



foto: s Henk van der Scheer

Drugkoeriers en narcoticabrigades actief in de bij

Ook een honingbij ontgift zich

Bijenbrood

Henk van der Scheer en Tjeerd Blacquièrre (PRI Bijen@wur)

Honingbijen komen bij het foerageren met allerlei stoffen in aanraking, ook met insecticiden. Maar ze zijn ook in staat tot ontgiften. Dit artikel geeft uitleg over het mechanisme daarvan en over recent onderzoek op dit gebied aan bijen.

Land- en tuinbouwgewassen worden regelmatig bespoten met bestrijdingsmiddelen, waardoor stuifmeel en nectar vaak verontreinigd zijn. Vooral insecticiden kunnen gevaarlijk zijn. Een teveel daarvan leidt tot bijensterfte. De imker constateert dan spuitschade, dat wil zeggen: dode, vergiftigde bijen voor de kast. In de lichaamcellen van – bijvoorbeeld – bijen activeren ondermeer bestrijdingsmiddelen genen die zorgen voor aanmaak van enzymen die lichaamsvreemde stoffen afbreken. Dergelijke stoffen dringen niet zomaar de lichaamscel binnen. Ze worden getransporteerd door speciale eiwitverbindingen die door de celmembranen worden doorgelaten, van de ene cel naar de andere, en weer terug. Bijen kunnen chronisch worden geconfronteerd met subletale (niet direct dodelijke) verontreinigingen in hun voedsel. In voedselvoorraden en in de raat van honingbijen worden soms dan ook heel veel verschillende bestrijdingsmiddelen en hun afbraakproducten gevonden. In de Verenigde Staten werden in 350 monsters stuifmeel en bijenbrood in totaal 98 verschillende middelen en hun afbraakproducten gevonden, met een gemiddelde van 7,1 stoffen per monster (Mullin e.a., 2010). Maar in de bijen zelf vonden ze duidelijk minder stoffen: gemiddeld 2,5 per monster. Volgens de onderzoekers houdt dat verband met de afbraak en snelle uitscheiding van belastende stoffen door het bijenlichaam.

Aangeboren vernietigingssysteem

In 2006 publiceerde het Honeybee Genome Sequencing Consortium het geheel van erfelijke informatie (het genoom) van de honingbij. Die erfelijke informatie ligt vast in de genen, en wel bij bijen op de 16 chromosomen in elke celkern. De functie van ongeveer 11.000 genen kennen we nu. Een beperkt aantal genen is betrokken bij het aangeboren afweersysteem waarmee honingbijen zich onder meer kunnen verweren tegen giftige stoffen als ze met subletale doseringen daarvan in aanraking komen. Die genen zorgen voor de aanmaak van enzymen die de giftige stoffen afbreken. Fruitvliegen en steekmuggen bezitten veel meer van die ontgiftende enzymproducerende genen (Claudianos e.a., 2006).

Enzymen

Voor wie het nauwkeuriger wil weten: ten opzichte van fruitvliegen en steekmuggen bezit een honingbij maar half zoveel enzymen die glutathion-S omzetten (GST's). Datzelfde geldt voor enzymen die een zuurstofatoom aan een substraat binden via Cytochroom P450 als katalysator (CYP's) en voor enzymen die feromonen en hormonen afbreken (CCE's). De grootste 'tekorten' bij honingbijen komen voor in de enzymgroepen Delta en Epsilon GST's en in CYP4 P450's. Daarvan bezit een honingbij maar een tiende van wat beide andere insectensoorten in huis hebben. Waarom dat zo is, is (nog) niet duidelijk.



Zaaizaad van maïs werd behandeld met imidacloprid om vraat door ritnaalden en emelten tegen te gaan.



Honingbij foerageert op zoete kers

Aangeboren transportmiddelen

Membraandoordringende eiwit-suikerverbindingen. (in het Engels ‘permeability-glycoproteins’ (p-gps)), en andere, zogenaamde ABC-eiwitten verplaatsen vreemde stoffen heen en terug door celmembranen en regelen de opname, verdeling en uitscheiding van die stoffen. (ABC is de afkorting van het Engelse ‘ATP-binding cassette’). Ze worden ook wel aangeduid als ‘MDR-transporteurs’, waarbij ‘MDR’ staat voor ‘multi drug resistance’. Dat transport is aangetoond bij andere insecten dan honingbijen en die andere insecten bezitten daarvoor specifieke genen. Ook het genoom van de honingbij bevat die genen. Waarschijnlijk vindt ook bij honingbijen dat drugstransport door de celwand plaats, aldus Hawthorne en Dively (2011).

Transport en afbraak beïnvloeden het effect van vreemde stoffen. Daarmee spelen de lichaamseigen ‘drugkoeriers’ en ‘narcoticbrigades’ een belangrijke rol bij de tolerantie van plant en dier voor onder andere bestrijdingsmiddelen, want als die MDR-transporteurs door remstoffen uitvallen, neemt de gevoeligheid van honingbijen voor bijvoorbeeld neonicotinoïden en flualinaat (in Apistan) enorm toe. Met andere woorden: zonder remstoffen weten ze deze gifstoffen snel uit te scheiden (Hawthorne en Dively, 2011).

