⁴ Zie *Abeilles et Cie* nr. 142 p. 25: http://www.cari.be/medias/abcie_articles/142_plan_dp.pdf.

⁹⁵ Ter herinnering de link: <http://www.health.belgium.be/internet2Prd/groups/public/@public/@mixednews/documents/ie2form/19081892.pdf>

beoordeling niet alle risico's voor bijen in aanmerking neemt; we zagen ook dat ze gebaseerd is op veronderstellingen die in de praktijk niet altijd gecontroleerd zijn (cf. de voorbeelden van pirimifos-ethyl en fipronil desulfynil, zie punt 7.3.). Die werkzaamheden zijn parallel met die uit de vorige paragraaf uitgevoerd, maar zijn onderling niet met elkaar verbonden.

Daar zien we het effect van de verdeling van de bevoegdheden binnen de landen en binnen Europa: de diensten die verantwoordelijk zijn voor bijengezondheid, houden zich bezig met de pathologie van de bij en met diergeneesmiddelen, maar niet met contaminanten; die (biociden, landbouwpesticiden, zware metalen, PAK's, ...) vallen eigenlijk onder de verantwoordelijkheid van andere diensten, die bevoegd zijn voor de beoordeling van de toxiciteit en ecotoxiciteit van producten of stoffen, maar niet voor de epidemiologie van de bij.

Dat is een leemte die moet worden aangevuld, en daarvoor lijkt een project rond de huisbij als bewaker op alle vlakken geschikt, aangezien het in de aard zelf van een dergelijk project ligt om het klinische onderzoek van de kolonies, de bemonstering van bijenmatrices met chemische en pathologische analyses, en de beschrijvende en analytische epidemiologie samen te brengen: dat geheel maakt het mogelijk om de problemen te typeren – wat nog niet gebeurd is in de op heden gepubliceerde projecten – en de eventuele verbanden tussen ziekten en contaminanten enerzijds en de gezondheidstoestand van de stallen anderzijds te volgen. Een project rond de bij als bewaker heeft dus betekenis als we kijken naar de potentiële verbanden tussen de beoordeling van de chemische contaminanten en de epidemiologie, tussen de pathologie en de toxicologie, voor zover het om een eco-epidemiologisch project gaat waarbij vertrokken wordt van vaststellingen op het terrein en waarin de gezondheid van de bij op een geïntegreerde en holistische manier aangepakt wordt.

We hebben gezien dat de bijenkolonie een systeem is dat gevoelig is voor milieucontaminaties en dat ons voor het begrip « tolerantiedrempel » plaatst inzake de aantasting van de ecosystemen waarvan ze deel uitmaakt (zie punten 5.3.2. en 5.3.3. hierboven). Een project rond de bij als bewaker maakt het mogelijk om in een vroeg stadium de milieucontaminaties op te sporen die een impact kunnen hebben op andere soorten (mensen, wilde of tamme diersoorten); niet alle contaminaties zijn immers gekend, en de bestaande projecten brachten meermaals stoffen aan het licht die men niet verwacht had, meer bepaald door een verkeerd gebruik van fytosanitaire producten of biociden.

Een dergelijk project is ten slotte een manier om de mogelijke synergieën tussen contaminanten te begrijpen en een onderscheid te maken tussen primaire en secundaire ziekten, wat bijzonder belangrijk is als we kijken naar het opportunisme dat, zoals we gezien hebben, vaak voorkomt in de bijenpathologie.

8.3. De bij als bewaker: methodes en parameters voor opvolging

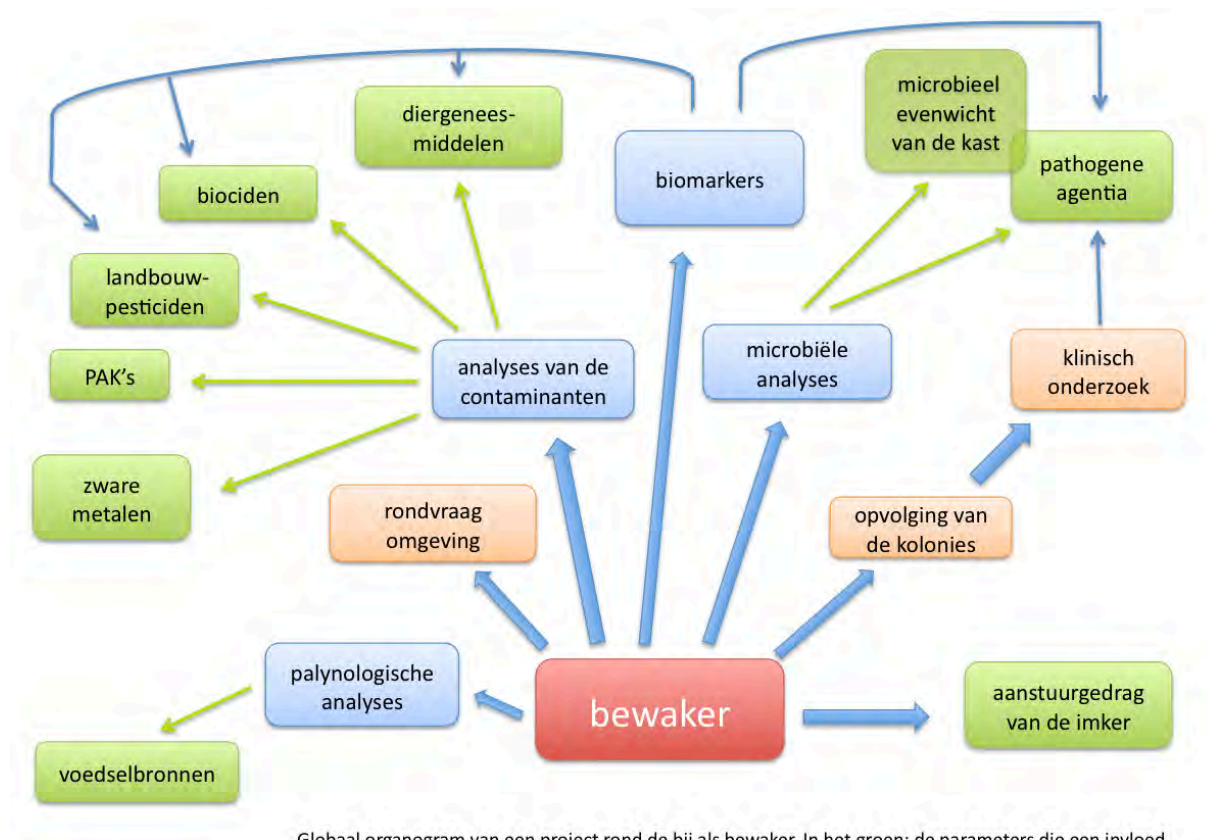
Een project rond de bij als bewaker is per definitie multidisciplinair; het impliceert de samenwerking van verschillende teams, imkers en wetenschappers (imkers van het

netwerk, « bijenspecialisten », laboratoria voor chemische en pathologische analyses, epidemiologen).

Een dergelijk werk omvat meerdere fasen:

1. De vorming van een netwerk van bijenstallen. Welke sites worden gemonitord? Hoeveel bijenstallen, hoeveel kasten per stal?
2. De bepaling van de parameters voor de opvolging van de kolonies:
 1. Vastleggen van de planning van de bezoeken en van een observatieschema
 2. Vastleggen van een opmerkingenschema voor de imker, omtrent het aansturen van de kolonies (meer bepaald: opvolging van het niveau van besmetting met varroase – gebruikte geneesmiddelen, data van toepassing)
 3. Vastleggen van een alarmsysteem voor de eventuele gebeurtenissen die zich voordoen buiten de bezoeken
3. Bepaling van de parameters voor de bemonstering: welke matrices, welke planning? Vastleggen van een protocol voor de bemonstering
4. De bepaling van de parameters voor de opvolging van de omgeving van de bijenstal
 1. Kwalificatie van de omgeving (types)
 2. Gegevens betreffende de contaminanten (gebruik van biociden – landbouwpesticiden in de omgeving, industriële emissies); rondvragen
5. De keuze van de analyses:
 1. De pathologische analyses: welke pathogene/niet-pathogene agentia? Welke biomarkers? Welke methodes, kwalitatieve of kwantitatieve)?
 2. De chemische analyses: welke stoffen? Welke detectie-/bepaalbaarheidsgrenzen? Mono- of multiresidu?
 3. De palynologische analyses.
6. De verwerking van de gegevens; die verwerking impliceert het gebruik van een cartografie en het gebruik van statistische methodes, meer bepaald om de aan- of afwezigheid van verbanden tussen de parameters te bepalen.
7. Tot slot zou het project, om vernieuwend te zijn, moeten steunen op de meest relevante recente wetenschappelijke ontwikkelingen en zo nodig gepaard moeten gaan met onderzoek om die ontwikkelingen nog verder uit te breiden. Door de tekst heen hebben wij verschillende mogelijkheden op dat vlak aangebracht; daarvan geven wij op het einde van dit hoofdstuk een samenvatting.

Al die fasen veronderstellen een vorm van communicatie: uitwisseling van informatie en ervaring met de bijensector, overbrengen van informatie naar het brede publiek, pedagogisch werk.



8.3.1. De vorming van een netwerk van bijenstallen

De plaatsing van de bijenstallen die onderzocht worden, zal worden gekozen op grond van de contaminanten die de opdrachtgever wil opvolgen: stedelijk milieu, voorstedelijk milieu, agrarisch milieu, industrieel milieu, belangrijke bermen, ...

In de mate van het mogelijke zullen bestaande bijenstallen gebruikt worden, zo nodig zullen andere geplaatst worden. Belangrijk daarbij is de samenwerking met imkers, aangezien die een aantal verbintenissen zullen moeten aangaan om de betrouwbaarheid van de verzamelde gegevens te garanderen. Ook belangrijk is dat de imkers die aan het project meewerken, over een minimum aan ervaring in de bijensector beschikken om vaak voorkomende problemen te kunnen opsporen en identificeren. Ze zullen ook getraind worden in bemonstering (belang van het moment: dode bijen worden bijvoorbeeld vòòr zonsopgang genomen om fotolyse van de eventueel aanwezige toxische stoffen te voorkomen; belang van steriliteit voor monsternemingen die bestemd zijn voor pathologische analyse, ...); er zal een systeem worden voorzien om de monsters te markeren, zodat ze perfect traceerbaar zijn.

Alle bijenkasten zullen een sanitaire bodem hebben (bodemrooster met schuifplaat), ongeacht het model ervan. Ze zullen allemaal losse ramen hebben⁹⁶.

⁹⁶ Die verduidelijking is nodig omdat sommige imkers vandaag de dag met lattenkasten werken (vaak van het type Warré).

