



## Stuifmeelvervangingsmiddel



<b>projectnr</b>	PPO Bijen 630900 & 630914
<b>datum</b>	18 augustus 2004
<b>Sponsor</b>	
naam	Stichting Bedrijfraad voor de Bijenhouderij in Nederland
vertegenwoordiger	D. van Houwelingen
adres	p/a Spoorlaan 350 5038 CC Tilburg
<b>Projectleider</b>	
naam	J. van der Steen
adres	Praktijkonderzoek Plant en Omgeving Bijen Applied Plant Research Bee Unit Ambrosiusweg 1 5081 NV Hilvarenbeek the Netherlands
<b>onderzoekperiode</b>	augustus 2001 – augustus 2002
<b>Aantal pagina's</b>	12

**INHOUD**

<b>SAMENVATTING</b> .....	<b>3</b>
<b>ARCHIVERING</b> .....	<b>3</b>
<b>INLEIDING</b> .....	<b>3</b>
<b>MATERIAAL AND METHODE</b> .....	<b>5</b>
MATERIAAL .....	5
<i>Test systeem</i> .....	5
<i>Herkomst bijen</i> .....	5
<i>Selectie van de honingbijen</i> .....	5
<i>Identificatie bijenvolken</i> .....	5
<i>Stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen</i> .....	5
<i>Bijenbrood</i> .....	5
METHODE .....	6
<i>Bepaling eiwit</i> .....	6
<i>Bepaling vet (Kooi 1997)</i> .....	6
<i>Opzet onderzoek 2001</i> .....	6
<i>Opzet onderzoek 2002</i> .....	6
<i>SOP's</i> .....	7
<i>Onderzoekslocatie</i> .....	7
<i>Statistiek</i> .....	7
<b>RESULTAAT EN DISCUSSIE</b> .....	<b>7</b>
STUIFMEELVERVANGINGSMIDDEL PPO BIJEN .....	7
CONSUMPTIE .....	7
<i>Discussie stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen</i> .....	7
EIWIT IN HAEMOLYMPHE EN GROOTTE VETLICHAAM.....	8
<i>Discussie eiwit in haemolympe en grootte vetlichaam</i> .....	8
BROEDONTWIKKELING.....	9
<i>Discussie broedontwikkeling</i> .....	10
LEVENSDUUR .....	10
<i>Discussie levensduur</i> .....	10
<b>LITERATUUR</b> .....	<b>11</b>
<b>NAMEN EN ADRESSEN</b> .....	<b>12</b>

## SAMENVATTING

Stuifmeel is de eiwitbron voor honingbijen. Het eiwit in een bijenvolk wordt door de voedsterbijen met het

voedersap verdeeld over de larven, bijen tot 3 à 4 dagen, de darren en de koningin. De eiwitreserve in de bijen wordt opgebouwd in het larvale stadium. Eiwitreserve is bepalend voor de kwaliteit van het voedersap en daarmee voor de levensverwachting van de bij. Stuifmeeldepletie in de larvale fase kan niet meer gecompenseerd worden in het adulte stadium. Een goede eiwitvoorziening speelt een rol bij het opbouwen van de "weerstand" tegen infecties, vooral tegen een besmetting van *Nosema apis* Zander.

In kassen en in agrarische gebieden is het stuifmeelaanbod gering. Bijvoeren met geïmporteerd, door honingbijen verzameld, stuifmeel is geen optie vanwege de kans op Amerikaans Vuilbroed. Een alternatief voor stuifmeel is een stuifmeelvervangingsmiddel. Het stuifmeelvervangingsmiddel dat stuifmeel helemaal zou kunnen vervangen is er niet. Wel zijn er middelen die tekorten kunnen compenseren. PPO Bijen heeft een stuifmeelvervangingsmiddel samengesteld op basis van soja, melkeiwitten, biergist, lijnolie en saccharose. Het stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen is eenvoudig door de bijenhouder zelf samen te stellen. In de periode 2001 -2002 zijn praktijkstudies uitgevoerd met dit middel. De parameters voor het beoordelen van de werking van dit stuifmeelvervangingsmiddel waren de voortgang van broedzorg, het eiwitgehalte in het haemolympe, het percentage vet in werkbijen en de levensduur van werkbijen opgekweekt in bijenvolken die voor de eiwitvoorziening aangewezen waren op het stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen.

De gemiddelde eiwitgehaltenes in het haemolympe in de bijen uit de volken, waarbij de aanvoer van stuifmeel belemmerd werd door een stuifmeelval en die ad libitum de beschikking hadden over bijenbrood en over stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen waren statistisch niet verschillend. Dit was ook niet te verwachten omdat bekend is dat honingbijen eiwit uitwisselen tussen haemolympe, vetlichaam en voedersapklieren, afhankelijk van de behoefte in het volk. Daarnaast reageert het bijenvolk op een eiwittekort met inkrimping van het broednest en kannibalisme.

In zowel 2001 als 2002 bereikten significant minder larven het popstadium nadat in de proefvolken de aanvoer van stuifmeel gedurende resp. 12 en 7 dagen belemmerd was. Dit laat zien dat de eiwitvoorraad in het volk in die mate afgenomen was en dat dit ten koste ging van een succesvolle broedontwikkeling.

