

## RAPPORT

### De waarde van het inzetten van honingbijen bij de preventie van beroepsallergie bij werkers in de paprikateelt

Dit onderzoek werd uitgevoerd door de Afdeling Allergologie van het Erasmus MC, Rotterdam en Praktijkonderzoek Plant en Omgeving (PPO) sector bijen.

**Studiecode / projectnummer: 210912 / 2002**

**Study Director** C. C. Smeekens

<b>Test locaties</b>	A. v.d. Berg	Galgepad 30	2691MG 's Gravenzande
	H. v.d. Berg	Chrysantenweg 25	2665LK Bleiswijk
	P. v.d. Berg	Hooghe Beer 18	2295MX Kwintsheul
	A. v.d. Bosch	Anthuriumweg 35	2665KV Bleiswijk
	F. van Gool	Baarschotsestraat 23	4849BJ Dorst
	G. de Haas	Bruidsbogert 6	2671DL Naaldwijk
	P. de Hoon	Hoogstraat 71	4909AT Oosteind
	G. v.d. Kaa	Hazeldonkse Zandweg 103	4762PA Zevenbergen
	J. Koorneef	Groendalseweg 25	2665MH Bleiswijk
	D. Oosthoek	Hoeksekade 117	266JL Bergschenhoek
	J. v.d. Valk	Bovendijk 77a	2295RX Kwintsheul
	P. Vromans	St. Jorispad 4	2671MZ Naaldwijk

**Sponsor** Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van het Productschap Tuinbouw, Postbus 280, 2700 AG Zoetermeer, contactpersoon J.C. Boon

**Aanvang studie** 21 januari 2002  
**Voltooiing studie** 10 oktober 2002  
**Datum rapportage** 14 maart 2003  
**Eindredactie** Tjeerd Blacquièrè.

**Aantal pagina's:** 45

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

## Inhoudsopgave

Goedkeuring rapport .....	4
SAMENVATTING .....	5
Archivering .....	5
INLEIDING .....	6
Materiaal en Methode .....	6
Allergologie .....	6
Selectie van de bedrijven .....	6
Huidtest .....	6
Allergenen .....	6
Bijen .....	7
Escape medicijn .....	7
V.A.S. score .....	7
Spirometrie .....	7
Pollen tellingen .....	7
Statistische analyse .....	7
PPO bijen .....	8
Overzicht van de bedrijven .....	8
Bijenvolken .....	8
Methode .....	8
Resultaten .....	9
Bedrijven en werkers .....	9
Escape medicijn .....	10
Ontwikkeling van de bijenvolken en het percentage bloemen zonder stuifmeel .....	10
Het verzamelen van het stuifmeel van de paprikabloemen .....	11
Statistische analyse .....	14
Pollen tellingen (Erasmus MC methodiek) .....	15
V.A.S. scores .....	16
Jeukende neus .....	17
Loopneus .....	17
Verstopte neus .....	17
Totale neusklachten .....	17
Longfuncties .....	17
Discussie .....	19
Conclusies .....	21
Literatuur .....	21
Dankzegging .....	21
Namen en adressen .....	21
Bijlagen .....	25
Bijlage 1 Gebruikte bijenvolken en gebruiksduur per paprikabedrijf .....	25
Bijlage 2 Overzicht bijenvolken die buiten de bereikingen zijn gehouden .....	28
Bijlage 3 Waarnemingen van de volksterkte en het verzamelen van stuifmeel per paprikabedrijf .....	29

Bijlage 4 Statistische analyse percentage bloemen zonder stuifmeel / dichtheid bijen..... 33  
Bijlage 5: Box plots..... 44

## GOEDKEURING RAPPORT

Projectleider

C.C. Smeekens

Datum: .....

Erasmus Medisch Centrum

dr. H. de Groot

Datum:.....

Principal Scientist Erasmus MC

N.W. de Jong

Datum.....

Principal Scientist PPO bijen

T. Blacquière

Datum.....

Opdrachtgever Productschap Tuinbouw

J. C. Boon.

Datum.....

## SAMENVATTING

### Aanleiding

Allergie voor stuifmeel van paprika is een probleem onder werkers in de paprikateelt onder glas. In een eerder onderzoek is gebleken dat vooral het stuifmeel de problemen veroorzaakt, en met huidtesten is aangetoond dat ruim een derde van de medewerkers een IgE-gemedieerde (dat betekent via het immuunsysteem) allergie voor paprikastuifmeel heeft. Het stuifmeel is niet vrij in de kaslucht aanwezig, maar valt uit de bloemen zodra de planten bewogen worden, bijvoorbeeld bij indraaien, snoeien en oogsten. Neerddwarrelend stuifmeel komt met het inademen in de luchtwegen van de medewerkers terecht.

Honingbijen hebben als eiwitbron voor hun larven veel stuifmeel nodig, en zijn daardoor heel geschikt om stuifmeel uit bloemen van paprika te halen. In een eerdere pilotstudie in 2001 werd al aangetoond dat bijen veel van de bloemen van hun stuifmeel ontdoen, en dat dit ook resulteerde in een vermindering van de klachten van de medewerkers.

### Vraagstelling

- Kunnen bijen de hoeveelheid stuifmeel per bloem, en de hoeveelheid bloemen met stuifmeel verminderen?
- Hoeveel volken moeten daartoe per hectare worden ingezet?
- Hoe ontwikkelen de volken zich in de kas?
- Geeft aanwezigheid van bijen ook daadwerkelijk vermindering van de klachten van de medewerkers?

### Aanpak

Het onderzoek is uitgevoerd op 18 paprikabedrijven in Zuid-Holland en Noord-Brabant. Deze werden in drie groepen ingedeeld: *zonder* bijen, met *weinig* bijen, en met *veel* bijen. Driewekelijks werden de bijenvolken gecontroleerd, en zonodig vervangen, en werden tellingen gedaan aan bloemen met en zonder stuifmeel in de kas. De proef liep van januari tot oktober 2002. Door de afdeling allergologie werden alle bedrijven drie keer bezocht: een keer in het eerste, tweede en derde kwartaal. Bij het eerste bezoek waren de bijen nog niet aanwezig. Bij het eerste bezoek werd bij de werkers een huidtest gedaan, om allergie objectief vast te stellen. Bij alle bezoeken werden vragenlijsten ingevuld over de klachten in de afgelopen 2 weken, en werd een longfunctietest afgenomen. Daarnaast werden steeds tellingen gedaan aan het aantal stuifmeelkorrels uit 6 X 10 bloemen per kas. De resultaten van bezoek 2 en 3 werden gerelateerd aan bezoek 1 (dat maakt vooruitgang / achteruitgang na inzet bijen zichtbaar).

### Resultaten

- De hoeveelheid stuifmeel per bloem, en het aantal bloemen met stuifmeel verminderde door de inzet van bijen, en het effect was sterker met meer bijen
- Twee volken per ha werkte goed, maar soms ook weer niet. Allerlei factoren hebben invloed, en de inzet van bijen moet nog geoptimaliseerd worden, en er moet nog veel worden geleerd
- De volken ontwikkelen zich niet erg goed in paprika-kassen, maar er was veel variatie. Ze konden gemiddeld 10 weken gebruikt worden.
- De klachten van de medewerkers verminderden door de inzet van bijen:
  - Een significante afname van neusklachten
  - Een trend in een relatief toegenomen longfunctie (niet significant)

### Conclusie

- Het inzetten van bijen kan een belangrijke bijdrage leveren aan het verminderen van de arbeidsgerelateerde allergie tegen paprikastuifmeel.
- Optimaliseren van het telen met bijen in de kas en van de inzet van bijen kan de effectiviteit nog sterk doen toenemen

### Toepassingsmogelijkheden

De inzet van bijen kan worden toegepast bij de 800 ha paprikateelt in Nederland, waarbij een groot deel van de ± 8000 medewerkers baat zal hebben door een toegenomen kwaliteit van leven. De implementatie van deze “teeltmaatregel” zal nog veel vragen oproepen maar leiden tot optimalisatie van het weghalen van stuifmeel.