Enzymatische afbraak varroabestrijdingsmiddelen

In het lichaam activeren gifstoffen bepaalde genen. Die vormen dan zogeheten boodschapper-RNA

(mRNA), dat het DNA van de genen afleest en vertaalt in de aanmaak van eiwitten. In het geval van vreemde stoffen zijn dat eiwitplitsende enzymen. Onderzoek aan de universiteit van Illinois liet zien hoe honingbijen de varroabestrijdingsmiddelen coumaphos en flualinaat kunnen afbreken (Mao e.a., 2011). Dit ontgiften loopt via de al genoemde katalysator Cytochroom P450 (CYP), die betrokken is bij de werking van de ermee verbonden enzymen. In de middendarm van de bijen werden meerdere soorten CYP-enzymen gevonden. Ze zetten coumaphos en flualinaat om in een stof die door andere enzymen verder kan worden afgebroken.

Zenuwgiffen, een verhaal apart

Zenuwcellen geleiden elektrische signalen en geven die door aan andere zenuwcellen en aan klier- en spiercellen via een contactplaats (synaps). Daar verloopt de overdracht door middel van een chemisch proces, waarbij het signaal slechts in één richting wordt doorgelaten naar de receptor (=ontvanger) van de ontvangende zenuw. De werking van een groot aantal insecticiden berust op verstoring van die overdracht. Vaak binden zenuwgiffen (neurotoxinen) zich aan receptoren, soms hechten ze zich aan het enzym dat het chemisch proces in de contactplaats regelt. Voorbeelden van zenuwgiffen zijn synthetische pyrethroiden en neonicotinoïden.

Nu bedient het zenuwstelsel zich van verschillende soorten receptoren, die elk reageren op een voor die receptor specifieke chemische stof die bij overdracht op contactplaatsen vrijkomt. Gif dat chemisch lijkt op zo'n specifieke stof kan zich binden aan de betreffende receptor en blokkeert daarmee de voortgang van het signaal. Neonicotinoïden doen dat (Belzunces e.a., 2012). Hoe lang die blokkade duurt, is afhankelijk van de mogelijkheden van het afweersysteem om het gif af te breken én de mogelijkheid om het signaal via een ander type receptor door te geven (Casida en Durkin, 2013; Schneider e.a., 2012; Tomizawa en Casida, 2003).

Afbraak van neonicotinoïden

In Frankrijk kregen honingbijen in kooitjes in het laboratorium 20 of 50 microgram (μg) imidacloprid in een 50%-suikeroplossing in water te drinken, waarna de afbraak van het gif in het bijenlichaam werd

Imidacloprid giftiger voor aardhommel dan voor honingbij

In een kg stuifmeel (of nectar) zit altijd minder dan $10 \mu\text{g}$ van een neonicotinoïde (Decourtye en Devillers, 2010). Meestal bedraagt de hoeveelheid tussen de 0 en $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Blacquièrre e.a., 2012). Dat zijn dus praktijkrelevante hoeveelheden. In Engeland stelden Cresswell e.a. (2012, 2013) aardhommels en honingbijen bloot aan suikerstroop met daarin verschillende doseringen imidacloprid, oplopend van 0,08 tot $125 \mu\text{g}/\text{liter}$. De doseringen hadden geen effect op de honingbijen, wel op de hommels. Die kregen steeds minder eetlust, afhankelijk van de dosering. In het praktijkrelevante traject (tot $10 \mu\text{g}/\text{l}$) bedroeg die vermindering 10-30%. Het gif had overigens geen effect op de beweeglijkheid en de levensduur van de aardhommels (en de honingbijen). De aardhommels zagen kans om praktijkrelevante doseringen van imidacloprid in een periode van 48 uur uit hun lichaam te verwijderen en gedroegen zich daarna weer normaal.

onderzocht (Suchail e.a., 2003). Imidacloprid werd vrij snel volledig omgezet in zes afbraakstoffen. Na 20 minuten was 30% van de begindosis niet meer aantoonbaar. Zes uur na toediening van 20 µg waren imidacloprid en alle afbraakproducten niet meer terug te vinden in het bijenlichaam. Na toediening van 50 µg duurde dat 24 uur.

In een latere proef werden honingbijen blootgesteld aan 100 µg radioactief gemerkt ¹⁴C-imidacloprid in een suikeroplossing van 50%. Over een periode van 72 uur keek men in welke delen van het bijenlichaam imidacloprid en de afbraakproducten zich ophoopten (Suchail e.a., 2004).