De levensduur van de bijen uit de volken die gedurende 5 weken bijgevoerd werden met stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen was significant hoger dan van de bijen uit de volken die vrij stuifmeel konden verzamelen en van de volken waarbij de stuifmeelaanvoer belemmerd was.

## ARCHIVERING

Eén exemplaar van het originele rapport wordt verstuurd naar de opdrachtgever. Eén exemplaar van het originele rapport wordt gearchiveerd door PPO sector Bijen. PPO Bijen archiveert het protocol, het rapport, de RD en een monster van de teststof (indien van toepassing) gedurende een periode van 10 jaar. Na deze periode wordt contact opgenomen met de opdrachtgever voor overdracht of vernietiging van de RD en teststof.

## INLEIDING

Stuifmeel is de eiwitbron voor honingbijen. Een bijenvolk heeft ongeveer 125 mg stuifmeel nodig (30 mg eiwit) voor de teelt van één nieuwe werkbij (Ropsov 1944). De totale stuifmeelbehoefte van een bijenvolk is ongeveer 18 kg per jaar (Crailsheim 1992). Er is een trophallactische interactie tussen voedsterbijen en stuifmeelverzamelende bijen die invloed heeft op de hoeveelheid stuifmeel die verzameld wordt, minder eiwit in het voedersap stimuleert het stuifmeelhalen (Camazine 1998).

In het bijenvolk wordt het stuifmeel opgeslagen in de cellen. In het opgeslagen stuifmeel zorgen de micro-organismen *Pseudomonas* spp, *Lactobacillus* spp en *Saccharomyces* spp door pH verlaging er voor dat het stuifmeel geconserveerd wordt. De voedingswaarde van het opgeslagen stuifmeel wordt verbeterd door toename van vitaminen en door verandering van de aminozuursamenstelling (Herbert 1992). Het gesileerde stuifmeel wordt bijenbrood genoemd.

Het stuifmeel / bijenbrood gaat via de honingblaas en de proventriculus, waar het in pakketjes geperst wordt, naar de middendarm. De totale passage van opname tot het rectum varieert van enkele uren tot meer dan een dag. De peritrophe membranen in de middendarm vormen compartimenten waar stuifmeel verteerd wordt. In de middendarm worden de stuifmeelkorrels opengemaakt door een osmotische shock

en door proteolytische enzymen (Kroon 1974). De samenstelling van het voedsel heeft invloed op het gehalte van de proteolytische enzymen in het darmkanaal (Crailsheim & Stolberg 1989).

De leeftijd van honingbijen en de hoeveelheid broed die verzorgd kan worden, worden bepaald door de hoeveelheid stuifmeel waarover het bijenvolk kan beschikken, hoe meer hoe beter (Maurizio 1950, Wahl 1963, Jay 1964, Ohe 1986). Na het uitlopen consumeren de jonge bijen bijenbrood. De consumptie neemt toe tot ze voedsterbij zijn en daarna neemt het af. Een andere manier om de hoeveelheid eiwit in het bijenvolk op peil te houden is kannibalisme. In eiwitarme situaties worden eitjes en larven geconsumeerd om aan de eiwitbehoefte van de koningin en het resterende broed te voldoen (Weiss 1984). Larven tot 3,5 dagen worden door voedsterbijen gevoerd met voedersap uit de voedersapklieren. Dit voedersap is rijk aan eiwitten. In de resterende larvale periode worden de larven gevoerd met een mengsel van voedersap, honing en stuifmeel. Hierin zit minder eiwit maar het bevat meer koolhydraten. Bijen tot 3 dagen oud worden door middel van trophallaxis gevoerd door voedsterbijen van 7 – 14 dagen oud. Het is aannemelijk, gezien de status van de voedselgevende bijen, dat de jonge bijen zo niet alleen honing maar ook voedersap krijgen (Crailsheim 1990). De kwaliteit van stuifmeel hangt af van de samenstelling van aminozuren. Essentiële aminozuren zijn arginine, histidine, lysine, tryptofaan, phenylalanine, methionine, threonine, leucine, isoleucine en valine (Groot 1953 in Crailsheim 1990). Voedsterbijen kunnen, als ze zelf geen eiwitrijk voedsel krijgen, toch een week lang eiwitrijk voedersap produceren. Ze verbruiken de eigen eiwitreserves voor het produceren van voedersap. Een werksterlarve heeft 50 mg voedersap nodig om een gewicht van 35 mg te bereiken (von Rhein 1956 in Crailsheim 1990). Voedsterbijen hebben goed ontwikkelde voedersapklieren voor het produceren van eiwitrijk voedsel. Dit voedersap wordt over het hele volk verdeeld. De opbouw van de voedersapklieren hangt af van de juiste voedingstoestand. Voedsterbijen met het hoogste niveau van eiwitsynthese (voedersapproductie) hebben het hoogste gehalte eiwit (4,3%) in het bloed. In werkbijen is dit gehalte 1,7% (Sinizki 1971).