8.3.2. De opvolging van de kolonies

Weliswaar wordt het toezicht op de bijen uitgeoefend door de imker, maar voor de bezoeken die gepland zijn in het project rond de bij als bewaker, zal (zullen) de persoon (personen) instaan die hierboven « bijenspecialisten » genoemd zijn en die de projectverantwoordelijken zijn. Die personen, als het om meerdere gaat, zullen de eerste bezoeken samen uitvoeren, en doen dan opnieuw, één keer per jaar, één of twee bezoeken samen om ervoor te zorgen dat de waarnemingen coherent zijn. Die bezoeken zijn zeer belangrijk: ze vormen de enige bron van gegevens over de kolonie in haar geheel, en wij hebben gezien hoe belangrijk bij bijen het niveau van het superorganisme vanuit sanitair oogpunt is.

Planning van de bezoeken: In dit soort project bedraagt het aantal bezoeken over het algemeen vier per jaar. Dat is een minimum: idealiter zouden er bezoeken moeten plaatsvinden:

- bij het begin van het seizoen (tegen half april),
- in volle lentepiek,
- in volle zomerpiek,
- vóór de inwintering (tweede helft van augustus),
- na het wintervoeren.

Er is een specifiek observatieschema voorzien; dat omvat de observatie vóór de kolonie en de observatie van de open kolonie, met inventarisering van de voorraden en grondig onderzoek van de bijen en het broed, inclusief observaties met betrekking tot het gedrag van de bij.

Elk probleem maakt het voorwerp uit van een grondig klinisch onderzoek en een voldoende uitvoerige beschrijving van de symptomen (uiterlijk van de bijen, gedrag) zodat er gelijkenissen of verschillen tussen gevallen onderling kunnen worden vastgelegd. Zo is het bij dode kolonies bijvoorbeeld belangrijk om te weten of de volledige kolonie in de kast gestorven is dan wel of het bijenvolk geheel of deels ontbreekt, of er voorraden (stuifmeel, honing) zijn, in geval van wintersterfte of de tros zich dicht bij de voorraden bevond enz. De probleemkasten zullen gefotografeerd worden.

Opmerkingenschema van de imker: Parallel met die bezoeken zal de imker zelf de kast volgens zijn eigen gewoonten aansturen. Hij zal het aantal gevallen varroamijten vóór de behandeling (aantal eenheden, tientallen ... per week) en na de behandeling (aantal honderdtallen, duizendtallen ... over heel de behandeling) noteren. De aanwezigheid van bijen met misvormde vleugels, met een korter achterlijf, ... zal steeds genoteerd worden, met een kwantitatieve raming. Bij het inwinteren zal de imker toezicht op zijn kolonies houden door middel van onderzoek van buitenaf, minstens alle twee weken (idealiter elke week), zal hij nagaan of ze nog altijd in leven zijn, zal hij de bodemplaten controleren en in geval van problemen de verantwoordelijken van de studie verwittigen. Hij zal de bijenspecialist die hem bezoekt, te allen tijde verwittigen als hij een verschijnsel waarneemt dat hem van belang lijkt.

8.3.3. Bemonstering

De te bemonsteren matrices worden gekozen op grond van

- de stoffen die men wil monitoren. Bijen en stuifmeel (val) lijken uitstekende matrices voor alle vormen van monitoring, fytosanitaire en biocide werkzame stoffen, metalen, PAK's en radioactiviteit; honing, een stof waarvan blijkt dat ze « gefilterd » is ten aanzien van de contaminanten waaraan de kast blootgesteld is, kan evenwel van nut zijn voor de analyses van fytosanitaire en veterinaire werkzame stoffen, meer bepaald omdat het een waterhoudende stof is die dus de hydrofiele stoffen oplost die andere matrices minder goed oplossen, en omdat de analysemethoden die erop van toepassing zijn, lagere detectie- en bepaalbaarheids grenzen toelaten dan voor de andere matrices. Was en propolis zijn geschikt voor lipofiele stoffen.
- het tijdsverloop van het beeld dat men wil verkrijgen. Bijen of stuifmeel geven veeleer een momentopname van de toestand van het leefmilieu, terwijl honing, en vooral was en propolis, meer een beeld op lange termijn geven; was en propolis zijn de enige matrices die geschikt zijn om bioaccumulatie over een tijdspanne van een jaar op te sporen.

8.3.4. De opvolging van de omgeving van de bijenstal

Dit punt heeft twee functies:

- zicht krijgen op de voedselbronnen die de bij ter beschikking staan
- de bronnen van verwachte milieucontaminaties kennen.

De voedselbronnen zullen beoordeeld worden door bijenspecialisten, via inspectie van de omgeving voor de aangrenzende bronnen die van belang zijn voor de ontwikkeling en de gezondheid van de kolonie tijdens de winter (bijvoorbeeld de aanwezigheid/afwezigheid van stuifmeel bij het begin en het einde van het seizoen: boswilg, klimop, ...) en via raadpleging van een bron met grafische gegevens voor het ruime landschap (straal van 1,5 km, straal van 3 km).

De contaminaties kunnen van huishoudelijke, industriële of fytosanitaire oorsprong zijn of verband houden met biociden. Huishoudelijke verontreiniging kan enkel gekend zijn via rondvraag. Industriële emissies kunnen gekend zijn via milieuvergunningen (aan te vragen bij het bevoegde Gewest), de processen-verbaal van de milieupolitie (idem) of via rondvraag. De contaminatie door afvloeiend water (biociden) kan slechts worden opgespoord via rondvraag maar die zal zich beperken tot de nabije omgeving, aangezien de bij gaat drinken aan bronnen in de buurt van de kolonie. De contaminatie door fytosanitaire producten is gekend via de gebruiksregisters die verplicht zijn in het kader van de traceerbaarheid van fytosanitaire producten (FAVV)⁹⁷; ze kan ook benaderd worden via het soort teelt (bron: oppervlakteaangiften bij het gewestelijke ministerie van landbouw), via rondvraag of, globaler genomen, via de verkoopscijfers van fytosanitaire producten waarover de FOD VVVL beschikt. De toxische eigenschappen van fytosanitaire producten en biociden maken het voorwerp uit van de evaluatiedossiers die ook de

⁹⁷ Zie daarover het vademecum van het FAVV:

http://www.favv.be/thematischepublicaties/documents/2012-07-26_Vade-mecumpesticides_nl.pdf

FOD VVVL bijhoudt. Bovendien levert de wetenschappelijke literatuur talrijke studies betreffende de toxiciteit van verschillende industriële, biocide of fyto-sanitaire stoffen voor de bij.

Elektromagnetische golven kunnen ook een effect op de bij hebben. Uit de tot op heden uitgevoerde studies blijkt dat dit effect samenhangt met de nabijheid van de bron (Harst *et al.* 2006; Kimmel *et al.* 2007; Sharma en Kumar 2010; Favre 2011); een project rond de bij als bewaker kan een manier zijn om die gegevens te bevestigen/ontkrachten, vertrekkende vanuit het veld.

8.3.5. De gevolgde parameters

Pathologische analyses. Bij de vastlegging van die agentia zal rekening gehouden worden met het opportunistische karakter van de meeste bijenziekten. De preventieve opvolging van de kolonies voor de parasieten die (nog) niet op ons grondgebied voorkomen (de kleine bijenkastkever en de mijt *Tropilaelaps* spp.) moet ons inziens in die context niet uitgevoerd worden – die opvolging wordt overigens uitgevoerd door het FAVV. De kwantitatieve analyse van bepaalde besmettelijke agentia en meer bepaald van virussen (CBPV, ABPV, DWV), van het agens van Amerikaans vuilbroed *Paenibacillus larvae*, en van *Nosema* spp. zou, in combinatie met de kliniek, moeten bijdragen tot het bepalen van pathologische drempels of tot het erkennen van het feit dat dergelijke drempels bij de bij niet kunnen worden vastgelegd, en tot het opstellen van de redenen daarvoor.

Die analyses zullen op nuttige wijze worden uitgebreid tot andere microbiële stammen dan die die in dat soort project gewoonlijk onderzocht worden. We hebben immers gezien dat niet-pathogene stammen ook interessante markers kunnen zijn voor de gezondheidstoestand van de kolonie.

De biomarkers zijn natuurlijk een veelbelovende techniek omdat ze betrouwbaar en goedkoop zijn – kunnen wij ons de medische diagnostiek voorstellen zonder bloedonderzoeken? De parameters immuniteit en oxidatieve stress (bloedcellen, fenoloxidase, glucoseoxidase, glutathion-S-transferase, ...) lijken ons bijzonder belangrijk (Evans en Spivak 2009, Adam *et al.* 2005, Schmidt *et al.* 2008, Brunet *et al.* 2011).

Chemische analyses. De analysemethodes voor het onderzoek naar sporen in bijenmonsters zijn de laatste jaren aanzienlijk geëvolueerd, en talrijke publicaties brengen daarvan geregeld de laatste updates (zie o.a. Kamel 2010, Wiest *et al.* 2011). De uitgevoerde analyses zijn gewoonlijk multiresiduanalyses, maar die laten momenteel geen voldoende lage detectie-/bepaalbaarheids grenzen voor alle contaminanten toe. Die grenzen moeten immers toxicologisch relevant zijn, dit wil zeggen dat ze op zijn minst alle contaminanten moeten kunnen detecteren die bij de bij toxische effecten kunnen veroorzaken. Sommige pyrethroïden of neonicotinoïden kunnen bij lagere concentraties dan de ppb toxische effecten veroorzaken, wat impliceert dat er parallel met de multiresiduanalyses monoresiduanalyses moeten worden uitgevoerd. Een goed systeem bestaat er ons inziens in multiresiduanalyses en af en toe monoresiduanalyses uit te voeren, bij het begin van het project toevalligerwijs, later gericht als sommige stoffen systematisch geassocieerd worden met sommige contexten (een teelt van een bepaald type bijvoorbeeld – let wel, men

moet er dan wel zeker van zijn dat er het jaar nadien geen uitbreiding van gebruik was!).

Palynologische analyses. Die zullen worden uitgevoerd op stuifmeel en op de honing zelf, teneinde de bronnen die de kolonie bevliegt, zo goed mogelijk te kennen. We houden evenwel in gedachten dat die analyses geen volledige, noch een kwantitatief representatieve weergave van die bronnen geven⁹⁸.

8.3.6. De verwerking van de gegevens

Zonder aangepaste statistische verwerking zal al het geleverde werk ruim onbenut blijven. Ons inziens behoort een dergelijk werk tot de taken van een epidemioloog.