## ARCHIVERING

Er worden vier originele, getekende rapporten gemaakt, twee getekende rapporten voor de opdrachtgever, een getekend rapport voor het Erasmus MC, en een getekend rapport voor Praktijkonderzoek Plant en Omgeving sector Bijen.

PPO sector bijen archiveert het originele getekende protocol, het getekende rapport en de raw data van het bijenonderzoek.

De raw data van het onderzoek van het Erasmus MC worden door het Erasmus MC gearchiveerd.

## INLEIDING

Allergie voor stuifmeel is een belangrijke beroepsziekte bij de teelt van paprika in kassen. Een derde van de 8000 mensen die werken in de paprikakassen in Nederland krijgen er vroeger of later last van. De symptomen zijn jeuk, neusproblemen, niezen en ademhalingsproblemen (astma). In een eerder onderzoek is gebleken dat het pollen de meeste klachten veroorzaakt en met huidtesten is aangetoond dat 35.4% van de werkers een IgE-gemedieerde allergie voor paprikapollen heeft (Groenewoudet al., 2002).

Honingbijen kunnen gebruikt worden voor bestuiving in de teelt van Paprika, en halen dan veel pollen uit de bloemen (Delaplane, 2000). In 2001 is een kleine pilotstudie gedaan in het Westland om te kijken of de reductie van pollen door honingbijen een positief effect op de allergische klachten van de werkers zou kunnen hebben (Van der Steen, 2002). De neusklachten van de werkers bleken toen significant minder te worden tijdens het inzetten van bijen. Dit onderzoek was te klein om definitieve conclusies te trekken. Daarom is besloten een groter onderzoek te doen met meer werkers en meer meetinstrumenten zoals longfunctie metingen. Tevens werd er met verschillende hoeveelheden bijen gewerkt om te onderzoeken of hetzelfde resultaat bereikt kan worden met minder bijen. Daarnaast is nog niet bekend wat een goede dichtheid is voor de ontwikkeling van de bijenvolken.

Het doel van deze tweede bijenstudie was, ten eerste, te onderzoeken of de allergeenblootstelling na het inzetten van honingbijen in de kas meetbaar minder wordt vergeleken met controlebedrijven zonder honingbijen, ten tweede, of deze verminderde allergeenblootstelling leidt tot een vermindering van arbeidsgerelateerde klachten bij de medewerkers in de bedrijven, en ten derde welke dichtheid van bijen adequaat en optimaal is om dit te bewerkstelligen.

## MATERIAAL EN METHODE

### ALLERGOLOGIE

#### Selectie van de bedrijven

In december 2001 werd begonnen met het telefonisch benaderen van de bedrijven die in het paprikaonderzoek van 1999 meegedaan hadden. De bedrijven werden drie maal bezocht. Bij het eerste bezoek werd een informed consent (een schriftelijk toestemmingsformulier) getekend en werden vragen gesteld over leeftijd, geslacht, medicatie, rookgedrag, werkverleden, klachten op het werk en allergische klachten. De klachten besloegen 4 categorieën: roodheid van de huid, jeuk en/of eczeem, neusklachten (rhinitis), oogklachten (conjunctivitis) en astma. Er werd een huidtest gedaan volgens internationale richtlijnen met paprika pollen extract, roofmijt extract en inhalatieallergenen. De definitie 'allergie' werd gegeven als de werknemer een positieve huidtest (meer dan 3 mm doorsnee van de kwaddel) met het betreffende allergeen had. Bij elk bezoek werd een klachtenscore en longfunctie gemeten. Het eerste bezoek vond plaats in de maand januari / februari (tijd 1), het tweede in mei / juni (tijd 2) en het laatste in september / oktober (tijd 3). De studie is goedgekeurd door de Medisch Ethische Commissie van het Erasmus MC. Vertrouwelijkheid van de gegevens is gegarandeerd.

#### Huidtest

SPT (Skin prik test) werd gedaan bij werkers met duidelijk werkgerelateerde klachten. Met werkgerelateerde klachten wordt bedoeld: als de werkers een duidelijke verbetering of gehele afwezigheid van de klachten ondervonden gedurende de weekeinden en op vakantie. De huidtest werd gedaan door een druppel allergeenextract op de onderarm te leggen. Met een prikkertje werd door de druppel in de huid geprikt. Na 20 minuten werd de huidtest afgelezen in mm gemiddelde kwaddel (= kleine zwelling van de huid) doorsnede. 3 mm of meer was positief (Dreborg, 1993). Buffer werd gebruikt als negatieve controle en histamine 10 mg/ml als positieve controle.

#### Allergenen

Het pollen werd verzameld in de bedrijven. Er werd een 25% (gewicht per volume) extract gemaakt in fosfaatbuffer. De extracten werden gecentrifugeerd gedurende 10 minuten en het supernatant werd gefilterd door een bacteriefilter (Millipore, Nederland). Alle extracten werden opgeslagen bij  $-20^{\circ}\text{C}$  in kleine hoeveelheden. Een uur voor gebruik werden de extracten ontdooid en gemengd. Daarnaast werden er huidtesten gedaan met 6 inhalatieallergenen van ALK-Abello.(Nieuwegein, Nederland): huisstofmijt, boompollen, graspollen, bijvoetpollen, hond epitheel en kat epitheel.

## Bijen

Nadat in januari alle metingen waren gedaan werden er in de helft van de bedrijven bijen uitgezet (Applied Plant Research, Unit Bee Research, Ambrosiushoeve, Nederland). De kolonies waren gezond en niet recent voor andere projecten gebruikt. Ze werden gevoerd met Apifonda suiker. Er werd een kasindeling gemaakt. Een groep bedrijven zonder bijen (groep 0), een groep bedrijven waar weinig bijen werden geplaatst (groep 1), en een groep bedrijven met veel bijen (groep 2). Dit was nodig om te onderzoeken hoe veel bijen nodig zijn om een klachtenreductie te bewerkstelligen.

Ongeveer 2 kolonies (10.000 bijen) per 10.000m<sup>2</sup> werden ingezet in 6 bedrijven (groep 2) en ongeveer 1 kolonie (10.000 bijen) per 10.000m<sup>2</sup> werd ingezet in 3 bedrijven (groep 1). In 9 bedrijven werden geen bijen ingezet.

## Escape medicijn

In de bedrijven waar bijen geplaatst werden, kregen de eigenaren een Epipen® autoinjector, en daarbij uitgebreide uitleg hoe deze te gebruiken bij eventuele allergische reacties op bijensteken.

## V.A.S. score

Om de ernst van de rhinitis klachten, ervaren door de werkers, te meten werd een visual analog score (V.A.S.) afgenomen. Deze werd afgenomen voor het inzetten van de bijen (tijd 1), na 3 maanden (tijd 2) en na 6 maanden (tijd 3) bijen interventie. De V.A.S. score is een horizontale lijn van 100 mm waarbij 0 mm geen klachten betekent en 100 mm veel klachten (Blom, 1997). De werknemer werd gevraagd zijn klachten te noteren over de afgelopen twee weken tijdens het werk betreffende jeuk in de neus, niezen, loopneus, verstopte neus en totale neusklachten. Deze werden zichtbaar gemaakt door een verticale streep op de horizontale lijn van 100 mm.

## Spirometrie

Voor het meten van de longfunctie zoals Flow/volume, Volume/time curves en symptoom scores werd een Micro DL spirometer gebruikt (Micro Medical Limited, Kent, Engeland). Dit instrument is klein en compact en makkelijk mee te nemen. Per werknemer werd leeftijd, lengte en geslacht ingevoerd. Deze waarden werden gebruikt om de voorspelde FEV1 (1seconde waarde), FVC (flowvolumewaarde) en PEF (piekstroom) te berekenen. De gemeten longfunctie werd vergeleken met de normaalwaarde bij die leeftijd, geslacht en lengte. Elke meting kreeg een uniek nummer. De werknemer moest tijdens de meting gaan staan, zo diep mogelijk inademen en zo hard mogelijk uitademen in een wegwerp mondstuk dat op de spirometer was geplaatst. Dit werd drie keer herhaald en de beste meting werd gebruikt.