Het vetlichaam zit door heel het bijenlijf maar vooral in het abdomen. Het vetlichaam wordt in het larvestadium opgebouwd en bevat reserves van vet, glycogeen en eiwit. In het popstadium wordt het vetlichaam voor een groot deel verbruikt voor de metamorfose. Een slecht gevoede larve bereikt het volwassen stadium niet (Snodgrass 1992). De grootte van het vetlichaam weerspiegelt de voedings-toestand van de bij; in goed gevoede bijen is het vetlichaam significant groter (Ohe 1986). Eiwit wordt in de bij opgeslagen in haemolymfe, vetlichaam en voedersapklieren. Na het uitlopen neemt het eiwitgehalte in het haemolymfe toe tot de werkbij voedsterbij wordt. Veel eiwitten in het haemolymfe komen uit het vetlichaam (Lensky & Rakover 1983 in Crailsheim 1990). De eiwitbehoefte, opname, vertering, absorptie en gebruik hangt af van de leeftijd en de functie in het bijenvolk (Crailsheim et al 1992).

Een goede eiwitvoorziening van bijen in het larvale stadium en tijdens de eerste dagen na het uitlopen verhoogt de weerstand tegen ziekten, vooral tegen een *Nosema apis* Zander infectie. De peritrophe membranen zijn beter ontwikkeld en de regeneratie van de middendarm gaat sneller (de Ruijter, niet gepubliceerd). Een ander aspect is de gevoeligheid van honingbijen voor pesticiden. Goed gevoede en ontwikkelde bijen zijn minder gevoelig voor pesticiden dan slecht gevoede bijen en dit geldt ook voor de nakomelingen. Dit heeft zeer waarschijnlijk te maken met de enzymatische afbraak van pesticiden in de bij (Wahl 1983).

Het is duidelijk dat eiwitgebrek verregaande negatieve gevolgen heeft voor individuele honingbijen en voor het bijenvolk. In kassen treedt vaak een stuifmeelgebrek op en ook in de agrarische gebieden is het stuifmeelaanbod in bepaalde perioden gering omdat er minder "onkruiden" kunnen groeien. Bijvoeren met geïmporteerd stuifmeel is geen optie vanwege de aangetoonde verhoogde kans op Amerikaans Vuilbroed. Een alternatief voor stuifmeel is een stuifmeelvervangingsmiddel. Stuifmeelvervangingsmiddelen op basis van soja, biergist, (melk)eiwitten of ei bevatten de essentiële aminozuren. Een dergelijk mengsel wordt door bijen niet zondermeer geconsumeerd. Er moeten fagostimulerende stoffen aan toegevoegd worden. De consumptie van stuifmeelvervangingsmiddelen kan gestimuleerd worden door er stuifmeel of de lipidenfractie van stuifmeel aan toe te voegen (Stanger 1974, Doull 1974). De attractieve stof in stuifmeel is het vetzuur trans, cis, cis-2,9,12-Octadecatrieenzuur ( $C_{18}H_{30}O_2$ ) (Hopkins et al 1969, Starratt & Boch 1971). Dit vetzuur is een isomeer van linoleenzuur. Linoleenzuur komt, gebonden aan glycerol, voor in lijn(zaad)olie. Suikers fungeren niet als attractant maar beïnvloeden wel de consumptie. Stuifmeelvervangingsmiddel met saccharose wordt het best geconsumeerd. (Doull 1974). Lactose is giftig voor bijen (Herbert 1978). De afstand tussen broed en stuifmeel bepaalt ook de mate waarin het geconsumeerd wordt; hoe dichter bij het broednest, hoe beter de consumptie. Stuifmeel dat meer dan 7 cm van het broednest verwijderd is, wordt slechts bij toeval door de bijen ontdekt. (Doull 1974). Onderzoek van Herbert et al (1977) heeft aangetoond dat de eiwitconcentratie in stuifmeelvervangingsmiddelen 23 – 30 % moet zijn voor een optimale broedontwikkeling. Het opkweken van bijenvolken met stuifmeelvervangingsmiddelen met 5 % en 10 % eiwit

resulteerde niet in de aanzet van broed. Ook stuifmeelvervangingsmiddelen met 50% eiwit remden de broedaanzet. Er zijn diverse stuifmeelvervangingsmiddelen op de markt. PPO Bijen heeft een stuifmeelvervangingsmiddel ontwikkeld dat eenvoudig door bijenhouders zelf gemaakt kan worden. Het is een mengsel van soja, melkeiwitten, biergist, lijnolie en saccharose. Sojameel en melkeiwitten zijn verkrijgbaar bij de hengelsportwinkel, biergist en lijnolie in de reformzaak. In de periode 2001 -2002 zijn praktijkstudies uitgevoerd met het door PPO Bijen ontwikkelde stuifmeelvervangingsmiddel. De parameters voor het beoordelen van de werking van dit stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen waren de continuïteit van broedzorg, het eiwitgehalte in het haemolymfe, het vetgehalte van werkbijen en de levensverwachting van werkbijen.

## **MATERIAAL AND METHODE**

### **MATERIAAL**

#### Test systeem

Honingbijen (*Apis mellifera* L.)

#### Herkomst bijen

PPO Bijen

#### Selectie van de honingbijen

Ad random

#### Identificatie bijenvolken

Elk bijenvolk heeft een unieke identificering

#### Stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen

- 3 gewichtsdelen sojameel (niet ontvet)
- 2 gewichtsdelen biergist meel
- 3,2 gewichtsdelen calciumcaseinaat meel (melkeiwit 90%)
- 0,8 gewichtsdelen wei-eiwit meel (melkeiwit 80%)
- 10 gewichtsdelen saccharose-oplossing 50% in water
- 2 gewichtsdelen lijn(zaad)olie

De soja, biergist en melkeiwitten werden fijngemalen tot een fijn poeder en vervolgens met de lijn(zaad)olie en saccharose-oplossing gemengd tot een smeugig deeg.

