

Was Perizin wel zo goed als werd verondersteld?

door Dr. Nicole van Buren

In Nederland was het meest-gebruikte bestrijdingsmiddel tegen de varroamijt Perizin, met als actieve stof coumaphos. Voordat het middel op de markt werd toegelaten is er slechts weinig onderzoek verricht naar de verspreiding van het middel in het bijenvolk en de vorming van residuen in was en honing. De auteur heeft gedurende een aantal jaren intensief onderzoek naar de werking van Perizin verricht en promoveerde onlangs op het proefschrift getiteld 'Bijen, mijten en Perizin, de implicaties van een chemische bestrijdingsmethode'. De resultaten zijn samengevat in onderstaand artikel en de conclusies zijn verrassend.

Economische overwegingen

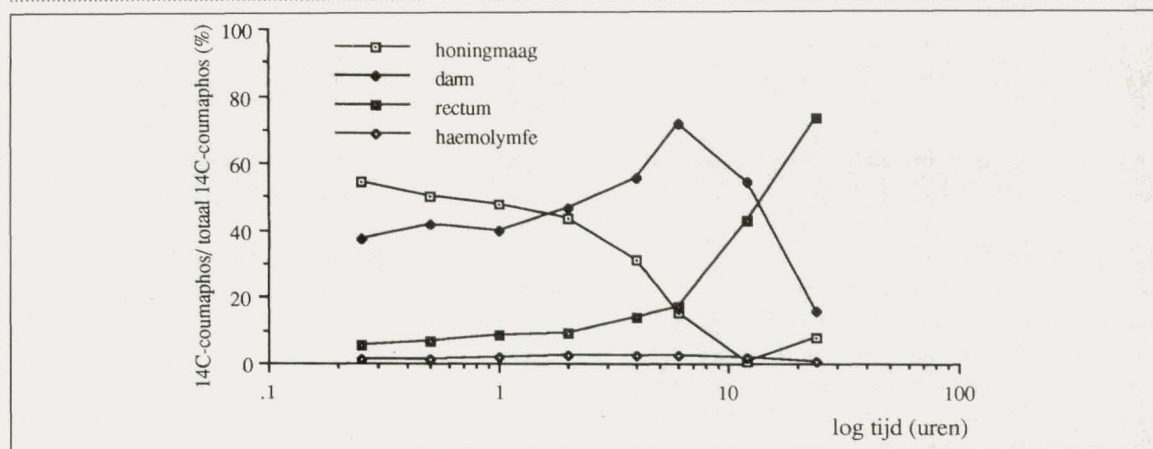
De meeste bestrijdingsmiddelen, die nu op de markt zijn ter bestrijding van de varroamijt, werden reeds veelvuldig gebruikt ter bestrijding van andere parasieten. Geen enkel middel werd speciaal ontwikkeld voor het bestrijden van varroamijten in een bijenkolonie. Economische overwegingen liggen hieraan ten grondslag. Echter het bestrijden van mijten in een bijenkolonie is iets geheel anders dan het bestrijden van ectoparasieten op fruit of vee. Het is voorstelbaar dat de fysiologie van insecten verschilt van die van zoogdieren. De fabrikanten beweren echter dat sommige middelen speciaal ontwikkeld werden om systemisch of als contactgif te werken en/of via trofallaxis (voedseluitwisseling) verspreid te worden. Dit zijn eigenschappen van stoffen die inspelen op de speciale kenmerken van een bijenkolonie. Onderzoek naar deze eigenschappen is slechts in geringe mate verricht. Het is van essentieel belang die eigenschappen van een kolonie te gebruiken die de effectiviteit van het bestrijdingsmiddel verhogen. In dit onderzoek werd onderzocht of bij de toepassing van één van de middelen, Perizin, werkelijk gebruik gemaakt wordt van de eigenschappen van een bijenkolonie zoals wordt verondersteld. Het onderzoek had als doel een bijdrage te leveren aan het ontrafelen van de werking van dit mijtenbestrijdingsmiddel, waarvan door de fabrikant gezegd wordt dat het systemisch werkt en via trofallactische interacties verspreid wordt. Daarnaast werd onderzocht of er sprake is van residuvorming van het middel in honing en was.