## Pollen tellingen

Voor het pollen tellen werd een nieuwe methode gebruikt. Het pollen werd verzameld gedurende het eerste, tweede en laatste bezoek. Het pollen werd verzameld door drie keer tegen een bloem te tikken en het pollen op te vangen in een petrischaal. Op deze manier werd stuifmeel verzameld van tien bloemen per petrischaal. Zes petrischalen werden per kas verzameld. In het laboratorium werd aan ieder schaalte 1 ml. buffer toegevoegd en werden de bakjes gedurende 1 uur geschud. Daarna werd een druppel in een Kova telkamer gedaan. (Kova glassic slide, Hycor Biomedical Inc. Garden Grove California).

Het gemiddelde van de zes schalen werd vervolgens gebruikt voor verdere statistiek.

## Statistische analyse

Analyse vond plaats met de drie groepen allergische werkers verdeeld over de bedrijven waarin zij werkten: bedrijven zonder bijen (groep 0), bedrijven met weinig bijen (groep 1) en bedrijven met veel bijen (groep 2). De non parametrische Jonckheere- Terpstra test is gebruikt om de verschillen in V.A.S. score tussen de drie verschillende groepen voor, na 3 maanden en na 6 maanden interventie te berekenen.

Longfunctie variabelen werden geanalyseerd na 3 maanden en na 6 maanden van interventie met bijen met de covariantie analyse (ANCOVA). De groepen werden vergeleken met de baseline gegevens. Dit had als doel een eventuele trend in de longfunctie van de werkers aan te tonen in de geordende groepen.

## PPO BIJEN

### Overzicht van de bedrijven.

Overzicht van de bedrijven waarop het onderzoek is uitgevoerd met daarbij het aantal bijenvolken dat geplaatst is. Bij twee bedrijven (P. de Hoon en P. Vromans) zijn waarnemingen gedaan in twee gescheiden kasafdelingen.

A. v.d. Berg. 's Gravenzande	3 volken	1 volk per 5.333 m <sup>2</sup>
G. de Haas. Naaldwijk	1 volk, later 3 volken.	1 volk per 5.500 m <sup>2</sup>
A. v.d. Bosch. Bleiswijk	3 volken	1 volk per 5.000 m <sup>2</sup>
G. v.d. Kaa. Zevenbergen*	4 volken	1 volk per 6.100 m <sup>2</sup>
E. van Gool. Dorst	4 volken	1 volk per 6.750 m <sup>2</sup>
P. de Hoon. Oosteind huis	2 volken	1 volk per 8.750 m <sup>2</sup>
P. de Hoon. Oosteind nieuwe kas	2 volken	1 volk per 10.000 m <sup>2</sup>
J. Koorneef. Bleiswijk	1 volk, later 2 volken.	1 volk per 10.000 m <sup>2</sup>
D. Oosthoek. Bergschenhoek	1 volk, later 2 volken	1 volk per 10.900 m <sup>2</sup>
P. Vromans. Naaldwijk grote kas	2 volken	1 volk per 12.000 m <sup>2</sup>
P. Vromans. Naaldwijk kleine kas	1 volk	1 volk per 5.000 m <sup>2</sup>
H. v.d. Berg. Bleiswijk	0 volken	geen bijen
P. v.d. Berg. Kwintshoul	0 volken	geen bijen
J. v.d. Valk. Kwintshoul	0 volken	geen bijen

\*Bijenvolken verzorgd door imker C. van Galder, Etten-Leur.

### Bijenvolken

De bijenvolken waren afkomstig van PPO sector bijen te Hilvarenbeek. Gebruikt zijn gezonde bijenvolken die in de periode voorafgaand aan het onderzoek niet gebruikt waren voor onderzoek dat effect zou kunnen hebben op de ontwikkeling van het bijenvolk. De bijenvolken, die in de kassen geplaatst werden, bezetten op dat moment tussen de 8 en de 10 ramen met bijen en 7 tot 9 raten met broed. De bijenvolken hadden tijdens de gehele proefperiode voortdurend de beschikking over suikerdeeg (Apifonda).

In de zomerperiode werden de bijenvolken pas later in de middag, meestal door de teler zelf, geopend. Indien bijenvolken overdag bij hoge lichtintensiteit worden geopend gaan veel bijen verloren doordat ze dood vliegen tegen het glas.

Bij het paprikabedrijf van G.v.d. Kaa zijn de bijenvolken verzorgd door imker C. van Galder uit Etten Leur, die op dit bedrijf al vele jaren de bijenvolken verzorgt.

### Methode

Voor de start van het onderzoek zijn met de paprikatelers afspraken gemaakt over het plaatsen van de bijenvolken, controle van de bijenvolken en het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. Bij de start van het onderzoek is uit gegaan van 1 bijenvolk per 0,5, 1, 1,5 en 2 ha. Na korte tijd bleek dat bij 1 bijenvolk per 2 ha van weinig bloemen het stuifmeel werd verzameld. Bij deze drie bedrijven is het aantal bijenvolken verhoogd. De bijenvolken zijn verspreid over het kasoppervlak, aan het looppad geplaatst. Om de mogelijkheden voor de oriëntatie van de bijenvolken in de kassen te verbeteren zijn voor de bijenvolken op het looppad stroken plakband van 5 cm breed aangebracht in de kleuren blauw, geel en wit.

Gedurende de onderzoeksperiode zijn iedere drie weken de paprika bedrijven bezocht. Dan werden de volgende werkzaamheden uitgevoerd.

1. Van 100 willekeurig gekozen paprikabloemen werd volgens SOP 134 de aanwezigheid van stuifmeel gecontroleerd.
2. Van de bijenvolken werd het aantal raten bezet met bijen en het aantal raten met broed bepaald. Indien de omvang van een bijenvolk gedaald was tot 4 raten met bijen dan werd dit bijenvolk vervangen. De gegevens over de ontwikkeling van de bijenvolken werden vastgelegd.
3. Bij ieder bedrijfsbezoek werd met paprikatelers de voortgang van het onderzoek besproken. Hierbij werd vooral aandacht besteed aan het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. Er werden adviezen gegeven over het tijdelijk buiten de kas plaatsen van de bijenvolken, indien een behandeling met een middel nodig was, dat gevaarlijk is voor de bijenvolken.

## RESULTATEN

### Bedrijven en werkers

Van de 35 bedrijven die werden benaderd deden 18 mee in de studie. De gegevens over deze 18 bedrijven staan vermeld in tabel 1. Redenen om niet mee te doen waren: geen tijd, geen interesse en in sommige gevallen had de kaseigenaar zelf al hommels ingezet. De totale groep werkers was 133. De totale oppervlakte van de bedrijven was 493.000 m<sup>2</sup>.

Vierenveertig van de 133 medewerkers hadden werkgerelateerde klachten zoals rhinitis, conjunctivitis en/of astma. De 44 geselecteerde werkers werden gevraagd deel te nemen aan het onderzoek. Er werden huidtesten gedaan bij 43 werkers. De gegevens van deze werkers met de huidtest resultaten zijn te zien in tabel 2.

Negenendertig van de 43 werkers hadden een positieve huidtest met paprikapollen.