#### Bijenbrood

Wekelijks werd uit bijenvolken het bijenbrood uit de cellen gehaald en met demi-water gekneed tot een stevig deeg.

## METHODE

### Bepaling eiwit

Het eiwit in het haemolymfe is spectrofotometrische bepaald met de Bradford methode. De referentiereeks in deze methode is gemaakt met BSA. Per bij is het eiwit in 1 µl haemolymfe bepaald.

### Bepaling vet (Kooi 1997)

Het vetgehalte in de werkbij is bepaald door de bijen te drogen, te wegen, het vet vervolgens op te lossen in een dichloormethaan / methanol (2: 1) mengsel en de bijen tenslotte terug te wegen. De werkwijze is als volgt:

- dag 0 vleugels, antennes en poten verwijderen.
- dag 0 tot dag 2 de bijen gedurende 48 uur drogen bij 45 °C tot 50 °C
- dag 2 wegen van individuele bijen
- dag 2 tot dag 4 de bij wordt overgoten met 2,25 ml dichloormethaan / methanol mengsel dit blijft 48 uur staan bij kamertemperatuur
- dag 4 tot dag 6 het dichloormethaan / methanol mengsel wordt afgegoten en de bij wordt opnieuw overgoten met 2,25 ml dichloormethaan / methanol mengsel en dit blijft 48 uur staan bij kamertemperatuur
- dag 6 tot dag 8 het dichloormethaan / methanol mengsel wordt afgegoten en de bijen worden gedurende 48 uur gedroogd bij 45 °C tot 50 °C.
- dag 8 de bijen worden gewogen. Het verschil in gewicht tussen dag 2 en dag 8 is de hoeveelheid vet per bij

Aanbieden van stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen en bijenbrood

De producten werden in deegvorm aangeboden en zo dicht mogelijk bij het broednest op de raten gelegd.

### Opzet onderzoek 2001

In negen volken werd in de periode augustus - september de aanvoer van stuifmeel belemmerd door het plaatsen van een stuifmeelval. Drie volken hadden in die periode ad libitum beschikking over vers stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen en drie volken over bijenbrood. De derde groep van drie bijenvolken werd niet bijgevoerd en werd beschouwd als de negatieve controle. Het stuifmeelvervangingsmiddel werd elke 2 á 3 dagen verversd.

Voor het onderzoek naar de continuïteit van de ontwikkeling van het broed werden bij aanvang van het onderzoek alle cellen met larven L1 – L3 op een overheadsheet gemarkeerd. Na 7 dagen werd gecontroleerd hoeveel gemarkeerde cellen verzegeld waren. De larven in deze cellen hadden zich ontwikkeld tot poppen. Omdat bij de verzorging van dit broed het al aanwezige eiwit nog een rol speelt, werd de bovengenoemde procedure na twaalf dagen herhaald. De broedzorg werd toen voor een veel groter deel bepaald door het aanbieden bijenbrood en stuifmeelvervangingsmiddel.

Het broed dat een week na de aanvang van het aanbieden van de teststoffen aangezet werd, liep 4 weken na het aanbieden uit. Deze bijen werden in het volk gemarkeerd met een stip op de dorsale zijde van de thorax. Na 7 dagen werden gemarkeerde bijen uit het volk verwijderd en direct onderzocht op eiwit in het haemolymfe en percentage vet.

### Opzet onderzoek 2002

In acht volken werd in de periode juli - augustus de aanvoer van stuifmeel belemmerd door het plaatsen van een stuifmeelval. Vier volken hadden vervolgens ad libitum beschikking over vers stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen, vier bijenvolken werden niet bijgevoerd. Deze laatste groep werd beschouwd als de negatieve controle. Bij de derde groep van vier volken werd de aanvoer van stuifmeel niet belemmerd en deze groep werd beschouwd als de positieve controle. Het stuifmeelvervangingsmiddel werd elke 2 á 3 dagen verversd.

Voor het onderzoek naar de continuïteit van de ontwikkeling van het broed werden bij aanvang van het onderzoek 100 cellen met larven L1 – L3 op een overheadsheet gemarkeerd. Na 6 tot 10 dagen werd gecontroleerd hoeveel gemarkeerde cellen verzegeld waren. Deze procedure werd na één week en na 35 dagen herhaald.

Het broed dat twee weken na de aanvang van het aanbieden van de teststoffen aangezet werd, liep 5

weken na aanvang van het onderzoek uit. Deze bijen werden in het volk gemarkeerd met een stip op de dorsale zijde van de thorax. Na 9 dagen werd een aantal gemarkeerde bijen uit het volk verwijderd en onderzocht op eiwit in haemolympe. De levensduur werd bepaald door per volk 3 x 10 gemarkeerde bijen in de stoof te plaatsen bij 25 °C en ad libitum voorzien van sucroseoplossing 50%.

#### SOP's

- SOP 60 versie 2 Basisrecept voor stuifmeelvervangingsmiddel
- SOP 87 versie 2 Bepalen van het proteïnegehalte in het haemolympe van honingbijen en hommels
- SOP 88 versie 2 Het bepalen van het vetgehalte van honingbijen en hommels

#### Onderzoekslocatie

PPO Bijen, Ambrosiusweg 1, 5081 NV Hilvarenbeek

#### Statistiek

t test voor gemiddelden met gelijke variantie ( $P \geq 0,05$ )

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

In tabel 10 gaat het om getallen in een rij.