8.3.7. Wetenschappelijke ontwikkelingen

Zoals we gezien hebben, kan er naar de bij nog heel wat wetenschappelijk onderzoek gedaan worden, zowel fundamenteel als toegepast onderzoek. Hierna volgen een aantal gebieden waarvoor verder onderzoek nog noodzakelijk is:

Biomarkers. Sommige parameters maakten al het voorwerp uit van onderzoek en bewezen dat ze geschikt zijn om als biomarkers gebruikt te worden omdat ze met name informatie geven over de werking van het immuunsysteem of het detoxificatiesysteem. **Aangezien het merendeel van de hogere sterfte in België tijdens de winter voorkomt, zou het ons bijzonder verstandig lijken om toe te zien op de markers van veroudering, vitellogenine en lipofuscine** (zie daarover het artikel van Münch *et al.* (2013)).

⁹⁸ Die vertekening is toe te schrijven aan het feit dat sommige planten veel stuifmeel produceren, terwijl andere weinig of zelfs helemaal geen stuifmeel produceren. Als de geanalyseerde matrix honing is – en niet het stuifmeel zelf – moet rekening gehouden worden met de contaminaties door stuifmeel afkomstig van de voorgaande oogsten. Zie daarover het artikel van P. Schweitzer, verantwoordelijke van het laboratorium van CETAM Lorraine: *Appellations monoflorales et idées reçues...* (1ste deel): http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/appellation_monoflorale.htm (2008).

Analytische epidemiologie. Er zijn studies die suggereren dat het verdwijnen van bijen in de winter een infectieuze oorsprong heeft; andere opperen dat die ziekten ondergeschikt zijn aan de verzwakking. Om die twee hypothesen van elkaar te kunnen onderscheiden, is een epidemiologische studie nodig met een netwerk van bijenstallen dat voldoende dicht is om eventuele infectiehaarden of eventuele bronnen van besmetting te identificeren. Door de klinische tekenen (de aard ervan, de omvang ervan), de geografische spreiding van de klinische gevallen en de in de biomarkers en de pathologische analyses vastgestelde verschijnselen, de gegevens betreffende de milieucontaminaties van industriële, huishoudelijke of agrarische oorsprong onderling te vergelijken, zou het mogelijk moeten zijn om een serieuze vooruitgang te boeken in de analyse van de oorzaken van de wintersterfte onder bijenkolonies, waarvan het rampzalige karakter de laatste twee jaar nog versterkt lijkt te zijn.

8.3.8 Communicatie

Zoals we hierboven al gezegd hebben, is werken rond bijen geen gebied dat uitsluitend voorbehouden is aan een kring van deskundigen. Een project rond de bij als bewaker veronderstelt ook voortdurende uitwisselingen met de sector en alle betrokken partijen, overheden en het maatschappelijk middenveld. De oprichting van een *ad-hoc* werkgroep door de bevoegde overheid lijkt wenselijk, des te meer omdat er op federaal niveau al een dergelijke werkgroep bestaat. Bovendien hebben dergelijke werkzaamheden slechts zin als de resultaten ervan doorgegeven worden aan de betrokken overheden (meer bepaald steden en gemeenten), de betrokken sectoren (meer bepaald landbouw en bosbouw) en het brede publiek, voor wie ze een instrument zijn om de burger bewust te maken van de biologische diversiteit en van goede milieuvriendelijke praktijken.

... en algemeen genomen ...

Wat hierboven aangegeven is, is slechts indicatief. Het is duidelijk dat werkzaamheden rond de « bij als bewaker » het voorwerp moeten uitmaken van een uitvoerig project op het vlak van de doelstellingen ervan en de middelen die ingezet worden om die te bereiken.

Algemene conclusies

Alle bijensoorten zijn meegeëvolueerd met de bloemdragende planten, waaruit zij hun middelen van bestaan halen, en hebben voortdurend een nauwe band met hun leefomgeving.

Wilde bijen vormen een buitengewoon gediversifieerd geheel, zowel door hun bronnen als door hun habitats. Sommige soorten zijn weliswaar algemeen en kunnen zich gemakkelijk aanpassen, maar andere zijn zeer afhankelijk van bepaalde bloemensoorten of bepaalde leefmilieus. Die eigenschappen maken het mogelijk om die soorten, of een groep soorten, in te zetten als ecosysteemindicator, teneinde de biodiversiteit en de evolutie ervan op het relevante grondgebied te kunnen opvolgen. Sommige soorten kunnen ook fungeren als bewaker; maar daartoe moet de kennis van de pathologie en de toxicologie van die bijen nog verder ontwikkeld worden. In ieder geval lijkt de ontwikkeling van een « wilde niet-*Apis*-bijen»-indicator wenselijk, maar dat lijkt ons veeleer een bevoegdheid van de Gewesten en niet van de federale overheid, op grond van de verdeling van de bevoegdheden tussen die deelgebieden.

De honingbij is een uitstekende bewakerssoort, door haar overvloed aan populaties, door het kweekgemak ervan, door de uitgestrektheid van haar foerageergebieden, doordat ze milieucontaminanten doeltreffend verzamelt en er gevoelig voor is. De op heden verworven kennis inzake biologie, pathologie en toxicologie van die soort lijkt voldoende om de gegevens die voortkomen uit een epidemiologische opvolging van de kolonies, doeltreffend te kunnen benutten. De honingbij is op die manier zeer geschikt voor een eco-epidemiologische aanpak, waarbij de milieugegevens vergeleken worden met de gegevens die voortkomen uit de pathologische en toxicologische opvolging van de kolonies zelf.

Het voeren van een project rond de bij als bewaker is, door het epidemiologische aspect ervan, de enige manier om een licht te kunnen werpen op de oorzaken van de grote sterfte die het bijenbestand al sinds bijna twintig jaar treft. Bovendien maakt een dergelijk project het mogelijk om inzicht te krijgen in de toestand van het leefmilieu waarin de kolonies leven, en waarin ook wij leven, en waarin de bij, door haar gevoeligheid voor toxische contaminanten, een rol speelt op het vlak van vroegtijdige waarschuwing. Om al die redenen vormt een project rond de bij als bewaker geen overlapping met de reeds aan de gang zijnde onderzoeken en studies, maar een aanvulling op de bestaande manieren van aanpak, met name de studies rond bijengezondheid of de wetenschappelijke beoordeling van fytosanitaire producten en biociden.

Een dergelijk project vergt een multidisciplinaire aanpak en veronderstelt samenwerking tussen epidemiologen, bijenspecialisten, scheikundigen en pathologen. Het vereist tevens samenwerking tussen de bevoegde overheid, de voornoemde wetenschappers en de imkerijsector. Het is tegelijk een opportuniteit voor wetenschappelijke vooruitgang en een praktisch instrument voor ondersteuning bij besluitvorming en sensibilisatie van alle partijen die betrokken zijn bij het lot van bestuivers, en ruimer genomen bij het lot van het milieu.

Bibliografie.

- Aajoud A, Raveton M, Azrou-Isghi D, Tissut M and Ravanel P, 2008: How Can the Fipronil Insecticide Access Phloem?, *J. Agric. Food Chem.*, 56 (10): 3732–3737
- Abbott VA, Nadeau JL, Higo HA and Winston M, 2008: Lethal and Sublethal Effects of Imidacloprid on *Osmia lignaria* and Clothianidin on *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), *Journal of Economic Entomology*, 101(3): 784-796
- Abrol DP, 2012: *Pollination Biology: Biodiversity Conservation and Agricultural Production*, Springer éd., 792 pp., DOI 10.1007/978-94-007-1942-2
- ACTA, 2006: Mise au point d'une méthodologie visant à évaluer les effets sublétaux de produits phytopharmaceutiques sur l'orientation de l'abeille domestique, rapport dans le cadre du huitième programme communautaire pour l'apiculture, non publié.
- Aizen MA and Harder LD, 2009: The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination, *Current Biology* 19: 915–918
- Alaux C, Brunet JL, Dussaubat C et al., 2009: Interactions between Nosema microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*), *Environmental Microbiology* 12: 774-782 - doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.
- Aliouane Y, Kassimi el Hassani A, Gary V, Armengaud C, Lambin M and Gauthier M, 2008: Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior, *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 17–26
- Alix A, and Vergnet Chr, 2007: Risk assessment to honey bees: a scheme developed in France for non-sprayed systemic compounds, *Pest Manag Sci.*63: 1069-1080
- Al-Waili N, Salom K, Al-Ghamdi A and Ansari M, 2012: Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards, Review Article, *The Scientific World Journal* Volume 2012, Article ID 930849, 9 pages - doi:10.1100/2012/930849
- Amdam GV, Omholt SW, 2002: The regulatory anatomy of honeybee lifespan, *J Theor Biol* 216: 209–228.
- Amdam GV, Aase ALTO, Seehuus SC, Fondrk MK, Kari Norberg K and Klaus Hartfelder K, 2005 : *Social reversal of immunosenescence in honey bee workers*, *Experimental Gerontology* 40: 939–947
- Anderson KE, Sheehan TH, Eckholm BJ, Mott BM and DeGrandi-Hoffman G, 2011: An emerging paradigm of colony health: microbial balance of the honeybee and hive (*Apis mellifera*), *Insect. Soc.* 58: 431-444
- APENET 2009: Effects of coated maize seed on honey bees, Report based on results obtained from the first year of activity of the APENET project, CRA-Api (Unità di ricerca di apicoltura e bachicoltura, Bologna, Italy)
- APENET 2010: Relazione sull'attività svolta e sui risultati ottenuti nell'ambito del progetto