Tabel 1. Gegevens van de bedrijven

Zonder bijen (groep 0)			
Bedrijfsnr.	Oppervlakte	werkers	werkers met allergische klachten*
Nr	m <sup>2</sup>	n=	n=
5	15.500	4	3
10	35.000	8	2
11	40.000	9	2
13	56.000	12	5
14	45.000	13	2
15	24.000	6	2
16	36.000	8	2
17	23.000	4	2
18	34.000	8	2
Met weinig bijen (groep 1)			
2	20.000	5	3
6	21.000	6	2
7	20.000	6	3
Met veel bijen (groep 2)			
1	27.000	7	3
3	24.500	7	3
4	15.000	7	2
8	16.000	9	2
9	27.500	9	2
12	16.500	5	2
Totaal	496.000	133	44

\* Neusklachten, oogklachten en / of astma

Tabel 2. Gegevens van de allergische medewerkers (n=44)

<u>Algemeen:</u>	
Gemiddelde leeftijd (jr.)	36 (21-50)
Man/ vrouw	35/9 (26%)
<u>Werk gerelateerde klachten (n = 44):</u>	
Huid (jeuk/roodheid/ eczeem)	17 (29 %)
Neusklachten	44 (100 %)
Oogklachten	33 (75 %)
Astma	20 (46 %)
<u>Huidtest positief met beroepsallergenen (n = 43)</u>	
Paprika pollen extract	39 (91 %)
<u>Huidtest positief met inhalatie allergenen (n = 39)</u>	
Huisstofmijt	15 (38 %)
Boompollen	10 (25 %)
Graspollen	14 (36 %)
Bijvoet	3 (8 %)
Kat epitheel	5 (13 %)
Hond epitheel	9 (23.0%)
<u>Baseline V.A.S (n = 44, schaal 0-10 cm)      Mediaan (IQR).</u>	
Jeukende neus	3.5 (0.5-5.4)
Niezen	4.7 (2.2-7.2)
Loopneus	4.0 (0.7-7.3)
Verstopte neus	4.1 (1.5-8.8)
Totale neusklachten	5.0 (2.5-8.0)
<u>Baseline longfunctie(n = 44)      Gemiddelde (SD)</u>	
	% voorspelde waarde
FVC	96 (20)
FEV1	110 (17)
PEF	98 (16)

FEV1 (Forced Expiratory Volume, 1 seconde waarde), (m.a.w.: 1 secondecapaciteit): de maximale hoeveelheid gas die na een maximale inademing in 1 seconde kan worden uitgeademd.

FVC (Forced Vital Capacity) (m.a.w.: geforceerde vitale capaciteit): Het volume dat na een maximale inademing maximaal snel kan worden uitgeademd.

PEF (Peak Expiratory Flow), (m.a.w. piekstroom): maximale stroomsnelheid die tijdens een geforceerde uitademing kan worden bereikt.

Eenheid in alle gevallen L/sec.

#### Escape medicijn

In enkele gevallen werden de werkers door de bijen gestoken, met alleen een plaatselijke zwelling tot gevolg. Er waren geen algemene allergische reacties zodat de Epipen® autoinjector nooit gebruikt werd tijdens de studie.

#### Ontwikkeling van de bijenvolken en het percentage bloemen zonder stuifmeel.

Tabel 3 geeft een overzicht van de ingezette bijenvolken gedurende de proef, en de oppervlakte kas die de bijen per volk moesten bevliesen.

Tabel 3: overzicht van de gebruikte bijenvolken op de proeflocaties en de gemiddelde gebruiksduur.

Teler	Plaats	Aantal bijen Volken	Oppervlakte kas in m <sup>2</sup>	Aantal m <sup>2</sup> per bijenvolk	Aantal bijen volken per ha	Totaal aantal gebruikte volken	Gemidd. gebruiks- duur volken
A.v.d. Berg	's Gravenzande	3	16.000	5.333	1,9	9	9,5
A.v.d. Bosch	Bleiswijk	3	15.000	5.000	2,0	12	8
G. de Haas	Naaldwijk	3	16.500	5.500	1,8	14	8
P. Vromans	Naaldwijk	1	5.000	5.000	2,0	2	23
Kleine kas							
P. Vromans	Naaldwijk	2	24.000	12.000	0,8	7	9,3
Grote kas							
J. Koorneef	Bleiswijk	2	20.000	10.000	1	9	7
D. Oosthoek	Bergschenhoek	2	21.800	10.900	0,9	6	11,2
P. de Hoon	Oosteind	2	17.500	8.750	1,1	4	16,8
Oude kas							
P. de Hoon	Oosteind	2	20.000	10.000	1,0	7	10
Nieuwe kas							
F. v. Gool	Dorst	4	27.000	6.750	1,5	13	10,3
G.v.d. Kaa	Zevenbergen	4	24.500	6.100	1,6	Geen waar nemingen	Geen waar nemingen
Totaal		28				84	9,7

In kolom 3 staat het aantal bijenvolken dat per kas tegelijk aanwezig is, in kolom 7 het totaal dat over de gehele onderzoeksperiode gebruikt is. De gebruiksduur van de bijenvolken varieerde van 2 tot 17 weken met een uitschieter van 23 weken.

Omdat aan het einde van de teelt ook bijenvolken uit de kas zijn gehaald die nog langer actief de paprikabloemen hadden kunnen bevliesen, zijn deze bijenvolken voor de berekening van het gemiddelde buiten beschouwing gelaten. Bovendien zijn enkele bijenvolken tijdens het onderzoek om andere redenen eerder uit de kassen gehaald. Ook deze volken zijn voor de berekening van de gemiddelde verblijfsduur in de kas buiten beschouwing gelaten.

In bijlage 1 is een overzicht gegeven van alle gebruikte bijenvolken. De bijenvolken die voor het gemiddelde buiten beschouwing zijn gelaten zijn vet afgedrukt.

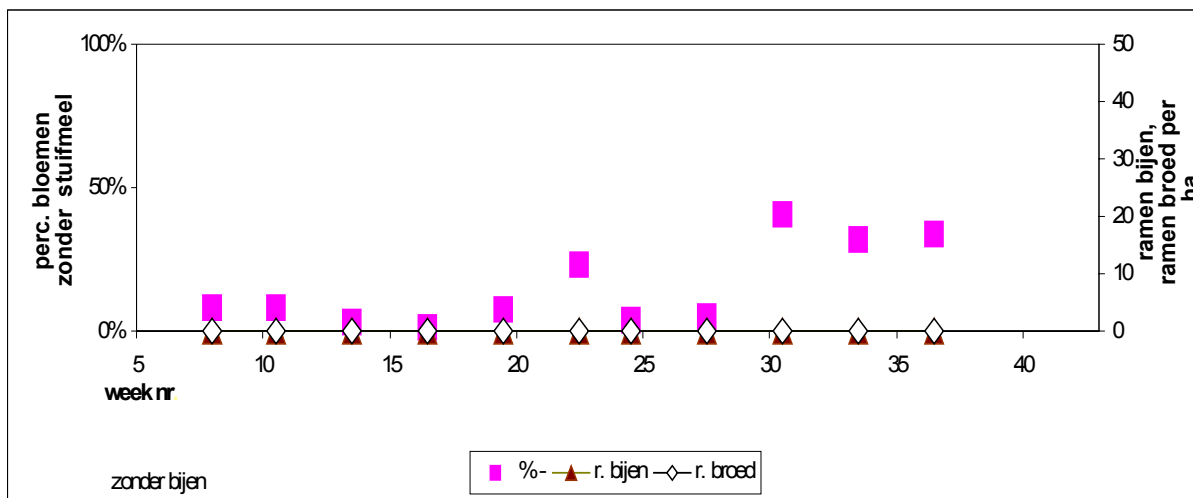
In bijlage 2 wordt bovendien een overzicht gegeven van de volken die buiten deze berekening zijn gehouden. Er was geen significant verband tussen het aantal volken per m<sup>2</sup> kas en het aantal weken dat de volken bruikbaar waren in de kas (tabel 4): de gebruiksduur van de volken beliep 9 à 10 weken.

Tabel 4. Gemiddelde verblijfsduur in weken bij veel en weinig bijenvolken in de kas.