## **RESULTAAT EN DISCUSSIE**

### **STUIFMEELVERVANGINGSMIDDEL PPO BIJEN**

Het stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen bevat 20% eiwit\* en 24 % saccharose. Het eiwitgehalte is wat minder dan het eiwitgehalte dat als optimaal in de literatuur genoemd wordt maar wel in dezelfde orde van grootte. Het gehalte is ruim boven wat echt te weinig is en ruim onder wat echt te veel is (Herbert 1977).  
\* (Kjeldahl methode).

### **CONSUMPTIE**

Tabel 1

Gemiddelde consumptie stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen per dag (periode 9 juli tot 9 augustus 2002)

gemiddelde	st. dev	n bijenvolken	n voederperioden
13,86 gram	6,7	4	11

#### Discussie stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen

Consumptie van bijenbrood in 2001 is niet nauwkeurig genoteerd maar was ongeveer 20 gram per dag. De gemiddelde consumptie van stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen in 2002 varieerde van 7 tot 20 gram per dag.

Het stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen is samengesteld op basis van literatuurgegevens. Er is geen onderzoek uitgevoerd naar bevordering van attractiviteit met andere stoffen dan met lijn(zaad)olie. Bovendien verbeterde deze toevoeging de smeuiigheid van het deeg. Het was duidelijk dat stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen geconsumeerd werd. De hoeveelheden die geconsumeerd werden benaderen die van bijenbrood. Een probleem was dat het stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen na 3 dagen ging schimmelen. Het toevoegen van citroenzuur zou de houdbaarheid kunnen verhogen. Dit is echter niet in het onderzoek meegenomen.

**EIWIT IN HAEMOLYPHE EN GROOTTE VETLICHAAM**

Tabel 2

Gemiddeld  $\mu\text{g}$  eiwit / 1  $\mu\text{l}$  haemolympe per dieet in werkbijen van 7 dagen

- geboren op 27 sept 2001, 4 weken na aanvang van de studie
- gemarkeerd op 27 sept 2001
- haemolympe afname 04 okt 01

behandeling	n bijenvolken	n bijen	eiwit $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ haemolympe	standaard dev
bijenbrood	3	29	33,37 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ <sup>a</sup>	13,22 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	3	29	33,09 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ <sup>a</sup>	9,42 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$
neg controle	3	20	31,29 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ <sup>a</sup>	14,29 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Tabel 3

Gemiddeld  $\mu\text{g}$  eiwit / 1  $\mu\text{l}$  haemolympe per behandeling in werkbijen van 9 dagen

- geboren op 13 aug 2002, 5 weken na aanvang van de studie
- gemarkeerd op 13 aug 2002
- haemolympe afname 22 aug 2002

behandeling	n bijenvolken	n bijen	eiwit $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$	standaard dev.
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	4	10	13,5 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ <sup>a</sup>	3,13 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$
positieve controle	4	7	22,3 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ <sup>a</sup>	17,85 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$
negatieve controle	4	12	11,8 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$ <sup>a</sup>	4,58 $\mu\text{g}$ / $\mu\text{l}$

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Tabel 4

Gemiddeld percentage vet per bij per dieet

- geboren op 27 sept 2001
- gemarkeerd op 27 sept 2001
- haemolympe afname 04 okt 2001

Behandeling	n bijenvolken	n bijen	percentage vet	Standaard dev.
bijenbrood	3	29	21,75 % <sup>a</sup>	4.64 %
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	3	30	25,35 % <sup>a</sup>	4.83 %
niets	3	19	24,08 % <sup>a</sup>	6.60 %

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Discussie eiwit in haemolympe en grootte vetlichaam

De gemiddelde eiwitgehalten in het haemolympe in de bijen uit de volken, waarbij de aanvoer van stuifmeel belemmerd werd door een stuifmeelval, die ad libitum de beschikking hadden over bijenbrood en over stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen waren statistisch niet verschillend. In 2001 varieerde het gemiddelde gehalte tussen 31,29 en 33,37  $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{l}$  en in 2002 tussen 11.8 en 13.5  $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{l}$ . Sinizki (1971) vond 4.3% (43  $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{g}$ ) eiwit in het haemolympe van voedsterbijen en in haalbijen een gehalte van 1.7% (17  $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{g}$ ). De hoeveelheid eiwit in het haemolympe hangt ook af van de kwaliteit van het voedsel dat in het adulte stadium geconsumeerd is. Cremones vond in werkbijen die in het lab opgekweekt waren met bijenbrood, een soja/gistmengsel en alleen sucrose gemiddeld 27.57  $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{l}$ , 24.06  $\mu\text{g}$  /  $\mu\text{l}$  en 2.17  $\mu\text{g}$  eiwit in het haemolympe (Cremones 1998). De vastgestelde waarden zijn niet helemaal vergelijkbaar omdat de bijen eerst een aantal dagen in het volk verbleven maar liggen in dezelfde orde van grootte. Het grootteverschil tussen beide jaren is terug te voeren op de fysiologische toestand van de bijen op dat moment en deze is in beide jaren vergelijkbaar. Het eiwitgehalte in het haemolympe loopt op met de leeftijd en bereikt het maximum wanneer de werkbij voedsterbij is. De bijen met de hoogste eiwitsynthese hebben het hoogste eiwitgehalte in het haemolympe. Wanneer dit bereikt wordt, hangt af van de situatie in het volk. De resultaten laten zien dat per proefperiode de bijen in alle volken in dezelfde fysiologische toestand waren. De resultaten laten ook zien dat het voeren met stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen en bijenbrood resulteert in gelijke eiwitgehalten in de bijen. Hetzelfde geldt ook voor de vergelijking tussen het ad libitum aanbieden van stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen en het vrij verzamelen van stuifmeel.