Perizin, verspreiding en effecten

De mogelijkheid van systemische werking van Perizin en de mogelijkheid van verspreiding van dit middel door middel van trofallaxis werd onderzocht. Wanneer Perizin systemisch werkt betekent dit dat het oraal (via de mond) door de bij wordt opgenomen en daarna in het bijenbloed terecht komt, zodat de mijt het kan opnemen bij het opzuigen van het bloed. Het doorgeven van Perizin van bij tot bij kan alleen plaatsvinden wanneer deze stof in de honingmaag aanwezig is. Onderzocht is hoe het Perizin, of beter gezegd de actieve stof, coumaphos, in verschillende organen van het bijenlichaam terechtkomt. Daartoe werden bijen individueel gevoerd met een radioactief gemerkte Perizin-oplossing. De hoeveelheid coumaphos in honingmaag, darm, rectum en bloed werd bepaald in de tijd. Voor het bepalen van de hoeveelheid coumaphos in het bloed is eerst het bloedvolume van elke bij apart gemeten. Tijdens deze metingen waren er aanwijzingen dat Perizin het bloedvolume beïnvloedde. Daarom werd bepaald of het bloedvolume van de bij verandert na opname van Perizin. Het blijkt dat na 15 minuten nog slechts 45 % van het totaal teruggevonden coumaphos in de honingmaag aanwezig is. Dat betekent dat reeds 55 % van de stof is doorgesluisd naar de darm. Coumaphos wordt teruggevonden in kleine hoeveelheden in het bloed. De maximaal gevonden hoeveelheid bedraagt ongeveer 3 % van de totale hoeveelheid teruggevonden coumaphos in de bij. Na 12 uren wordt geen coumaphos meer in de honingmaag aangetroffen. Na deze periode is dus geen uitwisseling van coumaphos tussen de bijen onderling meer mogelijk (Figuur 1). Het bloedvolume blijkt toe te nemen wanneer bijen gevoerd worden met Perizin. Een mogelijke verklaring is dat Perizin de darmwand aantast waardoor vocht uit de darmen het open bloedvatstelsel kan binnendringen.

Voor het verkrijgen van gegevens over de toxiciteit van Perizin voor bijen zijn LD50-waarden (doses van coumaphos waarbij 50 % van de dieren dood is na 24 uren) bepaald voor bijen van 3, 8 en 14 dagen oud. De letale dosis voor jonge bijen (6 mg/bij) ligt 3 keer hoger dan die voor 8 en 14 dagen oude bijen (2 mg/bij). Dat wil dus zeggen dat jonge bijen minder

VARROA BESTRIJDING



Figuur 1. De hoeveelheid ^{14}C -coumaphos in elk orgaan gedeeld door de totale hoeveelheid ^{14}C -coumaphos teruggevonden in de honingmaag, darm, rectum en haemolymfe (%) van individuele honingbijen die 10ml van een Perizin-oplossing gevoerd hebben gekregen op verschillende tijden na het voeren (uren) (de x-as is logaritmisch).

200

gevoelig zijn voor Perizin dan oude bijen. Geconcludeerd kan worden dat coumaphos als een systemisch middel kan werken en tevens gedurende een aantal uren na opname verspreid kan worden door middel van trofallaxis. Omdat de hoeveelheid in het bloed zo gering is, valt te verwachten dat de mijten ook gedood worden door het direct opnemen van coumaphos dat aanwezig is op de raten en op de buitenkant van de bijen.

Voedseldistributie in honingbijkolonies

De effectiviteit van Perizin berust op de verdeling van het middel over en door de bijen van de kolonie. Wanneer alle bijen het Perizin binnenkrijgen kunnen ook alle mijten bereikt worden. De werking van Perizin is dus afhankelijk van de effectiviteit van voedselverspreiding in een bijenkolonie. Moritz (1982) heeft aangetoond dat de distributiepatronen beïnvloed worden door de toegediende hoeveelheid van een bestrijdingsmiddel en de tijd van het jaar waarin het middel wordt toegediend. Onderzocht werd of de manier waarop het middel wordt toegediend invloed heeft op de verspreiding ervan in het volk. Twee methoden van toediening werden getest, te weten het geven van een Perizin-suikeroplossing in een voedselpot op het volk en het besprenkelen van het volk met een Perizin-wateroplossing.