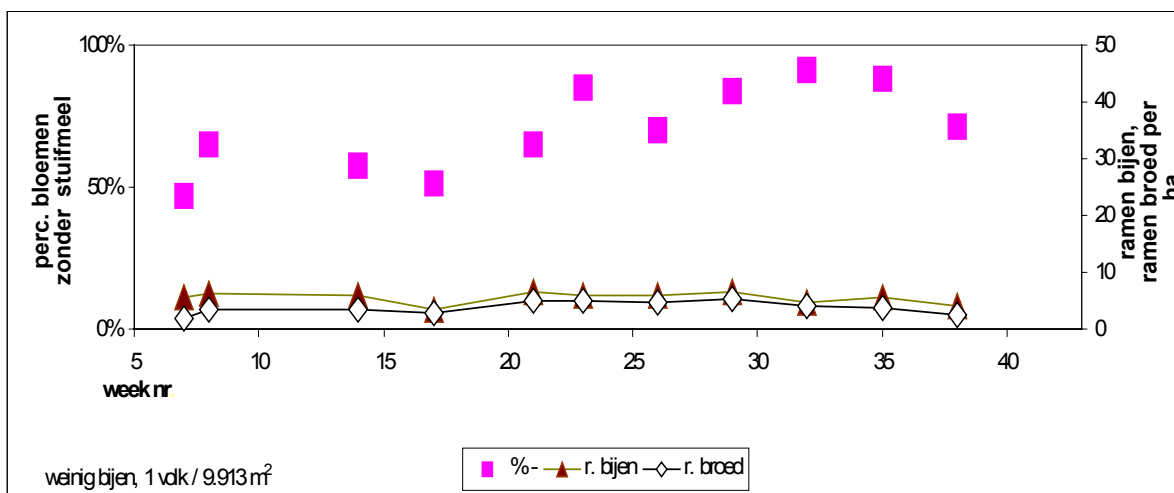
	1,5 tot 2 volken per ha	Aantal gebruikte volken	0,8 tot 1,14 volken per ha	Aantal gebruikte volken
	9,5	6	7,0	6
	8,0	9	9,3	3
	8,0	8	11,2	5
	23,0	1	16,8	4
	10,3	12	10,0	6
Gemiddeld	<b>9,2</b>	<b>37</b>	<b>10,5</b>	

#### Het verzamelen van het stuifmeel van de paprikabloemen

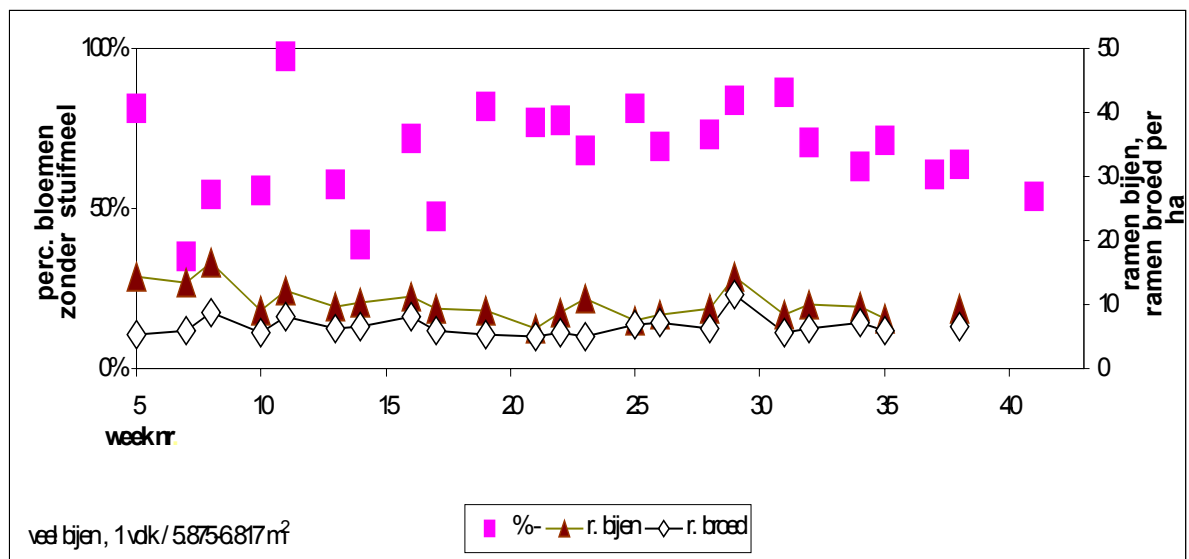
De figuren 1 t/m 3 tonen, gedurende het seizoen, het percentage van de bloemen zonder stuifmeel (weggehaald door de bijen) aan, gecombineerd met het aantal raten bijen en broed omgerekend per ha kasoppervlakte. In bijlage 3 zijn de grafieken van alle afzonderlijke bedrijven weergegeven.



Figuur 1. De gemiddelden van de waarnemingen van de aanwezigheid van stuifmeel in de bloemen van de bedrijven waar geen bijen ingezet zijn.



Figuur 2: De gemiddelden van de waarnemingen van de aanwezigheid van stuifmeel in de bloemen in de paprikakassen met weinig bijen afgezet tegen het gemiddelde aantal rammen bezet met bijen en met broed berekend per ha.



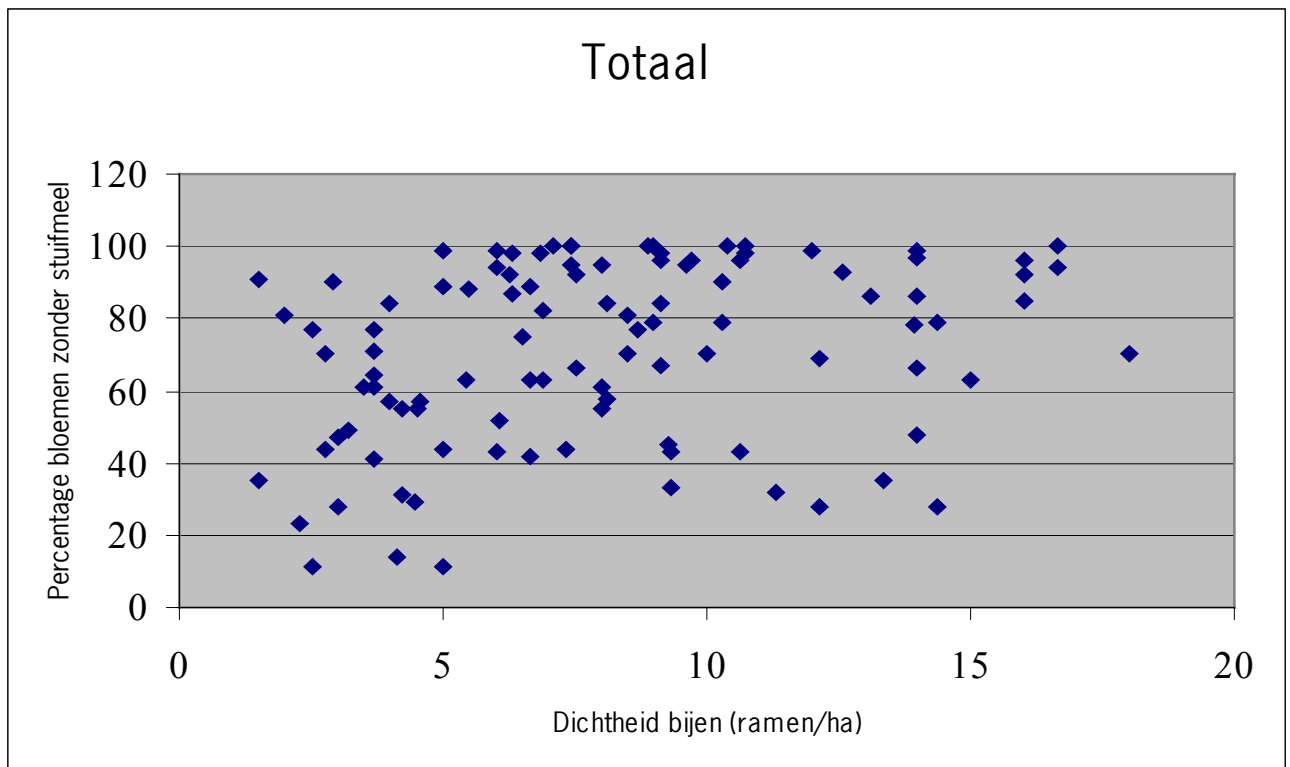
Figuur 3. De gemiddelden van de waarnemingen van de aanwezigheid van stuifmeel in de bloemen in de paprikakassen met veel bijen afgezet tegen het gemiddelde aantal ramen bezet met bijen en met broed berekend per ha.