Het vetlichaam wordt opgebouwd in de larvale fase en is het resultaat van de consumptie van voedersap en stuifmeel of andere eiwitbronnen. In de proefperiode 2001 bleek er geen statistisch significant verschil te zijn tussen het vetpercentage in 7 dagen oude bijen uit volken waarbij de stuifmeelaanvoer belemmerd was



en die ad libitum konden beschikken over stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen of bijenbrood. De vetbepaling is in 2002 niet uitgevoerd om budgetaire redenen.

Het bijvoeren van stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen of bijenbrood en het belemmeren van de stuifmeelaanvoer resulteert niet in een significante toe- of afname van het eiwitgehalte en vetlichaam. Dit was ook niet te verwachten aangezien zowel eiwit in haemolymph als vetlichaam door meerdere factoren bepaald worden waarvan de externe toevoer van eiwit de belangrijkste is. Honingbijen wisselen eiwit uit tussen haemolymph, vetlichaam en voedersapklieren, afhankelijk van de behoefte in het volk. Bovendien compenseren de bijen eiwittekort door kannibalisme en inkrimping van het broednest.

## BROEDONTWIKKELING

Tabel 5

Succesvolle ontwikkeling van larven L1 – L3 bij aanvang van de studie 2001 tot pop

- markeren larven L1 – L3 30/31 aug 2001
- tellen poppen in de gemarkeerde cellen 12 sept 2001

behandeling	n bijenvolken	gem. n larven	gem. n poppen	percentage succesvolle ontwikkeling
bijenbrood	3	699 <sup>a</sup>	463 <sup>a</sup>	66 %
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	3	405 <sup>a</sup>	336 <sup>a</sup>	78 %
neg controle	3	474 <sup>a</sup>	332 <sup>a</sup>	71 %

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Tabel 6

Succesvolle ontwikkeling van larven L1 – L3, 12 dagen na aanvang van de studie 2001

- markeren larven L1 – L3 11/12 sept 2001
- tellen poppen in de gemarkeerde cellen 20 sept 2001

behandeling	n bijenvolken	gem. n larven	gem. n poppen	percentage succesvolle ontwikkeling
bijenbrood	3	263 <sup>a</sup>	208 <sup>a</sup>	79 %
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	3	297 <sup>a</sup>	184 <sup>a</sup>	62 %
neg controle	3	142 <sup>a</sup>	72 <sup>b</sup>	51 %

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Tabel 7

Succesvolle ontwikkeling van larven L1 – L3 bij aanvang van de studie 2002

- markeren 100 larven L1 – L3 9 juli 2002
- tellen poppen in de gemarkeerde cellen 15 juli 2002

behandeling	n bijenvolken	gem. n larven	gem. n poppen	percentage succesvolle ontwikkeling
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	4	100	96 <sup>a</sup>	96 %
positieve controle	4	100	81 <sup>a</sup>	81 %
negatieve controle	4	100	92 <sup>a</sup>	92 %

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Tabel 8

Succesvolle ontwikkeling van larven L1 – L3 één week na aanvang van de studie 2002

- markeren 100 larven L1 – L3 op 16 juli 2002
- tellen poppen in de gemarkeerde cellen 25 juli 02

behandeling	n bijenvolken	gem. n larven	gem. n poppen	percentage succesvolle ontwikkeling
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	4	100	97 <sup>a</sup>	97 %
positieve controle	3	100	87 <sup>a</sup>	87 %
negatieve controle	4	100	82 <sup>b</sup>	82 %

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

Tabel 9

Succesvolle ontwikkeling van larven L1 – L3 vijf weken na aanvang van de studie 2002

- markeren 100 larven L1 – L3 op 13 aug 2002
- tellen poppen in de gemarkeerde cellen 23 aug 2002

behandeling	n bijenvolken	gem. n larven	gem. n poppen	percentage succesvolle ontwikkeling
stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen	4	100	85 <sup>a</sup>	85 %
positieve controle	2	100	80 <sup>a</sup>	80 %
negatieve controle	4	100	77 <sup>a</sup>	77 %

Dezelfde superscript letter in een kolom geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.

### Discussie broedontwikkeling

In 2001 bereikten significant minder larven het popstadium nadat in de 3 proefvolken de aanvoer van stuifmeel gedurende 12 dagen belemmerd was. In 2002 kon dit fenomeen na één week vastgesteld worden. Dit laat zien dat de eiwitvoorraad in het volk in die mate afgenomen was en dat dit ten koste ging van een succesvolle broedontwikkeling. In de volken die ad libitum de beschikking hadden over bijenbrood (2001), stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen (2002) en de volken die het stuifmeel vrij konden verzamelen trad dit fenomeen niet op. Stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen houdt de broedontwikkeling in het volk op een vergelijkbaar niveau als bijenbrood.