In de hemolymfe bleek de radioactiviteit steeds het geringst; in het rectum, waar de ontlasting het bijenlijf verlaat, was ze het hoogst. Twee zeer giftige afbraakproducten - 5-hydroxy-imidacloprid en olefin - kwamen overal in het lichaam voor en waren 4 uur na toedienen in de grootste hoeveelheid aanwezig. Imidacloprid en deze beide afbraakproducten bonden zich aan de receptoren van het zenuwstelsel. Zolang die binding duurt, blijft de overdrachts prikkel van een zenuw aanstaan. Al die tijd functioneert de zenuw niet. Maar bijen, net als andere insecten, zijn niet helemaal afhankelijk van de duur van die blokkade. De contactplaatsen van twee zenuwcellen hebben namelijk de mogelijkheid om bij doorgeven van signalen te switchen van de geblokkeerde soort naar een ander type receptor.

Na verloop van tijd kunnen vergiftigde bijen zich dus weer normaal gaan gedragen.

Zo beschrijven onderzoekers in Italië het gedrag van honingbijen na het drinken van suikerwater met daarin 100 of 500 µg imidacloprid (Medrzycki e.a., 2003). Al snel werden de bijen veel minder beweeglijk en ruim een half uur later zaten ze vaak stil en communiceerden ze niet meer. Pas na verscheidene uren verdwenen de effecten en gedroegen de bijen zich weer normaal.

Bijenlarven en imidacloprid

Ook alle jeugdstadia van de bij bevatten de genen die coderen voor ontgiftende enzymen. Als bijenvolken dagelijks gedurende vijftien dagen 100 ml suikersiroop kregen met daarin opgelost 0,2 µg imidacloprid, werden ook bij larven die genen geactiveerd (Derecka e.a., 2013). Die concentratie van 2 µg imidacloprid per liter nectar is een waarde die in de praktijk zeker kan voorkomen. De voedsterbijen verwerkten de siroop in het voedersap voor de werksterlarven en die reageerden op de aanwezigheid van het gif met veranderingen in de vetstofwisseling en de aanmaak van specifieke RNA's. Dat laatste is een reactie op de activering van bepaalde genen, o.a. de genen die coderen voor ontgiftende P450-enzymen. Of die enzymen en andere eiwitten ook daadwerkelijk ontstonden en imidacloprid afbraken is niet onderzocht.



foto Jaap van Popering

Margriet, ook van de chrysantenfamilie

Afbraak van synthetische pyrethroïden

Bijen zijn in staat om synthetische pyrethroïden zoals fluvalinaat af te breken. Die stoffen lijken veel op de pyrethrinen die in de Afrikaanse chrysantensoort *Pyrethrum* voorkomen. In de gezamenlijke evolutie van planten en insecten zouden insecten de eigenschap hebben ontwikkeld om pyrethrinen af te breken en zo deze zelfverdediging van de *Pyrethrum*planten te omzeilen.

Toch is een bespuiting van bloeiend koolzaad met een synthetisch pyrethroïde voor bijen niet helemaal ongevaarlijk. Op de dag van spuiten en de dag daarna sterven een beperkt aantal haalbijen. Die sterfte is alleen te meten door 'dode' bijen in speciale vallen voor elke kast op te vangen (Wallner, 1999). Tijdens het tellen van die bijen in het laboratorium bleek dat ongeveer 15% toch bijkwam, dankzij afbraak van het gif in het lichaam. Maar in het veld zullen ze waarschijnlijk prooi worden van andere dieren en vinden we ze niet terug.

Heel geringe hoeveelheden imidacloprid beïnvloeden dus de stofwisselingsenergie in werksterlarven. Krijgen ze veel meer imidacloprid toegediend* dan overleven ze dat. Wel is naderhand bij de werksterbijen die ontstaan uit die larven de reukzin minder goed (Yang e.a., 2012). Deze hogere concentraties liggen tussen 10 en 100 µg imidacloprid per liter suikerwater en zijn daarom niet praktijkrelevant. Haalbijen nemen ernstig vergiftigde nectar of stuifmeel namelijk niet mee naar het nest (afstotend effect). Wat er wel binnenkomt en via via wordt overgedragen aan voedsterbijen en larven, bevat veel lagere concentraties. Verontreinigingen worden in elke stap (deels) afgebroken, om uiteindelijk in aanzienlijk lagere concentratie in voedersap voor de larven terecht te komen.

De experimenten samenvattend:

Honingbijen kunnen zich net als andere insecten (en zoogdieren) ontgiften. Larven van honingbijen verdragen hogere doseringen imidacloprid dan volwassen werksters. Praktijkrelevante doseringen van imidacloprid geven geen schadelijke effecten bij honingbijen. Voor hommels ligt dat anders. Reden om daar bij de toelating van neonicotinoïden rekening mee te gaan houden. ●

* Tot 0,4 nanogram (10⁻⁹ g) imidacloprid in 1 µl water per cel (= per larve) verdeeld over 4 opeenvolgende dagen met op dag 1 in elke cel een één dag oude larf.

Literatuur

Zie www.bijenhouders.nl > actueel en media > tijdschrift bijenhouden > aanvullingen februari 2014.