Bij de bedrijven zonder bijen was gemiddeld 0 tot 40 % van de bloemen zonder stuifmeel (Figuur 1). Opvallend is dat (ook) bij deze bedrijven vanaf week 30 relatief veel bloemen zonder stuifmeel aanwezig waren. Bij de bedrijven met bijen was het percentage bloemen zonder stuifmeel meestal veel hoger, en vertonen de percentages bloemen zonder stuifmeel en het aantal raten bezet met bijen en broed simultane dips en pieken. Om deze reden zijn deze parameters in dezelfde grafiek gezet. Bij de grafieken per bedrijf (Bijlage 3) komt dit een aantal malen in sterkere mate voor. Wanneer deze gegevens worden gemiddeld over alle bedrijven bleken er geen duidelijke verschillen te zijn tussen de bedrijven met veel en met weinig bijen te zijn. Wanneer alle waarnemingen van het aantal ramen bijen en van het percentage bloemen zonder stuifmeel als een puntenwolk in een grafiek worden gezet (Figuur 4) wordt de grote spreiding in het percentage bloemen waarvan het stuifmeel is verzameld zichtbaar. Het blijkt maar nauwelijks gerelateerd aan het aantal raten bijen per ha. Wel lijkt het dat lage waarden bij hogere aantallen ramen bijen iets minder voorkomen (rechter deel van de grafiek).

Als echter naar de individuele bedrijven wordt gekeken (bijlage 3) vallen een aantal zaken op:

- Soms is het stuifmeel weg zonder bijen (eerste drie grafieken)
- Soms is weinig stuifmeel weg met veel bijen (bijv. v d Bosch: bedrijf 4), soms is juist veel weg met weinig bijen (bedrijven Vromans, Koorneef)
- Soms is het voorjaar beter (v d Bosch) soms juist later in het seizoen (de Hoon, Koorneef)
- Veel bedrijven een dip rond week 15.

Om met zulke grote variatie toch enige wetmatigheden te kunnen ontdekken heeft de heer J. Withagen (PRI Wageningen) een statistische analyse uitgevoerd op de puntenwolk van Figuur 4 (Bijlage 4).



Figuur 4. Percentage bloemen zonder stuifmeel gerelateerd aan het aantal ramen met bijen per ha.

#### Statistische analyse

Aan de punten van grafiek 4 zijn de percentages bloemen zonder stuifmeel van de bedrijven zonder bijen nog toegevoegd, bij "bijendichtheid" nul.

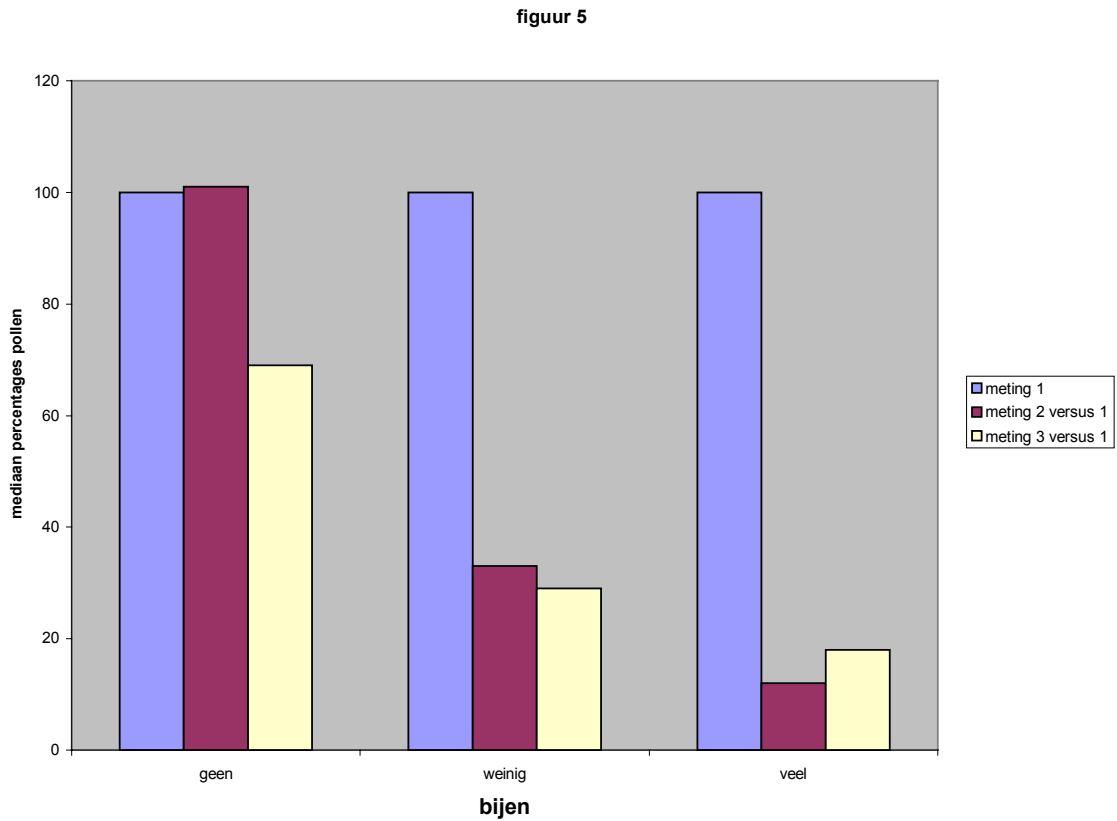
#### **Conclusie statistische analyse:**

Uitgaande van eenzelfde nulpunt (hoeveelheid bloemen zonder stuifmeel zonder inzet van bijen) en een asymptoot van 100 (bij voldoende bijen wordt 100% van stuifmeel ontdaan) wordt bij alle bedrijven een correlatie tussen het aantal ramen bijen en het percentage bloemen zonder stuifmeel gevonden. De sterkte van de relatie (kromming van de curve) verschilt per bedrijf. In de totale groep zijn vier significant onderscheidbare groepen te herkennen (zie analyse boven: a, b, c en d in de tabel), die echter deels overlappen.

Deze grote variatie tussen bedrijven maakt het ook logisch dat in figuur 3 en 2 weinig verschillen toonbaar waren, omdat binnen de groepen zoveel verschil aanwezig was.

### Pollen tellingen (Erasmus MC methodiek)

De resultaten van de pollentellingen staan vermeld in tabel 5. De verschillen in mediaan per groep zijn zichtbaar gemaakt in figuur 5. Er is een duidelijke daling te zien van het aantal pollen in de bedrijven met bijen. Deze daling is het grootst in de kas met de meeste bijen. De pollendaling is zowel in de groep met weinig bijen als de groep met veel bijen significant.



Figuur 5. Mediaan van de pollentellingen met geen, weinig en veel bijen, in kwartaal 1 (violet), kwartaal 2 (rood) en kwartaal 3 (geel).

Tabel 5. Pollen tellingen (aantal stuifmeelkorrels per petri-schaal; gemiddelde van zes petrischalen)

Zonder bijen (groep 0)					
Kas Nr	meting			% pollen	
	1	2	3	2 versus 1	3 versus 1
5	420	347	238	83	57
10	516	728	354	141	69
11	502	525	947	105	189
13	1127	758	533	67	47
14	263	340	221	129	84
15	222	225	nd	101	nd
16	935	328	591	35	63
17	391	437	439	112	112
18	814	507	637	62	78
<b>mediaan</b>	<b>502</b>	<b>437</b>	<b>486</b>	<b>101</b>	<b>69</b>
Met weinig bijen in meting 2 en 3 (groep 1)					
Kas Nr	meting			% pollen	
	1	2	3	2 versus 1	3 versus 1
2	715	233	202	33	28
6	701	181	201	26	29
7	467	202	150	43	32
<b>mediaan</b>	<b>701</b>	<b>202</b>	<b>201</b>	<b>33</b>	<b>29</b>
Met veel bijen in meting 2 en 3 (groep2)					
Kas Nr	meting			% pollen	
	1	2	3	2 versus 1	3 versus 1
1	619	217	128	35	21
3	436	34	83	8	19
4	393	26	nd	7	nd
8	811	112	75	14	9
9	748	192	136	26	18
12	959	91	79	9	8
<b>mediaan</b>	<b>684</b>	<b>102</b>	<b>83</b>	<b>12</b>	<b>18</b>

#### V.A.S. scores

De resultaten van de V.A.S. score staan vermeld in tabel 6. Na 3 maanden interventie is een significante dosis response relatie gevonden tussen de geordende groepen voor jeukende neus ( $p = 0.034$ ), voor niezen ( $p = 0.038$ ) en voor loopneus ( $p = 0.030$ ); verstopte neus en totale neusklachten gaven geen significante relatie. Na 6 maanden van interventie werd een significante dosis response relatie gevonden tussen de geordende groepen voor jeukende neus ( $p = 0.038$ ), voor loopneus ( $p = 0.045$ ) en een bijna significante relatie voor totale neusklachten ( $p = 0.094$ ). Een significante relatie bestaat zodra  $p < 0,05$ :  $p < 0,05$  betekent dat de kans dat een dergelijk verschil door toevallige toevalsfluctuaties ontstaan is, kleiner dan 5% is. De significante relaties zijn zichtbaar gemaakt in zogenaamde box plots (Bijlage 5). De zwarte lijn in de box plots vertegenwoordigt de mediaan.