### LEVENSDUUR

Levensduur studie 2002

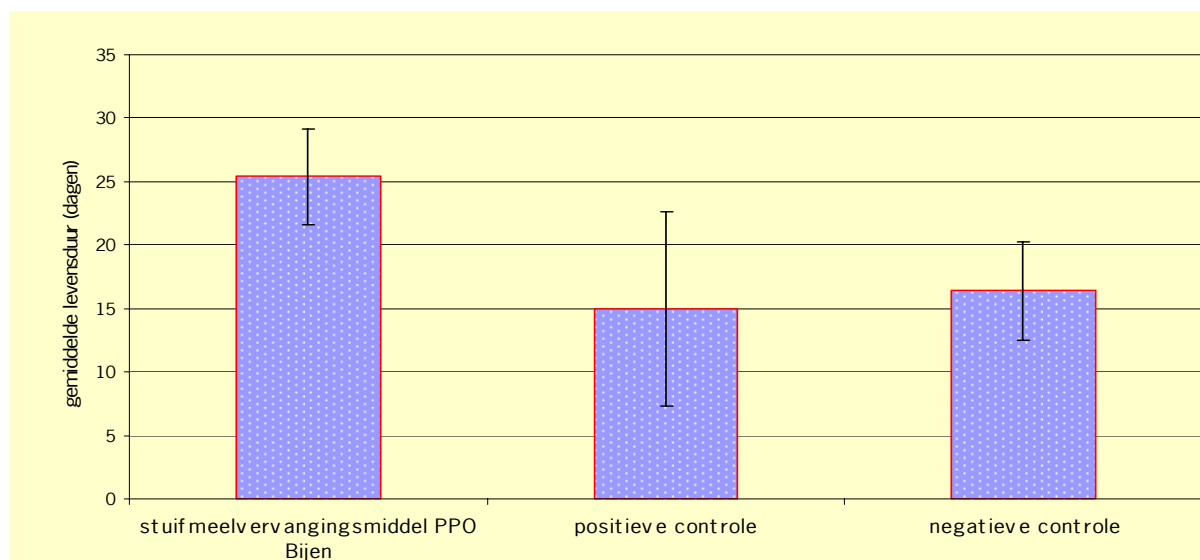
Tabel 10

De gemiddelde levensduur\* van werksterbijen die 5 weken na de aanvang van de studie geboren zijn.

stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen		positieve controle		negatieve controle	
gem. levensduur	St dev	gem.	St dev	gem.	St dev
25 <sup>a</sup> dagen	3.8 dagen	15 <sup>b</sup> dagen	7,6	16 <sup>b</sup> dagen	3.9 dagen

- gewogen gemiddelde in dagen

Dezelfde superscript letter in een rij geeft aan dat de getallen niet statistisch verschillend zijn.



### Discussie levensduur

De stuifmeelvoorziening direct na de geboorte heeft grote invloed op de levensverwachting. Onderzoeken van Schmidt (1995) en van Wahl (1963) toonden aan dat bijen die direct na het uitlopen gevoerd werden met verschillende stuifmeelsoorten 20 tot 50 dagen en de bijen die in die periode geen stuifmeel kregen 15 tot 19 dagen in leven bleven. De levensduur van de bij wordt onder andere bepaald door de kwaliteit van het voedersap dat de larve krijgt. De kwaliteit van het voedersap hangt af van de eiwitstroom in het bijenvolk. De levensduur van de bijen uit de volken die gedurende 5 weken bijgevoerd werden met

stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen was significant hoger dan van de bijen uit de volken die vrij stuifmeel konden verzamelen en van de volken waarbij de stuifmeelaanvoer belemmerd was. Deze bijen zijn geboren in volken die daarvoor gedurende vijf weken voorzien waren van stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen. Vervolgens zijn deze bijen gedurende negen dagen in het volk gebleven om het complete voedingspatroon in zowel het larvale stadium als in het adulte stadium tot 9 dagen mee te maken. De resultaten geven aan dat de eiwitstroom in het volken met stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen beter en constanter was dan in de controlevolken. Van stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen kon elke dag ad libitum gegeten worden en de aanvoer van stuifmeel in de positieve controle groep was afhankelijk van stuifmeeldracht en weersomstandigheden. De gemiddelde levensduur van de bijen uit de volken met stuifmeelvervangingsmiddel PPO Bijen was met 25 dagen statistisch significant langer dan de levensduur van 15 tot 16 dagen in de controlegroepen.