- APENET per la tematica “Effetti del mais conciato sulle api”, Anno 2010, Unità di ricerca di apicoltura e bachicoltura, CRA-API, Italia
- APENET 2011: “Effects of coated maize seed on honey bees”, Report based on results obtained from the second year (2010) activity of the APENET project, CRA-API (Unità di ricerca di apicoltura e bachicoltura, Bologna, Italy)
- Aufauvre J, Biron DJ, Vidau C, Fontbonne R, Roudel M, Diogon M, Viguès B, Belzunces LP, Delbac F and Blot N, 2012: Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee, *Scientific Reports* 2 326, Doi: 10.1038/srep00326
- Badiou-Bénéteau A, Crvalho SM, Brunet JL, Carvalho GA, Buleté A, Giroud B and Belzunces LP, 2012: Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic.... *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.05.005>
- Baer B, 2005: Sexual selection in Apis bees, Review article, *Apidologie* 36: 187–200
- Baker N, Wolschin F and Amdam G, 2012: Age-related learning deficits can be reversible in honeybee *Apis mellifera*, *Experimental Gerontology* 47: 764-772
- Balayiannis G and Balayiannis P, 2008: Bee Honey as an Environmental Bioindicator of Pesticides' Occurrence in Six Agricultural Areas of Greece *Arch Environ Contam Toxicol* 55:462–470
- Balderrama NM, Almeida LO and Núñez JA, 1992: Metabolic rate during foraging in the honeybee, *J. Comp. Physiol. B* 162: 440–447
- Barbara GS, Zube C, Rybak J, Gauthier M and Grûnewald B, 2005 : Acetylcholine, GABA and glutamate induce ionic currents in cultured antennal lobe neurons of the honeybee, *Apis mellifera*, *J Comp Physiol A* 191: 823–836
- Barchuk R, Cristino AS, Kucharski R, Costa LF, Simões ZLP and Maleszka R, 2007: Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera*, *BMC Developmental Biology* 7: 70 - doi:10.1186/1471-213X-7-70
- Batra LR, Batra SWT and Bohart GE, 1973: The mycoflora of domesticated and wild bees (Apoidea), *Mycopathologia et Mycologia applicata* 49(1): 13-44
- Beekman L and Ratnieks FLW, 2000: Long-range foraging by the honey-bee, *Apis mellifera* L., *Functional Ecology* 2000 14: 490–496
- Belzunces, LP, Tchamitchian S and Brunet JL, 2012: Neural effects of insecticides in the honey bee, review, *Apidologie*, INRA, DIB and Springer-Verlag, DOI: 10.1007/s13592-012-0134-0
- Benning UF, Tamot B, Guelette BS and Hofmann-Behring, New aspects of phloem-mediated long-distance lipid signaling in plants, *Frontiers in plant Science* 3(53), 10pp.
- Bernadou A, Démares F, Couret-Fauvel T, Sandoz JC and Gauthier M, 2009: Effect of fipronil on side-specific antennal tactile learning in the honeybee, *Journal of Insect Physiology* 55: 1099–1106
- Bernard J, 2007: Apprentissages visuels chez l'abeille *Apis mellifera*: de la généralisation à l'extraction de règles, Thèse de doctorat, UFR Sciences de la Vie et de la Terre, Université Toulouse III-Paul Sabatier, Toulouse, France
- Bernard J, Stach S and Giurfa M, 2006: Categorization of visual stimuli in the honeybee *Apis mellifera*, review, *Anim Cogn* 9: 257–270

- Bloch G, 2010: The Social Clock of the Honeybee, *J Biol Rhythms* 25: 307-317 - DOI: 10.1177/0748730410380149
- Bloch G, Francoy TM, Wachtel I, Panitz-Cohen N, Fuchs S et Mazar A, 2010: Industrial apiculture in the Jordan valley during Biblical times with Anatolian honeybees, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 11240–11244
- Boes KE, 2010: Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: an interplay of queen and worker decisions, *Review article, Insect. Soc.*: 57: 1–9
- Bommarco R, Lundin O, Smith HG and Rundlö M, 2012: Drastic historic shifts in bumble-bee community composition in Sweden, *Proc. R. Soc. B* 279: 309-315.
- Bortolotti L, Montanari L, Marcelino J, Medrzycki P, Maini S and Porrini CI, 2003: Effects of sublethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees, *Bulletin of insectology*, 56: 63–67
- Bortolotti L, Sabatini AG, Mutinelli F et al., 2009: Spring honeybee losses in Italy, *Hazards of Pesticides to Bees - 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group Proceedings*, *Julius-Kühn-Archiv* 423: 148-152
- Bosch J and Kemp WP, 2002 : Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees, *Review article, Bulletin of Entomological Research* 92: 3–16
- Brandt R, Rohlfing T, Rybak J, Krofczik S, Maye A, Westerjoff M, Hege HC, Menzel R, 2005: Three-dimensional average-shape atlas of the honeybee brain and its application, *The journal of comparative neurology*, 492: 1–19
- Breeze TD, Bailey AP, Balcombe KG and Potts SG, 2011: Pollination services in the UK: How important are honeybees?, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, published online 20 May 2011, doi:10.1016/j.agee.2011.03.020: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2011.03.020>.
- Brittain C, Williams N, Kremen C and Klein A-M, 2013: Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services, *Proc R Soc B* 280: 20122767: <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2012.2767>.
- Brittain CA, Vighi M, Bommarco R, Settele J and S.G. Potts SG, 2010: Impacts of a pesticide on pollinator species richness at different spatial scales, *Basic and Applied Ecology* 11: 106–115
- Brunet JL, Tchamitchian S, Kairo G, Guillot P, Badiou A, Zitouni G, Cousin M et Belzunces LP, 2011: *Action des pesticides a faibles doses chez l'abeille : approche multimarqueurs d'exposition*, in Jean-Marie Barbançon et Monique L'Hostis, Ed., *Journée Scientifique Apicole*, Arles, 11 février 2011, pp 65-70
- Burdock GA, 1998: Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis), *Food and Chemical Toxicology* 36: 347-363
- Butler BG, 1940: The choice of drinking water by the honeybee, *J Exp Biol* XVII(3): 253-261
- Camazine S, 1991 : Self-organization Pattern Formation on the Combs of Honey Bee Colonies, *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 28 (1) : 61-76
- Camazine S, 1993a: The regulation of pollen foraging by honey bees: how foragers assess the colony's need for pollen, *Behav Ecol Sociobiol* 32: 265 272
- Camazine S, 1993b: *Self-organization in Biological Systems*, Princeton University Press, 538 pp.

- Camazine S, Visscher PK, Finley J and Vetter SR, 1999: House-hunting by honey bee swarms: collective decisions and individual behaviors, *Insectes soc.* 46: 348-360
- Cane JH, Sampson BJ and Miller SA, 2011 : Pollination Value of Male Bees: The Specialist Bee *Peponapis pruinosa* (Apidae) at Summer Squash (*Cucurbita pepo*), *Environ. Entomol.* 40(3): 614-620
- Capaldi EA and Dyer FC, 1999: The role of orientation flights on homing performance in honeybees, *The Journal of Experimental Biology* 202: 1655-1666
- Cardinal S and Danforth BN, 2013: Bees diversified in the age of eudicots, *Proc R Soc B* 280: 20122686. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2012.2686>
- CEB 1982: Méthodes d'essais destinées à connaître les effets des insecticides sur l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.), méthode n° 95 (rapporteurs: Louveaux Jet Perrot A), Société française de phytothérapie et de phytopharmacie, Commission des essais biologiques, avril 1982
- Celli G and Maccagnani B, 2003 : Honey bees as bioindicators of environmental pollution, *Bulletin of Insectology* 56(1): 137-139
- CEO et EBC, 2010 : Is the future of bees in the hands of the pesticide lobby? European Commission allows corporations to shape the pesticide rules, novembre 2010, document disponible sur Internet : http://www.beekeeping.com/articles/us/future_bees.pdf
- Chauzat MP, Faucon JP, Martel AC, Lachaise J, Cougoule N and Aubert M, 2006: A survey of pesticides residues in pollen loads collected by honey bees in France, *J. Econ. Entomol.* 99 (2): 253-262
- Chauzat MP, Martel AC, Cougoule N, Porta P, Lachaise J, Zeggane S, Aubert M, Carpentier P and Faucon JP, 2010: An assessment of honeybee colony matrices, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to monitor pesticide presence in continental France: *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 30 (1): 103-111
- Chittka L and Geiger K, 1995: Can honeybees count landmarks, *Anim. Behav.* 49: 159-164
- Claudianos C, Ranson H, Johnson RM, Biswas S, Schuler MA, Berenbaum MR, Feyereisen R, Oakeshott JG, 2006: A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee, *Insect Molecular Biology* 15(5): 615-636
- Colin, ME, Bonmatin JKM, Moineau I, Gaimon C, Brun S, Vermandere JP, 2004: A method to quantify and analyse the foraging activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides, *Arch. Environn. Contamin. Toxicol.* 47: 387- 95
- Colla SR, Otterstatter MC, Gegear RJ and Thomson JD, 2006: Plight of the bumble bee: Pathogen spillover from commercial to wild populations, *Biological Conservation* 129: 461-467
- Collet TS and Collet M, 2004: How do insects represent familiar terrain?, *Journal of Physiology - Paris* 98: 259-264
- Colliot F, 1997: Patent EP 0 726 709 B1 Rhône-Poulenc 3 décembre 1997, disponible sur le Net : <http://www.freepatentsonline.com/EP0726709.pdf>
- Conti ME and Botré F, 2001: Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination, *Environmental Monitoring and Assessment* 69: 267-282
- Cooper R, 2008 : Using honey to inhibit wound pathogens, *Nursing Time* 104 (3) : 46-49, accessible sur le Net : <http://www.nursingtimes.net/nursing-practice-clinical-research/using-honey-to-inhibit-wound-pathogens/573427.article>

- Couvillon MJ, Robinson EJH, Atkinson B, Child L, Dent KR and Ratnieks FLW, 2008: En garde: rapid shifts in honeybee, *Apis mellifera*, guarding behaviour are triggered by onslaught of conspecific intruders, *Animal Behaviour* 76: 1653-1658
- Cox RL and Wilson WT, 1984: Effects of permethrin on the behavior of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L (Hymenoptera : Apidae), *Environ. Entomol.* 13: 375-378
- Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes E *et al.* 2007: A Metagenomic Survey of Microbes in Honey Bee Colony Collapse Disorder, *Science* 318: 283-287
- Crailsheim K, 1992: The flow of jelly within a honeybee colony, *J Comp Physiol B*, 162:681-689
- Crane E, 2004: A short history of knowledge about honey bees (*Apis*) up to 1800, *Bee World* 85 (1) : 6-11
- Crotti E, Sansonno L, Prosdocimi E *et al.* 2013 : Microbial symbionts of honeybees: a promising tool to improve honeybee health, *New Biotechnol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2013.05.004>
- Dacher M and Gauthier M, 2008: Involvement of NO-synthase and nicotinic receptors in learning in the honey bee, *Physiology & Behavior* 95: 200-207
- De la Ruá P, Jaffé R, Raffaele Dall'Olio R, Irene Muñoz and Serrano J, 2009 : Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees, *Apidologie* 40: 263-284
- Dechaume-Moncharmont FX, Decourtye A, Hennequet C *et al.* 2003: Statistical analysis of the honeybee survival after chronic exposure to insecticides. *Environ Toxicol Chem* 22(12): 3088-3094
- Decourtye A, Armengaud C, Renou M, Devillers J, Cluzeau S, Gauthier M and Pham-Delègue MH, 2004: Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L), *Pestic. biochem. physiol.* 78 (2): 83-92
- Decourtye A, Devillers J, Genecque E, Le Menach K, Budzinski H, Cluzeau S and Pham-Delègue MH, 2005: Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning Performances of the Honeybee *Apis mellifera*, *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.* 48: 242-250
- Decourtye A, Lacassie E and Pham-Delègue M-H, 2003: Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season, *Pest Manag Sci* 59: 269-278
- DeGrandi-Hoffman G and Hagler J, 2000 : The flow of incoming nectar through a honey bee (*Apis mellifera* L.) colony as revealed by a protein marker, *Insectes soc.* 47 : 302-306
- Delaplane KS and Mayer DF, 2000: Crop pollination by bees, CABI éd., 332pp.
- DeSavigny CB, 1971 : Microencapsulated methyl and ethyl parathion insecticide in aqueous carrier, United States Patent 3,959,464, published online : <http://www.freepatentsonline.com/3959464.html>
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM, 2007: The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods, *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106
- Dyer FC, 2002 : The Biology of the Dance Language, *Annu. Rev. Entomol.* 47 : 917-949
- EFSA 2012: Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus spp.* and solitary bees), Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), *EFSA Journal* 2012, 10(5) 2668, 275 pp., doi:10.2903/j.efsa.2012.2668. Available online: <http://www.efsa.europa.eu/efsajournal>
- EFSA 2013: EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products