De eerste methode, het voeren van Perizin door mengen met suikerwater, sluit aan op door de imkers veelvuldig gebruikte manier voor het inwinteren van volken. De tweede methode werd voorgeschreven door Bayer AG. Voor het analyseren van beide methoden is een oplossing van de kleurstof methyleenblauw in plaats van een Perizinoplossing gebruikt. Uit van te

voren uitgevoerde experimenten bleek dat deze kleurstof gebruikt kan worden als een tracer (spoorstof) voor Perizin. Deze kleurstof is gemakkelijker terug te vinden dan het Perizin. Drie experimenten werden uitgevoerd met bijenvolken, waarin iedere leeftijdsklasse met een aparte kleur was gemerkt:

Bij experiment 1 werden drie volken in mei gevoerd met een methyleenblauw-suikeroplossing. Na 3, 6 resp. 12 uren werden de bijen onderzocht op de hoeveelheid methyleenblauw in de bij en de hoeveelheid aan de buitenzijde van de bij.

Bij experiment 2 werden vier volken in juni besproeid met een methyleenblauw-wateroplossing, na 3, 6, 12 resp. 24 uren werden de bijen onderzocht op de hoeveelheid methyleenblauw in de bij en de hoeveelheid aan de buitenzijde van de bij.

Bij experiment 3 werd één volk besproeid met een methyleenblauw-wateroplossing en gelijktijdig kreeg één volk een methyleenblauw-suikeroplossing in een voedselpot aangeboden, na 3 uren werden de bijen onderzocht op de hoeveelheid methyleenblauw in de bij en aan de buitenzijde van de bij.

Uit de resultaten blijkt dat het besprenkelen van een kolonie zorgt voor een snellere en meer gelijkmatige verdeling van het middel dan wanneer het volk het in een voedselpot krijgt aangeboden. Drie uur na het besprenkelen bevatten alle bijen methyleenblauw, in tegenstelling tot het toedienen via een voedselpot. In het laatste geval bezitten alle bijen pas na 12 uren het middel. Echter de effectiviteit, de hoeveelheid die werkelijk de bijen bereikt, is lager en de vervuiling van toplatten, bijen en raten is groter na besprenkeling.

Drie uur na het plaatsen van een voedselpot werden verschillen in de hoeveelheid methyleenblauw per bij gevonden tussen bijen van uiteenlopende leeftijd.

Oudere bijen blijken meer methyleenblauw te bevatten dan jongere bijen. Na zes uur zijn de verschillen verdwenen. Bij besprenkeling zijn na alle perioden dergelijke verschillen gevonden tussen oude en jonge bijen. De hoeveelheid methyleenblauw per bij is niet veranderd in de loop der tijd in de besprenkelde kolonies. Dit geeft aan dat het effect van voedseluitwisselingen op de verdeling van methyleenblauw gering is wanneer volken besprenkeld worden.

Geconcludeerd kan worden dat niet alleen de toegevoegde hoeveelheid en de periode van het jaar invloed hebben op de distributie van stoffen in het volk, ook de toedieningsmethode zorgt voor verschillen in distributiepatronen.

Systemische activiteit van Perizin

In de vorige paragrafen is aangetoond dat het in principe mogelijk is dat Perizin systemisch werkt; het komt immers in het bloed terecht en alle bijen in een volk kunnen worden bereikt via het besprenkelen met Perizin. De vraag die onbeantwoord blijft is of bij een besprenkeling de mijten het Perizin binnen krijgen via het bloed van de bijen, via het opnemen van het Perizin op bijen of raten of door direct lichaamscontact. Via welke weg nemen de mijten de letale dosis op? De resultaten van de experimenten geven een aanwijzing dat voedseluitwisselingen minder belangrijk zijn. De verdeling van de hoeveelheid methyleenblauw over de bijen van een volk verandert immers niet noemenswaardig na besprenkeling. In een vervolgonderzoek is geprobeerd met drie experimenten deze vraag nader te onderzoeken. De vraag in het eerste experiment is of voedseluitwisselingen nog enige rol spelen in de distributie van het Perizin en de sterftekans voor een varroamijt. Daarvoor zijn kolonies in tweeën gedeeld. Een gedeelte heeft een Perizin-behandeling ondergaan; daarna werden de twee gedeelten, na een zeker tijdsinterval, weer samengevoegd. Na verloop van tijd werd het spijsverteringskanaal van bijen uit het onbehandelde deel onderzocht op de hoeveelheid coumaphos. De resultaten in dit onderdeel geven aan dat Perizin inderdaad door bijen via voedseluitwisselingen wordt doorgegeven, echter de hoeveelheid is minimaal.