Tabel 6 Mediaan (IQR) V.A.S. score (schaal 0-10 cm). Weergegeven is de mediaan (= het middelste getal uit de serie) en tussen haakjes de IQR (het laagste en hoogste getal uit de serie, dus de range).

Meting	1	2	3
<b>Jeukende neus</b>			
Zonder bijen	4.0 (2.0-5.7)	4.5 (2.6-6.7)	3.4 (0.8-6.6)
Weinig bijen	3.4 (0.9-6.2)	3.2 (0.4-5.5)	3.5 (1.1-5.4)
Veel bijen	2.1 (0.0-5.5)	1.6 (0.5-5.6)	0.4 (0-2.6)
p-waarde		<b>0.034</b>	<b>0.038</b>
<b>Niezen</b>			
Zonder bijen	4.7 (2.4-7.3)	4.2 (3.0-7.3)	4.1 (1.7-6.6)
Weinig bijen	3.2 (1.9-5.8)	3.0 (1.8-5.9)	4.5 (0.8-7.8)
Veel bijen	5.3 (1.3-7.9)	2.4 (0.8-4.3)	2.2 (0-4.9)
p-waarde		<b>0.031</b>	0.156
<b>Loopneus</b>			
Zonder bijen	6.2(1.0-7.3)	3.5 (1.6-6.9)	3.5 (0.9-5.5)
Weinig bijen	2.3 (1.3-3.8)	2.8 (0.5-6.6)	2.0 (0.3-6.5)
Veel bijen	3.3 (0.0-8.8)	0.6 (0.2-4.3)	0.4 (0.1-3.9)
p-waarde		<b>0.030</b>	<b>0.045</b>
<b>Verstopte neus</b>			
Zonder bijen	5.0 (1.4-7.6)	3.3 (1.7-5.1)	2.0 (0.4-5.4)
Weinig bijen	2.0 (0.7-7.4)	2.9 (0.4-6.6)	1.2 (0.2-7.5)
Veel bijen	4.8 (1.8-9.4)	3.7 (0.4-7.4)	1.4 (0.3-6.4)
p-waarde		0.973	0.615
<b>Totale neusklachten</b>			
Zonder bijen	5.5 (2.8-7.8)	5.0 (3.4-7.2)	4.4 (2.8-6.7)
Weinig bijen	4.8 (2.0-7.6)	4.4 (1.4-6.2)	1.7 (0.5-8.4)
Veel bijen	5.0 (4.0-9.3)	4.0 (1.4-6.6)	1.0 (0.6-4.7)
p-waarde		0.390	<b>0.094</b>

IQR = Interkwartiele range

### Longfuncties

De resultaten van de berekeningen zijn te zien in tabel 7. Het effect op de longfunctie door het gebruik van bijen is hier te zien in percentages verbetering. Er waren geen significante verschillen te zien, wel was er een trend zichtbaar: het inzetten van een hoeveelheid bijen correspondeerde met een verbetering van de longfunctie.

Toelichting:

FEV1 (Forced Expiratory Volume, 1 seconde waarde), (m.a.w.: 1 secondecapaciteit): de maximale hoeveelheid gas die na een maximale inademing in 1 seconde kan worden uitgeademd.

FVC (Forced Vital Capacity) (m.a.w.: geforceerde vitale capaciteit):

Het volume dat na een maximale inademing maximaal snel kan worden uitgeademd.

PEF (Peak Expiratory Flow), (m.a.w. piekstroom): maximale stroomsnelheid die tijdens een geforceerde uitademing kan worden bereikt.

Eenheid in alle gevallen L/sec.

Tabel 7. Berekende relatie tussen longfuncties binnen de geordende groepen.

*a. Trend relatie*

Het effect (in percentages) is het verschil tussen groep 1 (weinig bijen) en groep 2 (veel bijen).

Long functie variabele Voorspelde waarde	Effect (SE)	p-waarde
FVC	2.71 (2.26)	0.24
FEV1	3.33 (2.41)	0.18
PEF	2.53 (1.82)	0.17

*b. Nominale relatie*

Het effect (in percentages) is het verschil tussen de resp. groepen 1 en 2 met groep 0 (geen bijen).

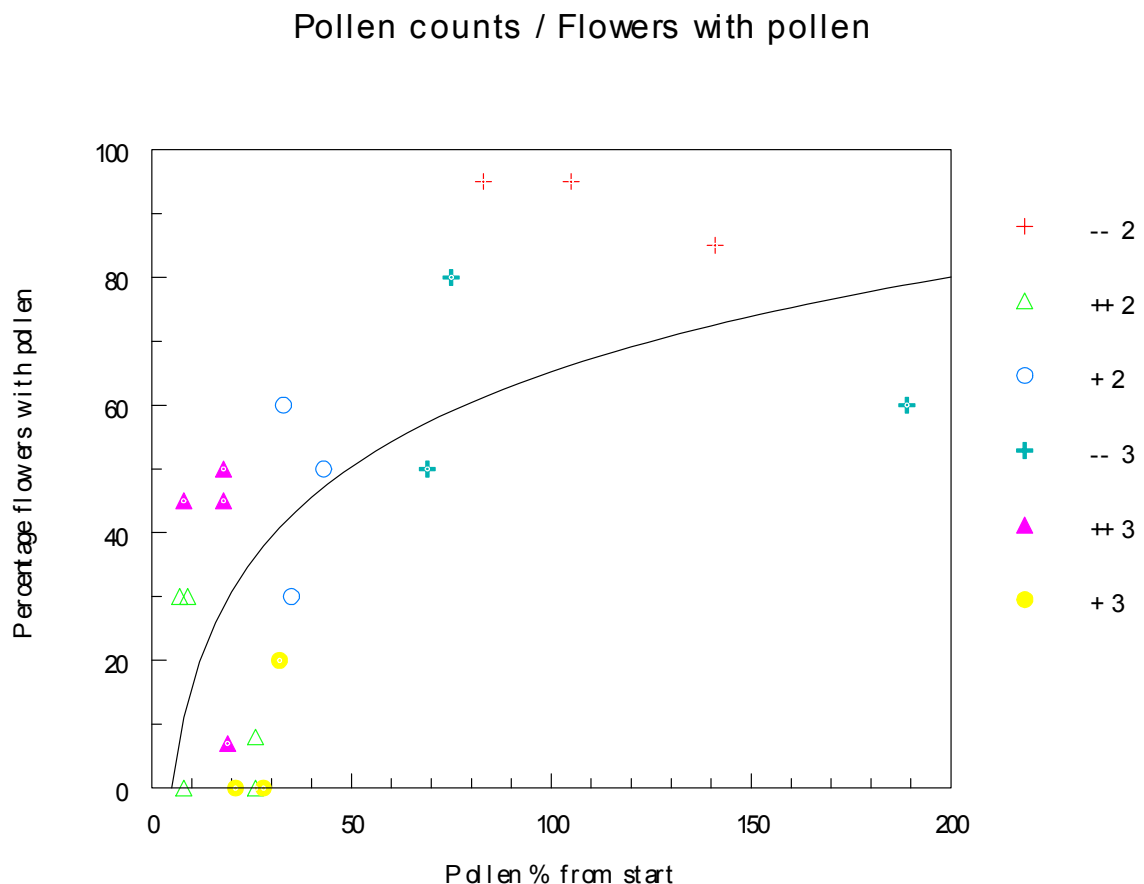
Long functie variabele Voorspelde waarde	Effect (SE)		p-waarde
	groep 1-groep 0	groep2- groep 0	
FVC	3.84 (4.91)	5.36 (4.60)	0.49
FEV1	3.62 (5.37)	6.64 (4.91)	0.41
PEF	0.56 (4.25)	5.27 (3.71)	0.35

SE = standaard afwijking

## DISCUSSIE

In deze studie was het doel te onderzoeken of bijen de allergische klachten van werkers in de paprikateelt kunnen verminderen. Tevens is onderzocht of de hoeveelheid bijen die ingezet werden hierbij van belang is. Daarnaast is onderzocht hoe goed bijen het bij verschillende dichtheden “deden”: het weghalen van stuifmeel uit de bloemen en het zich ontwikkelen van de volken zelf.