- on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees), EFSA Journal 2013 11(7): 3295, 266 pp.
- Eiri DM and Nieh JC, 2012: A nicotinic acetylcholine receptor agonist affects honey bee sucrose responsiveness and decreases waggle dancing, The Journal of Experimental Biology 215: 2022-2029
- El Hassani AK, Dacher M, Gary V, Lambin L, Gauthier M and Armengaud C, 2007: Effects of Sublethal Doses of Acetamiprid and Thiamethoxam on the Behavior of the Honeybee (*Apis mellifera*), Archives Environmental Contamination Toxicology 54: 653-661
- El Hassani AK, Dupuis JP, Gauthier M and Armengaud C, 2009: Glutamatergic and GABAergic effects of fipronil on olfactory learning and memory in the honeybee, Invert. Neurosci. 9 (2): 91-100
- Elekonich MM and Roberts SP, 2005: Honey bees as a model for understanding mechanisms of life history transitions, Review, Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 141: 362 – 371
- Ellis MB, Nicolson SW, Crewe RM Dietemann V, 2008: Hygropreference and brood care in the honeybee (*Apis mellifera scutellata*) Journal of Insect Physiology 54: 1516-1521
- Engel MS, 2005: Family-group names for bees, American Museum of Natural History n° 3476 (11 May 2005), 33 pp.
- Engel MS, Hinojosa-Díaz IA and Rasnitsyn AP, 2009 : A honey bee from the Miocene of Nevada and the biogeography of *Apis* (Hymenoptera: Apidae: Apini), Proceedings of the California Academy of Sciences, Series 4 60(3): 23-38
- Evans JD and Lopez DL, 2004: Bacterial Probiotics Induce an Immune Response in the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae), J. Econ. Entomol. 97(3): 752-756
- Evans JD and Spivak M, 2009 : Socialized médecine : Individual and communal disease barrier in honey bee, J Invertebr Pathol. 103 Suppl 1: S62-572
- Evison SEF, Roberts KE, Laurenson L, Pietravalle S, Hui J, et al., 2012: Pervasiveness of Parasites in Pollinators. PLoS ONE 7(1): e30641. doi:10.1371/ journal.pone.0030641
- Fahrenholz L, Lamprecht I and Schricker B, 1989: Thermal investigation of a honeybee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of the different bee castes, J. comp. physiol. B 159: 551 – 560
- Fakhimzadeh K and Lodenius M, 2000: Heavy metals in Finnish honey, pollen and honeybees, Apiata 35(2): 85-95
- Favre D, 2011: Mobile phone-induced honeybee worker piping, Apidologie 42(3): 270-279
- Fletcher M and Barnett L, 2003: Bee pesticide poisoning incidents in the United Kingdom Bulletin of Insectology 56(1): 141-145
- Foret S, Kucharski R, Pittelkow Y, Lockett GA and Maleszka R, 2009: Epigenetic regulation of the honey bee transcriptome: unravelling the nature of methylated genes, BMC Genomics 2009, 10:472 - doi:10.1186/1471-2164-10-472
- Forster R, 2009: Bee poisoning caused by insecticidal treatment of maize in Germany in 2008, Julius-Kühn Archiv 423: 126-133
- Franklin MT, Winston ML and Morandin LA, 2004: Effects of Clothianidin on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) Colony Health and Foraging Ability, J. Econ. Entomol. 97(2): 369-373

- Fresquez PR, Armstrong DR and Pratt LH, 1997 : Radionucleides in bees and honey within and around Los Alamos national laboratory, *Journal of Environmental Science and Health A* 32(5) : 1309-1323
- Gallai N, Salles JM, Settele J and Vaissière BE, 2009: Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol Econ* 68(3): 810-821
- Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Winfree R et al. 2013: Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance, *Science* 339: 1608-1611
- Garnery L, Cornuet JM and Solignac M, 1992: Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mol. Ecol.* 1: 145-154
- Garnery L, Franck P, Baudry E, Vautrin D, Cornuet J M et Solignac M, 1998a: Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera* and *A. m. iberica*). I. Mitochondrial DNA. *Genetics Selection Evolution* 30: S31-47
- Garnery L, Franck P, Baudry E, Vautrin D, Cornuet J M et Solignac M, 1998b: Genetic diversity of the west European honey bee (*Apis mellifera* and *A. m. iberica*). II. Microsatellite loci. *Genetics Selection Evolution* 30: S49--74
- Genome consortium: The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006: Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*, *Nature* 443 : 931 – 949
- Gerig L, 1991: Die Bedeutung von Insegar für Obstbau und Bienenzucht. *Schweiz. Bienen-Z.* 1991: 257-266
- Ghini S, Fernández M, Picó Y, Marín R, Fini F, Mañes J and Girotti S, 2004: Occurrence and Distribution of Pesticides in the Province of Bologna, Italy, Using Honeybees as Bioindicators, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47: 479-488
- Giffard H and Mamet O, 2009: Behavior of honey bees; a guideline to assess troubles in bee foraging activity under insect-proof tunnels, *Julius-Kühn Archiv* 423: 71-73
- Gil Mariana, 2009 : Reward expectation in Honey bee, thèse de doctorat, Freie Universität Berlin. Cette thèse est accessible sur le net : http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000005491/PhD_Thesis_M_Gil_2009_without_CV_.pdf?hosts
- Gill RJ, Ramos-Rodriguez O, Raine NE, 2012: Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees, *Letter, Nature* 11585, doi: 10.1038/
- Gilliam M, 1979: Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts, *Apidologie* 10 (1): 43-53
- Girolami V, Marzaro M, Vivian L, Mazzon L, Greatti M, Giorio C, Marton D and Tapparo A, 2011: Fatal powdering of bees in flight with particulates of neonicotinoids seed coating and humidity implication, *J. Appl. Entomol* 136(1-2): 17-26
- Girolami V, Mazzon L, Squartini A, Mori N, Marzaro M, Di Bernardo A, Greatti M, Giorio C and Tapparo A, 2009: Translocation of Neonicotinoid Insecticides From Coated Seeds to Seedling Guttation Drops: A Novel Way of Intoxication for Bees, *J. Econ. Entomol.* 102(5): 1808-1815
- Giurfa M, 2003: The amazing mini-brain: lessons from a honey bee, *Bee World* 84(1): 5-18
- Giurfa M, Zhang S, Jenett A, Menzel R and Srinivasan MV, 2001 : The concepts of 'sameness' and 'difference' in an insect, *Nature* 410 (6831) : 930-933
- Goulson D and Sparrow KR, 2009: Evidence for competition between honeybees and bumblebees; effects on bumblebee worker size, *Journal of Insect Conservation* 13(2): 177-181.

- Grandjean M, Hanin Y et Rousseaux V, 2006: Occupation du territoire en Région wallonne, Dossier scientifique réalisé dans le cadre de l'élaboration du Rapport analytique 2006-2007 sur l'Etat de l'Environnement wallon; Région wallonne éd.
- Gregorc A and Ellis JD, 2011: Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99: 200–207
- Greig-Smith PW, Thompson HM, Hardy AR, Bews MH, Findlay E and Stevenson JH, 1994: Incidents of poisoning of honeybees (*Apis mellifera*) by agricultural pesticides in Great Britain 1981–1991, review article, *Crop Protection* 13(8): 567-581
- Guez D, Suchail S, Gauthier M, Maleszka R and Belzunces LP, 2001: Contrasting effects of Imidacloprid on habituation in 7- and 8- days-old honeybees, *Neurobiology of Learning and Memory*, 76 (2): 183–191
- Guez D, Zhu H, Zhang SW and Srinivasan MV, 2010: Enhanced cholinergic transmission promotes recall in honeybees, *Journal of Insect Physiology* 56: 1341–1348
- Hagen M, Wikelski M and Kissling WD, 2011: Space Use of Bumblebees (*Bombus* spp.) Revealed by Radio-Tracking. *PLoS ONE* 6(5): e19997. doi:10.1371/ journal.pone.0019997
- Han F, Wallberg A and Webster MT, 2012: From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate?, *Ecology and Evolution* 2(8): 1949–1957
- Han P, Niu CY, Lei CL, Cui JJ and Desneux N, 2010: Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera*, L. *Ecotoxicology* 19: 1612–1619
- Hardstone MC and Scott JG, 2010: Is *Apis mellifera* more sensitive to insecticides than other insects? *Pest Manag Sci.* 66(11): 1171-1180
- Harst W, Kuhn J and Stever H, 2006: Can Electromagnetic Exposure Cause a Change in Behaviour? Studying Possible Non-Thermal Influences on Honey Bees – An Approach within the Framework of Educational Informatics, *ACTA SYSTEMICA – IIAS International Journal*, VI, (1): 1-6
- Henry M, Beguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S and Decourtye A, 2012: A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees, *Science* 336: 348-350
- Hewitt GM, 1999: Post-glacial re-colonization of European biota, *Biological Journal of the Linnean Society* (1999), 68: 87–112
- Hurd PD, LaBerge WE and Linsley EG 1980: Principal sunflower Bees in North America with emphasis on the Southwestern United States (Hymenoptera: Apoidea), Smithsonian institution Press, 1980, published online: http://www.sil.si.edu/smithsoniancontributions/zoology/pdf_hi/sctz-0310.pdf
- Hyne RV and William A. Maher WA, 2003: Invertebrate biomarkers: links to toxicosis that predict population decline (Review), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54: 366–374
- IFREMER 2007 : Etat de la contamination du Bassin d'Arcachon par les insecticides et les herbicides sur la période 2005-2006. Impact environnemental. Accessible en ligne : <http://archimer.ifremer.fr/doc/2007/rapport-2398.pdf>
- Iwasa T, Motoyama N, Ambrose JT and Roe M, 2004: Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*, *Crop Protection* 23 (2004) 371–378.