## LITERATUUR

- Camazine, S., Crailsheim, K., Hrasnigg, N., Robinson, G.E., Leonhard, B., Kropiunigg, H. 1998. Protein trophallaxis and the regulation of pollen foraging by honey bees (*Apis mellifera* L). *Apidologie* 29: 113-126
- Crailsheim, K., Stolberg, E. 1989. Influence of diet, age and colony conditions upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L) *J. Insect Physiol* 35 (8): 595-602
- Crailsheim, K. 1990. The protein balance of the honey bee worker. *Apidologie* 21: 417-429
- Crailsheim, K., Schneider, L.H.W., Hrasnigg, N., Bühlmann, G., Brosch, U., Gmeinbauer, R., Schöffmann, B. 1992. Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*) dependence on individual age and function. *J. insect Physiol* 38 (6): 409-419
- Cremonese, T.M., De Jong, D., Bitondi, M.M.G. 1998. Quantification of haemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 91 (6): 1284-1289
- Doull, K.M., 1974. Effect of distance on the attraction of pollen to honeybees in the hive. *J. Apic Res.* 13 (1): 27-23
- Doull, K.M., 1974. Effect of attractants and phagostimulants in pollen and pollen supplements on the Feeding behaviour of honeybees in the hive. *J. Apic Res* 13(1): 47-54
- Herbert, E.W., Shimanuki, H., Caron, D. 1977. Optimum protein levels, required by honey bees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing. *Apidologie* 8(2): 141-146
- Herbert, E., Shimanuki, H. 1978. Consumption and brood rearing by caged honeybees fed pollen substitutes fortified with various sugars. *J. Apic Res.* 17(1): 27-31
- Herbert, E.A. 1992. Honey bee nutrition pp 197-233 in J.M. Graham (ed). *The hive and the honeybee* Dadant Hamilton
- Hopkins, C.Y., Jevan, A.W., Boch, R. 1969. Occurrence of octadeca-trans-2, cis-9, cis-12-trienoic acid in pollen attractive to the honeybee. *Can. J. Biochem* 47: 433-436
- Jay S.C. 1964. Starvation studies of larval honeybees *Can. J. Zool* 42: 455-462
- Kooi, R.E., Bergshoeff, C., Rossie, W.E.M.Th., Brakefield, P.M. 1997. *Bycyclycus anynana* (Lepidoptera: Satyrinae): comparison of fat content and egg-laying in relation to dry and wet season temperatures. *Proc. Exper. & Appl. Entomol.*, N.E.V. Amsterdam vol. 8
- Kroon, G.H., Praagh, J.P. van, Velthuis, H.H.W. 1974. Osmotic shock as a prerequisite to pollen digestion in the alimentary tract of the worker honeybee. *J. Apic Res* 13: 177-181
- Maurizio, A. 1950. The influence of pollen feeding and brood rearing on the length of life and physiological condition of the honeybee. *Bee World* 31 (2): 9-12
- Ohe, W. Von der. 1986. Proteinpräparate in vergleichenden ernährungs- und verhaltensphysiologischen Untersuchungen an Honigbienen (*Apis mellifera* L.) im Hinblick auf die Verwendung als bienengerechter Pollenersatzstoff. Dissertation Universität Hannover
- Ropsov, A.S. 1944. Food consumption by bees. *Bee World* 25: 94-95
- Schmidt, L.S., Schmidt, J.O., Hima Rao, Weinyi Wang, Ligen Xu. 1995. Feeding preference and survival of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame and sunflower pollen. *J. Econ. Entomol* 88 (6): 1591-1595
- Sinizki, N.N., Lewtschenko, I.W. 1971. Der Gehalt an Eiweiss und freien Aminosäuren in der Hämolymphe der

- Arbeitsindividuen der Honigbiene, 2<sup>nd</sup> Int Beekeeping Congr. Moscow, Apimondia Publ. House, Bucharest: 361-364.
- Snodgrass, R.E., Erickson, E.H. 1992. The anatomy of the honeybee pp 103-169 in J.M. Graham (ed). The hive and the honeybee. Dadant Hamilton
- Stanger, W., Laidlaw, H,H, 1974. Supplemental feeding of honeybees. *Am Bee Journal* 114(4): 138 - 141
- Starrat, A.N., Boch, R. 1971. Synthesis of octadeca-trans-2, cis-9, cis-122-trienoic acid and its evaluation as a honey bee attractant, *Can. J. Biochem.* 49: 251-254
- Wahl, O. 1963. Vergleichende Untersuchungen über den Nährwert von Pollen, Hefe, Sojamehl und Trockenmilch für die Honigbiene (*Apis mellifera* L) *Zeitschrift für Bienenforschung* 6 (8): 209-280
- Wahl, O., Ulm, K. 1983. Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* 59: 106 – 128
- Weiss, K. 1984. Regulierung des proteinhaushaltes im Bienenvolk (*Apis mellifera* L.) durch Brutkannibalismus. *Apidologie* 15 (3): 339-354

## NAMEN EN ADRESSEN

Opdrachtgever	Bedrijfsraad voor de Bijenhouderij in Nederland
Vertegenwoordiger opdrachtgever	D. van Houwelingen
Naam	p.a. Spoorlaan 350
Adres	5038 CC Tilburg

Projectleider	
Naam	J. van der Steen
Adres	Ambrosiusweg 1 5081 NV Hilvarenbeek
Tel	00(31)317478908
E-mail	sjef.vandersteen@wur.nl

Medewerker	
Naam	J. Donders
Adres	Ambrosiusweg 1 5081 NV Hilvarenbeek
Tel	00(31)3107478909
E-mail	jeroen.donders@wur.nl

Test Facility Management	
Naam	Dr. T. Blacquière
Bedrijf	Praktijkonderzoek Plant en Omgeving Bijen
Adres	Ambrosiusweg 1 5081 NV Hilvarenbeek
Tel	0031(0)317478907
Fax	0031(0)135439155
E-mail	tjeerd.blacquiere@wur.nl

Vanaf 1 oktober 2004 is het adres:  
PPO Bijen  
Postbus 69  
6700 AB Wageningen

Bezoekadres:  
Droevendaalsesteeg 1  
Wageningen  
Tel: 0031(0)317478480  
Fax: 0031(0)317478484