In het tweede experiment stond de vraag centraal of de hoeveelheid coumaphos, aanwezig na een behandeling met Perizin, in het bloed letaal is voor de mijten. Bijenvolken zijn daarvoor ontdaan van hun raten en hebben een suikeroplossing met Perizin

gevoerd gekregen. Op deze manier is het voor de mijten alleen mogelijk om Perizin op te nemen via het bloed van de bijen. Uit deze proef is naar voren gekomen dat het mogelijk is om alle mijten via een systemische werking van Perizin te doden.

In een laatste experiment werden de vragen behorende bij de eerste twee experimenten gecombineerd. Hiervoor werden twee kolonies in drieën gedeeld door twee gazen wanden in de kast. Een dergelijke wand verhindert dat bijen door elkaar kunnen lopen, echter trofallactische interacties zijn wel mogelijk. Een deel van het volk heeft Perizin toegediend gekregen via besprenkeling. Na verloop van tijd werd in alle drie de compartimenten mijtenval geregistreerd. Ook werd in alle drie de compartimenten na verschillende tijdsintervallen het spijsverteringskanaal van bijen onderzocht op de hoeveelheid coumaphos. Deze proef geeft hetzelfde beeld als de eerdere twee. Alleen in het besprenkelde compartiment is de hoeveelheid coumaphos hoog genoeg om alle mijten te doden. In de andere compartimenten is wel coumaphos in de bijen gevonden; echter de hoeveelheid is zeer gering. De mijtenval bedraagt in deze compartimenten 2-34 %.

De resultaten van deze proeven tonen aan dat slechts 24 % van de Perizinoplossing terug te vinden is in de bijen. De rest moet zich dus ergens anders bevinden: op raten, toplatten of aan de buitenkant van de bijen. Geconcludeerd kan worden dat Perizin inderdaad systemisch werkt, en bovendien dat voedseluitwisselingen slechts van geringe betekenis zijn. Bovendien komt 76 % van de actieve stof niet in de bijen terecht, maar op de buitenkant van de bijen en op de raten. Door deze vervuiling van bijen en raten wordt mogelijk ook sterfte van mijten veroorzaakt, als gevolg van het door de mijten actief opzuigen van Perizin. Daarnaast leidt dit tot vervuiling van was.

Residuen in honing en was

Vanwege het feit dat Perizin reeds enkele jaren in Nederland wordt gebruikt is het relevant om de mogelijke residuovorming van Perizin in honing en was te analyseren. Een onderscheid werd gemaakt tussen directe en indirecte vervuiling van honing en was. De vervuiling veroorzaakt door de behandeling zelf, als gevolg van het sproeien, werd als directe vervuiling geclassificeerd. Coumaphosuitscheiding via het produceren van nieuwe was door de bijen zelf wordt indirecte vervuiling genoemd. Voor het bepalen van deze indirecte vervuiling zijn volken kaal gezet (alle ramen werden weggehaald). Via het voeren van een suikeroplossing met Perizin werden de volken gestimuleerd om nieuwe

raten te produceren. Deze raten werden geanalyseerd op de hoeveelheid aanwezige coumaphos.

Oude raten van kolonies die sinds 6 of 18 maanden geen Perizinbehandeling meer hebben ontvangen, bevatten coumaphos (respectievelijk 7 en 1 mg/g was). Zelfs nieuw-geproduceerde was van volken die sinds 6 maanden geen Perizinbehandeling meer hebben ondergaan bevatte coumaphos (ongeveer 10 % van wat er in de oude was is gevonden). De honingmonsters bevatten geen coumaphos. Daarom werd onderzocht of in de honingmonsters coumaphos omgezet wordt in het belangrijkste afbraakproduct chlorferron; echter ook deze stof is afwezig.