- Jacob-Remacle A, 1990 : Abeilles sauvages et pollinisation, brochure éditée par la Région wallonne, accessible sur Internet : <http://biodiversite.wallonie.be/servlet/Repository/remacle-abeilles-sauvages-pollinisation.pdf?ID=27804&saveFile=true>
- Jacob-Remacle, 1989: Abeilles et guêpes de nos jardins, Gembloux: Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat, 48pp.
- Jaffé R, Dietemann V, Allsopp MH, Costa C, Crewe .M, Dall'Olio R, de la Rúa P, El-Niweiri MAA, Fries I, Kezic N, Meusel MS, Paxton RJ, Shaibi T, Stolle E, Moritz RFA, 2010: Estimating the density of honey bee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses, *Conservation Biology* 24: 583-593
- James R and Xu J, 2008: Chalkbrood Control In The Alfalfa Leafcutting Bee *in* Proceedings, 2008 California Alfalfa & Forage Symposium and Western Seed Conference, San Diego, CA, 2-4 December, 2008
- Jamet L, Gehrart RW and Voeste D, 2011 for BASF SE (Ludwigshafen) : US Patent Application US 2011/0046123 A1, (synergies fipronil - neonic—fungicides), : <http://www.freepatentsonline.com/y2011/0046123.html>
- Jensen AB, Palmer KA, Boomsma JJ and Pedersen BV, 2005: Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe, *Molecular Ecology* 14: 93–106
- Jeschke P, Nauen R, Schindler M and Elbert A, 2011: Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids, *J. Agric. Food Chem.* 59: 2897–2908
- Johnson RM, Wen Z, Schuler MA and Berenbaum M, 2006: Mediation of Pyrethroid Insecticide Toxicity to Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) by Cytochrome P450 Monooxygenases, *J. Econ. Entomol.* 99(4): 1046-1050
- Jones KC 1997: Honey as an indicator of heavy metal contamination, *Water, Air, and Soil Pollution* 33: 179-189
- Kadala A, Charreton M, Jakob I, Le Conte Y and Collet C, 2011: A use-dependent sodium current modification induced by type I pyrethroid insecticides in honeybee antennal olfactory receptor neurons, *NeuroToxicology* 32: 320–330
- Käfer H, Kovac H and Stabentheiner A, 2012: Upper thermal limits of honeybee (*Apis mellifera*) and yellowjacket (*Vespula vulgaris*) foragers, *Mitt. Dtsch. Ges. allG. anGew. ent.* 18: 267-270
- Kakamand FAK, Mahmoud TT and Amin ABM, 2008: The role of three insecticides in disturbance the midgut tissue in honeybee *Apis mellifera* L. workers. *Journal of Dohuk University* 11(1): 144-151
- Kamel A, 2010: *Refined Methodology for the Determination of Neonicotinoid Pesticides and Their Metabolites in Honey Bees and Bee Products by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*, *J. Agric. Food Chem.* 58: 5926–5931
- Karazafiris E, Tananaki C, Thrasyvoulou A and Menkissoglu-Spiroudi U, 2011: Pesticide Residues in Bee Products, *Pesticides in the Modern World - Risks and Benefits*, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.), 560pp., chap. 6: 89-12, published online: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-risks-and-benefits/pesticide-residues-in-bee-products>

- Khoury DS, Myerscough MR and Barron AB, 2011: A Quantitative Model of Honey Bee Colony Population Dynamics, PLoS ONE 6(4): e18491. doi:10.1371/ journal.pone.0018491
- Kievits J, Dermine M, Lortsch JA, Mouret C and Simon-Delso N, 2012: Assessment of pesticides risk for bees: methods for PNEC measurements, Julius-Kühn Archiv 437: 45-54
- Kimmel, S., Kuhn, J., Harst, W., Stever, H., 2007: Electromagnetic Radiation: Influences on Honeybees (*Apis mellifera*), published online: http://www.hese-project.org/hese-uk/en/papers/kimmel_iaas_2007.pdf
- Klein A-M, Vaissière B, Cane JH, Steffan-Deventer I, Cunningham SA, Kremen C and Tscharnke T, 2007: Importance of pollinators in changing landscapes for world crops, Proc. R. Soc. B 274: 303-313
- Klittich CJR, Green FR III, Ruiz JM, Weglarz T and Blakeslee BA, 2008: Assessment of fungicide systemicity in wheat using LC-MS/MS, Pest Manag Sci 64: 1267-1277
- Kremen C, Williams NM and Thorp RW, 2002: Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification, PNAS 99 (26): 16812-16816
- Krohn PW et al., 2008: US Patent, US 2008/0261811 A1 (synergies betalaxyl M – metalaxyl M and neonicotinoids, available online: <http://www.faqs.org/patents/app/20080261811>
- Kuwabara M, 1957 : Bildung eines bedingten Reflexes von PAVLOVs Typus bei der Honigbiene, *Apis mellifica*, J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI Zool. 13 : 458-464
- Kuwabara M, 1957: Bildung des bedingten Reflexes von Pavlovs Typus bei der Honigbiene, *Apis mellifica*, 北海道大學理學部紀要, Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University Series VI. ZOOLOGY, 13(1-4): 458-464
- Lambert O, 2012: Contamination chimique de matrices apicoles au sein de ruchers appartenant à des structures paysagères différentes, Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France, accessible en ligne: <http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00833765>
- Lambin M, Armengaud C, Raymond S and Gauthier M, 2001: Imidacloprid-Induced Facilitation of the Proboscis extension Reflex Habituation in the Honeybee, Archives of Insect Biochemistry and Physiology 48: 129-134
- Lautenbach S, Seppelt R, Liebscher J, Dormann CF, 2012: Spatial and Temporal Trends of Global Pollination Benefit, PLoS ONE 7(4): e35954. doi:10.1371/ journal.pone.0035954
- Laycock I, Lenthall KM, Baratt AT and Cresswell JE, 2012: Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*), Ecotoxicology, published online, DOI 10.1007/s10646-012-0927-y
- Le Conte Y, Mohammedi A and Robinson GE, 2001: Primer effects of a brood pheromone on honeybee behavioural development, Proc. R. Soc. Lond. B 268: 163-168
- Leita L, Muhlbachova G, Cesco S, Barbattini R and Mondini C, 1996: Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination, Environmental Monitoring and Assessment 45: 1-9
- Leoncini I, Le Conte Y, Costagliola G, Plettner E, Toth AL, Wang M, Huang Z, Jean-Marc Bécard JM, Crauser D, Slessor KN, and Robinson GE, 2004: Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees, PNAS 101 (50): 17559-17564
- Lorenz K, 1954: Psychologie et phylogenèse, in Trois essais sur le comportement animal et humain, Seuil éd., 1970

- Losey JE and Vaughan M, 2006: The economic value of ecological services provided by insects, *BioScience* 56: 311–323
- Madras-Majewska B and Jasiński S, 2003 : Lead Content Of Bees, Brood And Bee Products From Different Regions Of Poland, *Journal of Apicultural Science* 47(2): 47-54
- Madras-Majewska B and Jasiński Z, 2005: The Content Of Mercury In Honeybee Body Originating From Different Region Of Poland, *ISAH – Warsaw 2* : 497-500
- Marzaro M, Vivan L, Targa A, Mazzon L, Mori N *et al.* 2011: Lethal aerial powdering of honey bees with neonicotinoids from fragments of maize seed coat. *Bull. Insectol.* 64: 119-126
- Maxim L and van der Sluijs J, 2010: Expert explanations of honeybee losses in areas of extensive agriculture in France: Gaucho® compared with others supposed causal factors, *Environ. Res. Lett.* 5: 014006 (12pp) - doi:10.1088/1748-9326/5/1/014006
- Menzel R and Giurfa M, 2001: Cognitive architecture of a mini-brain: the honeybee, review, *Trends in Cognitive Sciences* 5(2): 62-71
- Menzel R, 1999: Memory dynamics in the honeybee, *J Comp Physiol A* 185: 323–340
- Menzel R, 2012: The honeybee as a model for understanding the basis of cognition, Review, *Nature* 13: 758-768
- Menzel R, Leboulle G, Eisenhardt D, 2006: Small brains, bright minds. *Cell* 124: 237–239
- Michener CD (2007) *The Bees of the World*, 2nd edn. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.
- Michez D, 2006: La nouvelle classification des abeilles (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) ou la chute de l'abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal, *Osmia* 1:23-26
- Millor J, Pham-Delègue M, Deneubourg JL and Camazine S, 1999: Self-organized defensive behavior in honeybees, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 12611–12615
- Mommaerts V, Sterk G and Smagghe G, 2010: *Bumblebees and neonicotinoids: a bioassay to evaluate sublethal effects on foraging behavior*, *Proc. Neth. Entomol. Soc. Meet.* 21: 19-27
- Morandin LA and Winston ML, 2003: Effects of Novel Pesticides on Bumble Bee (Hymenoptera: Apidae) Colony Health and Foraging Ability, *Environ. Entomol.* 32(3): 555-563
- Moritz RFA, Kraus FB, Kryger P and Crewe RM, 2007 : The size of wild honeybee populations (*Apis mellifera*) and its implications for the conservation of honeybees, *Journal of Insect Conservation* 11 (4): 391-397
- Müller A and Kuhlmann M, 2008 : Pollen hosts of western palaeartic bees of the genus *Colletes* (Hymenoptera: Colletidae): the Asteraceae paradox, *Biological Journal of the Linnean Society* 95: 719–733
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashkraft S, Simonds R, vanEngeldorp D and Pettis JS, 2010: High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health. *PLoS ONE* doi:10.1371/journal.pone.0009754
- Münch D et Amdam GV, 2010: The curious case of aging plasticity in honey bees, *FEBS Lett.*, doi:10.1016/j.febslet.2010.04.007
- Münch D, Kreibich CD and Amdam1GV, 2013 : Aging and its modulation in a long-lived worker caste of the honey bee, *The Journal of Experimental Biology* 216: 1638-1649
- Münch D, Kreibich CD et Amdam1GV, 2013 : Aging and its modulation in a long-lived worker caste of the honey bee, *The Journal of Experimental Biology* 216: 1638-1649

- NAS, 1991 : Animals as Sentinels of Environmental Health Hazards, Natinal Academy of Sciences, Committee on Animals as Monitors of Environmental Hazards, Board on Environmental Studies and Toxicology and National Research Council, National Academies Press, ISBN: 0-309-59489-8, 176 pp.
- Neumann P and Carreck NL, 2010: Honey bee colony losses, *Journal of Apicultural Research* 49(1): 1-6
- Nguyen BK, Saegerman C and Haubruge E, 2008: Etude sur la contamination des miels par *Paenibacillus larvae* en Région wallonne et relation avec l'expression clinique de la loque américaine dans les colonies d'abeilles domestiques, *Ann. Méd. Vét.* 153: 219-223
- Nicolson SW, 2008: Water homeostasis in bees, with the emphasis on sociality, Review, *The Journal of Experimental Biology* 212: 429-434
- Oldroyd BP, 2012 : Domestication of honey bees was associated with expansion of genetic diversity, *Molecular Ecology* 21 : 4409-4411
- Ollerton J, Winfree R and Tarrant S, 2011: How many flowering plants are pollinated by animals?, *Oikos* 120: 321-326, doi: 10.1111/j
- Oomen PA, De Ruijter A, Van Der Steen, 1992: Method for honeybee brood feeding tests with insect growth-regulating insecticides, *OEPP/EPPO Bulletin* 22: 613-616
- Otterstatter MC and Thomson JD, 2008: Does Pathogen Spillover from Commercially Reared Bumble Bees Threaten Wild Pollinators?. *PLoS ONE* 3(7): e2771. doi:10.1371/journal.pone.0002771.
- Owens Ch, 1971: The thermology of wintering honey bee colonies, Technical Bulletin n° 1429, Agricultural Resaerch Service, USDA
- Paini DR, 2004 : Impact of the introduced honey bee (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae) on native bees: A review, *Austral Ecology* 29 (4) : 399-407
- Pankiw T, 2004: Brood Pheromone Regulates Foraging Activity of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae), *J. Econ. Entomol.* 97(3): 748-751
- Papaefthimiou C and Theophilidis G, 2001: The Cardiotoxic Action of the Pyrethroid Insecticide Deltamethrin, the Azole Fungicide Prochloraz, and Their Synergy on the Semi-Isolated Heart of the Bee *Apis mellifera macedonica*, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 69: 77-91
- Parker R, Melathopoulos AP, White R, Pernal SF, Guarna MM and Foster LJ, 2010 : Ecological Adaptation of Diverse Honey Bee (*Apis mellifera*) Populations, *PLoS ONE* 5(6): 1-12
- Pasquet RS, Peltier A, Hufford MB, Oudin E *et al.*, 2008: Long-distance pollen flow assessment through evaluation of pollinator foraging range suggests transgene escape distances, *PNAS* 105(36): 13456-13461
- Peeters M, Schlessers M, Réveillon A, Franklin A, Collin Cl & Van Goethem J, 2006 : La biodiversité en Belgique: un aperçu. Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, Bruxelles, 20 pp.
- Pernal SF, Sewalem A and Melthopoulos AP, 2012: Breeding for hygienic behaviour in honeybees (*Apis mellifera*) using free-mated nucleus colonies, *Apidologie* 43:403-416
- Petersen JD, Reiners S and Nault BA, 2013: Pollination Services Provided by Bees in Pumpkin Fields Supplemented with Either *Apis mellifera* or *Bombus impatiens* or Not Supplemented. *PLoS ONE* 8(7): e69819. doi:10.1371/journal.pone.0069819
- Pettis JS, vanEngelsdorp D, Johnson J and Dively G, 2012: Pesticide exposure in honey bees

results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*, *Naturwissenschaften* - DOI 10.1007/s00114-011-0881-1

Pilling ED and Jepson PC, 1993: Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*), *Pesti.Sci.* 39: 293-297

Pistorius J, Brobyn T, Campbell P, Forster *et al.*, 2012: Assessment of risks to honey bees posed by guttation, *Julius-Kühn Archiv* 437: 199-208

Porrini C, Sabatini AG, Girotti S, Ghini S, Medrzycki P, Grillenzoni F, Borlotti L, Gattavechia E and Celli G, 2003: Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination, *Apiacta* 38: 63-70

Rader R, Howlett BG, Cunningham SA, Westcott DA, Newstrom-Lloyd LE, Walker MK, Teulon DAJ. and Edwards W, 2009: Alternative Pollinator Taxa are Equally Efficient but not as Effective as the Honeybee in a Mass-flowering Crop, *Journal of Applied Ecology* 46: 1080-1087

Ramirez-Romero R, Chaufaux J and Pham-Délègue MH, 2005: Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach, *Apidologie* 36: 601-611

Rasmont P, Pauly A, Terzo M, Patiny S, Michez D, Iserbyt S, Barbier Y and Haubruge E, 2005: The survey of wild bees (Hymenoptera, Apoidea) in Belgium and France, in: *Status of the World's Pollinators*, Rome, Food and Agriculture Organisation of the United Nations: 18 pp.

Rath NC, Rasaputra KS, Liyanage R, Huff GR and Huff WE, 2011 : Dithiocarbamate Toxicity - An Appraisal, *Pesticides in the Modern World - Effects of Pesticides Exposure*, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-454-2, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-effects-of-pesticides-exposure/dithiocarbamate-toxicity-an-appraisal>

Rath W, 1999: Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud, *Apidologie* 30: 97-110

Ravoet J, Maharramov J, Meeus I, De Smet L, Wenseleers T *et al.*, 2013: Comprehensive Bee Pathogen Screening in Belgium Reveals *Crithidia mellificae* as a New Contributory Factor to Winter Mortality, *PLoS ONE* 8(8): e72443. doi:10.1371/journal.pone.0072443

Reetz JE, Zühlke S, Spittler M and Wallner K, 2011: Neonicotinoid insecticides translocated in guttated droplets of seed-treated maize and wheat: a threat to honeybees? *Apidologie* 42: 596-606

Reyes-Carillo JL and Gallardo RO: Las abejas melíferas biomonitores de metales pesados en el aire, *Biblioteca Dr. Egidio G. Rebonato*, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Mexico, 5 pp.

Rieth JP, 1986 : The repellent effect of pyrethrinoids insecticides on honey bees, *Physiological Entomology* 13(2): 213-218

Rodríguez García JC, Iglesias Rodríguez R, Peña Crecente RM, Barciela García, García Martín S and Herrero Latorre C, 2006 : Preliminary Chemometric Study on the Use of Honey as an Environmental Marker in Galicia (Northwestern Spain), *J. Agric. Food Chem.* 54(19): 7206-7212

Roevros N, Wauthier W, Vanderborgt JP and Loijens M, 2004: Etude préliminaire et de faisabilité sur la pertinence de l'utilisation de l'abeille comme bio-indicateur de la pollution à Bruxelles, note de synthèse, Université libre de Bruxelles, note publiée sur le site ISSUU.com : http://issuu.com/api-bxl/docs/etude_pollution (consultation 13 août 2013)

- Roman A, 2010: Levels of Copper, Selenium, Lead, and Cadmium in Forager Bees, Polish J. of Environ. Stud. 19(3): 663-669
- Romanelli A, Moggio L., Montella R.C. et al., 2011. Peptides from royal jelly: studies on the antimicrobial activity of jelleins, jelleins analogs and synergy with temporins. J. Pept. Sci. 17: 348-352
- Rortais A, Arnold G, Halm MP and Touffet-Briens F, 2005: Modes of honeybees exposure to systemic insecticides : estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees, Apidologie 36: 71-83
- Rucker RR, Thurman WN and Burgett M, 2012: Honey bee pollination markets and the internalization of reciprocal benefits, Amer. J. Agr. Econ. 94(4): 956-977; doi: 10.1093/ajae/aas031
- Ruijter A. de, Steen J. van der (1987) A field study on the effect on honey bee brood of Insegar (fenoxycarb) applied on blooming apple orchard, Apidologie 18, 355-357
- Ruttner F, Tassencourt L and Louveaux J, 1978: Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L., Apidologie 9: 363-381
- Sadeghi A, Mozafari AA, Reza Bahmani R and Shokri K, 2012: Use of Honeybees as Bio-Indicators of Environmental Pollution In the Kurdistan Province of Iran, Journal of Apicultural Science 56(2): 83-88
- SANCO 2002: Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/10329/2002 rev 2 final, 17 October 2002
- Schiro J, 2002: Affaiblissement des colonies d'abeilles, maladies ou intoxication? Intervention à la journée scientifique de l'AFSSA: Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles: constat par les professionnels de l'apiculture, Maisons-Alfort, 10 septembre 2002
- Schmickl T and Crailsheim K, 2001: Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages, J Comp Physiol A 187: 541-547
- Schmid MR, Brockmann A, Pirk CWW, Stanley DW and Tautz J, 2008 : Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic but not phenoloxidase-based immunity, Journal of insect physiology, 54 (2), 439-444
- Schmid-Hempel P, 1987: Efficient nectar-collecting by honeybees 1. Economic models, Journal of Animal Ecology 56: 209-218
- Sharma VP and Kumar NR, 2010: Changes in honeybee behaviour and biology under the influence of cellphone radiations, Current Science 98(10): 1376-1378
- Schneider CW, Tautz J, Gruenewald B and Fuchs S, 2012: RFID Tracking of Sublethal Effects of Two Neonicotinoid Insecticides on the Foraging Behavior of *Apis mellifera*. PLoS ONE 7(1): e30023. doi:10.1371/journal.pone.0030023
- Schneider SS and Lewis LA, 2004 : The vibration signal, modulatory communication and the organization of labor in honey bees, *Apis mellifera*. Review article, Apidologie 35: 117-131
- Schöning C, Gisder S, Geiselhardt S, Kretschmann I, Bienefeld K, Hilker H and Genersch E, 2012: Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards *Varroa destructor*-parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*, The Journal of Experimental Biology 215: 264-271
- Scott-Dupree CD, Conroy L and Harris CR, 2009: Impact of Currently Used or Potentially Useful Insecticides for Canola Agroecosystems on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae),

Megachile rotundata (Hymenoptera: Megachilidae), and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae), J. Econ. Entomol. 102(1): 177-182

Seeley T, 1992: The tremble dance of the honeybee: messages and meaning, Behav Ecol Sociobiol (1992) 31: 375-383

Seeley TD, 1985: Honeybee ecology, A study of adaptation in social life, Princeton University Press, Princeton, 216 pp.