Wanneer de volken kaal werden gezet en gevoerd met een Perizin-suikeroplossing dan werd slechts een zeer geringe hoeveelheid Perizin (ongeveer 1 ‰ van de gevoerde hoeveelheid) teruggevonden in de was.

Hiervan was de grootste hoeveelheid Perizin aanwezig in de monsters die genomen zijn binnen één dag na het voeren. Na 3-4 dagen bedroeg de hoeveelheid nog maar 1-5 % van wat er op de eerste dag werd gevonden. Dit betekent dat indirecte vervuiling slechts een zeer geringe rol speelt en dat de vervuiling voornamelijk veroorzaakt wordt door het besproeien van de volken.

Duidelijk is dat was vervuild wordt met coumaphos. Dit betekent dat er continu coumaphos in de kolonie aanwezig is. Wanneer deze hoeveelheid te gering is om mijten te doden, dan is het mogelijk dat deze subletale doses leiden tot het ontstaan van resistentie bij de mijten. Op lange termijn kan dit betekenen dat hogere concentraties nodig zijn voor het bestrijden van de mogelijk geadapteerde mijten. Door het voortdurend hergebruiken van oude was kunnen ook imkers die denken zonder chemische bestrijdingsmiddelen te werken het Perizin in hun volken binnenkrijgen. In 1991 zat in de te koop zijnde kunstraat reeds 0.17 mg coumaphos per gram was.

Conclusie

Het is mogelijk om via de systemische werking van Perizin varroamijten te bestrijden. Echter de hoeveelheid actieve stof die nodig is om tenminste 95 % van de mijten te doden is naar verhouding zeer hoog. Immers drie kwart van de toegediende hoeveelheid wordt niet door de bijen opgenomen. Vervuiling van was met Perizin is dan ook het gevolg. Een andere toedieningsmethode, waarbij dit middel direct in de bijen of bij de mijten terecht komt, geniet dan ook de voorkeur. Bovendien bevindt zich ten hoogste 3 % van de teruggevonden hoeveelheid Perizin in het bloed van de bijen, de rest wordt via de darm, met de ontlasting,

buiten de kast geloosd.

Voedseluitwisselingen spelen bij de verdeling van coumaphos, na besprenkeling, nauwelijks een rol: dit is natuurlijk niet verwonderlijk omdat Perizin in water is opgelost. De drang van de bijen om water door te geven is veel geringer dan wanneer het om suikeroplossingen gaat.

Het is relevant dat er continu onderzoek naar bestrijdingsmiddelen in honing en was plaatsvindt zodat de residuvorming bekend is. Bij invoering van Apistan zou dit meteen moeten worden gerealiseerd. Voor de imker is het belangrijk om te weten of de hoeveelheid actieve stof in de was reeds zo hoog is dat de ontwikkeling van de mijten beïnvloed wordt. Is het bijvoorbeeld mogelijk de behandeling een jaar over te slaan of zijn de mijten al zover geadapteerd dat een hogere dosis moet worden toegediend. Goede registratie is essentieel zolang chemische bestrijdingsmiddelen nodig geacht worden om de varroamijten afdoende te bestrijden. Daarnaast blijft basaal wetenschappelijk onderzoek naar de relatie mijten-bijen belangrijk voor het ontwikkelen van biotechnische methoden en het verbeteren van de wijze van toepassing van chemische bestrijdingsmiddelen.

English summary

Varroa jacobsoni is, in the Netherlands, generally controlled with Perizin, active ingredient coumaphos. The presented paper is a summary of Phd-study (by the author) concerning the distribution of Perizin in the hive and the bees. Furthermore residue formation in wax and honey was investigated. Only little Perizin reached the hemolymph after sprinkling a solution on the combs occupied by bees. Most of the Perizin is found on the combs and thereby mites are predominantly killed through pollution of the combs. Perizin has not been found in honey.

Literatuur

- Buren, N. van (1992) Bees, mites and Perizin, the implication of chemical pest management. Proefschrift Rijks Universiteit Utrecht.
 Moritz, R.F.A. (1982) Präparatverteilung bei systemischer Therapie von Ektoparasitosen bei *Apis mellifera* L. *Apidologie*. 13, 127-141.