Seeley TD, Camazine S and Sneyd J, 1991 : Collective decision-making in honey bees : how colonies choose among nectar sources, Behav Ecol Sociobiol 28 : 277 – 290

Sgolastra F, Renzi T, Draghetti S, Medrzycki P, Lodesani M, Maini S, Porrini C, 2012: Effects of neonicotinoid dust from maize seed-dressing on honey bees, Bulletin of Insectology 65 (2): 273-280

Sharma D and Abrol DP, 2005: Contact Toxicity of Some Insecticides to Honeybee *Apis mellifera* (L.) and *Apis cerana* (F.), J. Asia-Pacific Entomol. 8(1): 113-115.

Shavit O, Dafni A and Ne'eman G, 2009: Competition between honeybees (*Apis mellifera*) and native solitary bees in the Mediterranean region of Israel—Implications for conservation, Israel Journal of Plant Sciences 57: 171–183

Shawki MA-A, Titéra D, Kazda J, Kohoutková J, Táborský V, 2006: Toxicity to honeybees of water guttation and dew collected from winter rape treated with Nurelle D®. Plant Protect. Sci., 42: 9–14

Shemesh Y, Eban-Rothschild A, Cohen M and Bloch G, 2010: Molecular Dynamics and Social Regulation of Context- Dependent Plasticity in the Circadian Clockwork of the Honey Bee, The Journal of Neuroscience 30(37): 12517–12525

Simmons MA, Bromenshenk JJ and Gudatis JL, 1990: Honeybees as monitors of Low Levels of Radioactivity, Pacific Northwest Laboratory Operated for the U.S. Department of Energy by Battelle Memorial Institute, July 1990, 22pp.

SPF SPSCAE 2012 : La santé des abeilles, notre santé aussi, actions additionnelles 2012-2014, Service public fédéral Santé publique, sécurité de la chaîne alimentaire et environnement, 23 octobre 2012

Stoner A, Rhodes HA and Wilson WT, 1979 : Case Histories of the effects of Microencapsuled Methyl Parathion (Pennacp-M®) Applied to Fields Near Honey Bee Colonies, American Bee Journal, September 1979 : 648-652

Stoner A, Sonnet PE, Wilson WT and Rhodes HA, 1978: Pennacp-M Collection by Honey Bees, American Bee Journal, March 1978: 154-155

Suryanarayanan S and Kleinman D, 2013: Be(e)coming Experts: The Controversy Over Insecticides in the Honey Bee Colony Collapse Disorder, Social Studies of Science, DOI: 10.1177/0306312712466186, published online: <http://sss.sagepub.com/content/early/2013/01/07/0306312712466186>

Tapparo A, Giorio C, Marzaro M, Marton D, Solda L and Girolami V, 2011: Rapid analysis of neonicotinoid insecticides in guttation drops of corn seedlings obtained from coated seeds, J Environ Monit. 13(6):1564-1568, published online: http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/Tapparo_2011_c1em10085h.pdf

Tapparo A, Marton D, Giorio C, Zanella A, Solda L, Marzaro M, Vivan L and Girolami V, 2012: Assessment of the environmental exposure of honeybees to particulate matter containing neonicotinoid insecticides coming from corn coated seeds, Environ. Sci. Technol. 46(5): 2592–2599

- Tasei JN, 2001: Effects of insect growth regulators on honey bees and non-*Apis* bees. A review, *Apidologie* 32: 527-545
- Taséi JN, Carré S, Moscatelli B and Grondeau C, 1988: Recherche de la DL50 de la deltaméthrine (Décis) chez *Megachile rotundata* F., abeille pollinisatrice de la luzerne (*Medicago sativa* L.) et des effets des doses infraléthales sur les adultes et les larves, *Apidologie* 19(3): 291-306.
- Tautz J, 2009: L'étonnante abeille, De Boeck éd.
- Taylor KS, Waller GD and Crowder LA, 1987: Impairment of a classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides, *Apidologie* 18 (3): 243-252
- Teeters BS, Johnson RM, Ellis MD and Siegfried BD, 2012: Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.), *Environ Toxicol Chem.* 2012 31(6):1349-1354.
- Terzić L, Krunic M, Stanisavljević L, Brajković M, Tomanović Ž, 2000 : Air pollution of melliferous plants with arsenic : a constant cause of mass killing honeybees, *Acta biologica iugoslavica - serija D: Ekologija* 35(2): 115-121
- Terzo M and Rasmont P, 2007: Abeilles sauvages, bourdons et autres insectes pollinisateurs, les livrets de l'agriculture 14, DGA, Ministère de la Région wallonne, 64 pp., brochure accessible sur internet: http://www.zoologie.umh.ac.be/hymenoptera/biblio_zoo.asp?author=terzo.
- The Honeybee Genome Sequencing Consortium, 2006: Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*, *Nature* 443: 931 – 949
- Thorp RW, 1979 ; Structural, behavioral and physiological adaptation of bees (Apidae) for collecting pollen, *Ann. Missouri Bot. Gard.* 66: 788-812
- Tomisawa M and Casida JE, 2005: Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45: 247-268
- Tonelli D, Gattavecchia E, Porrini C, Celli G and Mercuri AM, 1990: Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 141(2): 427-436
- USDA 2012 : report on the National Stakeholders Conference on Honeybee Health, National Honey Bee Health Stakeholder Conference Steering Committee. Ce rapport est disponible sur Internet : <http://www.usda.gov/documents/ReportHoneyBeeHealth.pdf> (consultation le 12 juillet 2013)
- Vaknin Y, Gan-mor S, Bechar A, Ronen B and Eisikowitch D, 2001 : Are flowers morphologically adapted to take advantage of electrostatic forces in pollination?, *New Phytologist* 152: 301-306
- Valdovinos-Núñez GR, Quezada-Euán JJ, Ancona-Xiu P, Mioo-Valle H, Carmona A and Ruiz-Sánchez E, 2009: *Comparative toxicity of pesticides to stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini)*, *J. Econ. Entomol.* 102 (5): 1737-1742
- Van Heemert C, 1986: Onverwachten effecten bij een nieuw type bestrijdingsmiddel in de fruitteelt, *Bijenteelt VBBN* 9: 249
- Van Nerum K and Buelens H, 1997: Hypoxia-controlled Winter Metabolism in honeybees (*Apis mellifera*), *Comp. Biochem. Physiol.* 117 A (4): 445-455
- Vandame R, et Belzunces LP, 1998: Joint actions of deltamethrin and azole fungicides on honey bee thermoregulation, *Neuroscience Letters* 251(1): 57-60

- Vandame R, Meled M, Colin ME, Belzunces LP, 1995: Alteration of the homing-flight in the honeybee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environ. Toxicol. Chem.* 14: 855-860
- van der Steen MJM, de Kraker J and Grotenhuis T, 2012: Spatial and temporal variation of metal concentrations in adult honeybees (*Apis mellifera* L.), *Environ Monit Assess* 184: 4119–4126
- vanEngelsdorp D, Evans JD, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, et al., 2009: Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study, *PLoS ONE* 4(8): e6481. doi:10.1371/journal.pone.0006481
- Velemínský M, Láznička P and Starý P, Honeybees (*Apis mellifera*) as environmental monitors of heavy metals in Czechoslovakia, *Journal Acta Entomologica Bohemoslovaca* 87(1): 37-44
- Vidau C, Paris L, Viguès B, Aufauvre J, Fontbonne R, Blot N, Diogon M, Texier C, El Alaoui H, Brunet JL, Belzunces LP et Delbac F, 2011 : Effets d'une infection par *Nosema ceranae* sur la sensibilité des abeilles à des doses sublétales de fipronil et de thiaclopride in Jean-Marie Barbaçon et Monique L'Hostis, Ed., *Journée Scientifique Apicole*, Arles, 11 février 2011, pp 28-34
- Villa S, Vighi M, Finizio A, Bolchi Serini G, 2000: Risk assessment for honeybees from pesticide-exposed pollen, *Ecotoxicology* 9: 287-297
- Visser A and Blacquièrre T, 2010: Survival rate of honeybee (*Apis mellifera*) workers after exposure to sublethal concentrations of imidacloprid, *Proc. Neth. Entomol. Soc. Meet.* 21: 29-34
- Wallner K, 2009: Sprayed and seed dressed pesticides in pollen, nectar and honey of oilseed rape. *Julius Kühn-Archiv* 423: 152-153
- Watmough J and Camazine S, 1995: Self-organized thermoregulation in honey bee clusters, *J. theor. Biol.* 176: 391–402
- Weinstock GM, Robinson GE, Gibbs RA, Weinstock GM, Weinstock GM et al (2006) Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature* 443(7114): 931–949
- Wiest L, BuletéA, Giroud B, Fratta C, Amic S, Lambert O, Pouliquen H, Arnaudguilhem C, 2011: Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 1218: 5743–5756
- Whitehorn PR, O'Connor S, Wackers FL and Goulson D, 2012: Neonicotinoid pesticide reduces bumblebee colony growth and queen production, *Science* 336: 351–352.\$
- Whitfield CW et al., 2006: Thrice Out of Africa: Ancient and Recent Expansions of the Honey Bee, *Apis mellifera*, *Science* 314: 642-645.\$
- Wilson WT and Menapace DM, 1979: Etude de la maladie de la disparition aux USA, article publié en français sur le site d'Apiservices: http://www.beekeeping.com/spmf/sapmp/maladie_disparition_usa.htm (consultation le 18 mai 2009), traduction d'un article paru dans l'*American Bee Journal*, février-mars 1979
- Wilson-Rich N, Spivak M, Fefferman NH and Starks PhT, 2009 : Genetic, individual and group facilitation of disease résistance in insect societies, *Ann. Rev. Entomol.* 54: 405–423
- Wu JY, Smart MD, Anelli CM and Sheppard WS, 2012: Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection, *J. Invertebr. Pathol.* 109(3): 326-329

Yang X and Cox-Foster DL, 2005: Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification, *PNAS* **102**: 7470–7475

Zacharias MA and Roff JC, 2001: Use of focal species in marine conservation and management: a review and critique, *Aquatic Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 11: 59–76

Zeder MA, Emshwiller E, Smith BD, Bradley DG, 2006: Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology, *Trends in Genetics* 22: 139–155

Zenhua X, 2011: Managed honeybee colonies and honey production in China grew during the last decade, *Journal of Apiculture Science*, 55(1): 77-85



Editie

Oktober 2013

Samenstelling

Wetenschappelijke publicatie geschreven door Janine Kevits (Natuur & Voortgang)
Samenwerking tussen Natuur & Voortgang en Federale Overheidsdienst Volksgezondheid,
Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu

Lay-out

Véronique Lux

Voor

FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu - www.info-abeilles.com
Natuur & Progress - www.natpro.be

Verantwoordelijke uitgever

Dirk Cuypers - SPF Santé publique, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu
Victor Hortaplein 40 bte 10 - 1060 Bruxelles

Wettelijk depot

D/2013/2196/65