Uit de pollentellingen blijkt een duidelijke reductie van pollen na 3 maanden en na 6 maanden. Er is ook een verschil zichtbaar tussen de groep bedrijven met weinig bijen en veel bijen. De pollendaling is groter in de groep bedrijven met veel bijen. Wanneer echter werd gescoord hoeveel van 100 gekozen bloemetjes nog stuifmeel afgaven, bleek op het eerste gezicht de relatie met bijendichtheid niet zo duidelijk (vergelijking Figuren 2 en 3). Hier lijken dus pollentellingen en tellingen van bloemen met of zonder pollen een strijdig resultaat op te leveren. Omdat bij het zoeken naar een statistische relatie tussen het percentage bloemen zonder stuifmeel en de bijendichtheid (geconstateerde aantal ramen bijen op dat moment) bleek dat bij een aantal bedrijven de relatie nogal afweek, moet geconcludeerd worden dat een gemiddelde van bedrijven, zoals in figuur 3, geen juist beeld geeft van de werkelijkheid. Op zich bleek trouwens al wel dat met meer bijen het percentage bloemen zonder stuifmeel vaker in de buurt van de 100% kwam dan met weinig bijen. Om te kijken in hoeverre de twee methoden om iets van de pollenbeschikbaarheid in de kas te zeggen, vergelijkbare resultaten geven, zijn ze in figuur 7 tegen elkaar uitgezet. Daartoe is gekeken welk percentage bloemen in de tellingen van PPO-bijen pollen hadden in dezelfde periode van 2 weken dat Erasmus MC de pollentellingen verrichtte. Het blijkt dat er een zeer duidelijke overtuigende positieve relatie is tussen beide methoden van pollentellen.



Figuur 7. Pollen als percentage van de aantallen voordat bijen werden ingezet, geteld in kwartaal 2 en 3, uitgezet tegen het percentage bloemen met pollen, geteld in dezelfde weken. –2 en –3: zonder bijen in kwartaal 2 en 3, als percentage van de pollentellingen in kwartaal 1; +2 en +3: idem met weinig bijen; ++2 en ++3: idem met veel bijen.

De groep werkers die aan de studie deelnam is representatief voor de paprikateelt. Van de ondervraagde tuinders was ongeveer 1/3 allergisch voor de paprikapollen.

Bij de V.A.S. score is een significante dosisresponse relatie tussen de groepen bedrijven na 3 maanden en na 6 maanden bijeninterventie op 3 items te zien. Het inzetten van bijen geeft een duidelijke daling van allergische neusklachten bij deze werkers. Deze daling is afhankelijk van de hoeveelheid bijen.

Wat betreft de longklachten kan er geen significantie aangetoond worden, maar er is wel een duidelijke trend in de dosisresponse relatie te zien. Er is een verbetering van de longfunctie waarneembaar in de groepen waar bijen uitgezet zijn. Het is mogelijk dat een werkelijke significante verbetering in de longfunctie te bewerkstelligen is door meerdere seizoenen bijen in te zetten.

Zowel bij de pollentellingen als bij de V.A.S. score en de longfunctie blijkt dat de hoeveelheid bijen van groot belang is. In de groep met veel bijen werden minimaal 2 volken per 10.000 m<sup>2</sup> ingezet. Om een optimale verbetering van de klachten bij allergische tuinders te bewerkstelligen, zal men met deze hoeveelheden moeten werken.

De allergische klachten van de werkers worden voor het grootste gedeelte veroorzaakt door het paprikapollen, dat is in een eerder onderzoek in 1999 aangetoond. Er zijn echter nog andere oorzaken die de klachten kunnen veroorzaken zoals de aanwezigheid van roofmijt. Het inzetten van bijen zal daardoor nooit tot een volledige reductie van klachten kunnen leiden bij alle tuinders met klachten in de kas. Desondanks kan uit dit onderzoek geconcludeerd worden dat er een significante afname van de allergische klachten optreedt door het inzetten van honingbijen en dat daarbij de hoeveelheid bijen van belang is.

De gemiddelde gebruiksduur van de bijenvolken voor het verzamelen van stuifmeel bedroeg 9,7 weken. Er zijn zeer grote verschillen in de periode die individuele bijenvolken actief zijn geweest in de paprikakassen. Dit liep uiteen van 1 week tot 23 weken. Allerlei factoren kunnen van invloed zijn geweest op deze verschillen: oriëntatieproblemen van de bijen (hoogte en indeling van de kas), gewasbeschermingsmiddelen, enz. Door deze grote individuele verschillen was geen significant effect van de bijendichtheid op de gebruiksduur van de volken aan te tonen.

Bij de bedrijven zonder bijen is 0 tot 40 % van de bloemen zonder stuifmeel. Opvallend is dat bij deze bedrijven vanaf week 30 relatief veel bloemen zonder stuifmeel aanwezig zijn. Vanaf augustus is er voor bijenvolken buiten in sommige regio's niet veel meer te verzamelen omdat de bloei van veel bloemen voorbij is. Vanaf dat moment gaan bijen mogelijk meer stuifmeel van de paprikabloemen in de kassen verzamelen. Indien er een bijenstand in de omgeving is zal dit in sterkere mate plaatst vinden.

Ook in de kassen met (veel) bijen waren er momenten dat veel bloemen niet bezocht waren, en dus nog pollen hadden. Naast gewasbescherming kan ook het feit dat het aantal paprikabloemen per plant, gedurende het groeiseizoen, fluctueert een reden zijn waardoor de bijenvolken soms weinig stuifmeel hebben te verzamelen waarna er enkele weken later weer zeer veel paprikabloemen aanwezig zijn.

Enkele opmerkingen terzijde:

Het Apifonda suikerdeeg in 2,5 kg verpakking dat gebruikt is om de bijen gedurende het hele onderzoek van voldoende suiker te voorzien heeft goed voldaan. De bijenvolken gebruikten deze suikers voor de aanvulling van hun voedselvoorraad.

Problemen met agressiviteit van bijenvolken (bijensteken) zijn er bij de verschillende bedrijven weinig geweest. Het is belangrijk om de nieuwe bijenvolken die in de kas worden geplaatst in de avond, nadat het personeel de kassen heeft verlaten, te openen. Bijenvolken die op een nieuwe standplaats komen vliegen in het begin erg druk. Door nieuwe volken pas in de avond te openen hebben de bijen de gelegenheid om goed in te vliegen waardoor minder overlast wordt veroorzaakt.

Enkele paprikatelers klaagden over de vervuiling door bijenuitwerpselen van het glas. Bijen scheiden hun uitwerpselen af tijdens het vliegen waardoor deze uitwerpselen op het glas terecht komen. De telers meldden dat de verontreinigen van de bijen bij het wisselen van de teelt goed konden worden verwijderd.

Ook is het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen niet bij alle telers gelijk. Het tijdelijk buiten de kas plaatsen van bijenvolken verstoort de ontwikkeling van de volken.

## CONCLUSIES

- De bijenvolken waren gemiddeld 9,7 weken bruikbaar in de kas.
- Er is geen invloed vastgesteld van het aantal bijenvolken per ha op de gebruikperiode van de volken.
- Ook zonder bijen te plaatsen werden soms veel bloemen van stuifmeel ontdaan (bijen van buiten).
- Hoe meer bijen ingezet, hoe meer bloemen zonder stuifmeel, en met minder stuifmeel .
- Het is niet gemakkelijk om alle stuifmeel van de paprikabloemen door de bijen te laten verwijderen.
- Het gebruik van bijen voor het verwijderen van stuifmeel van paprika kan / moet verder worden geoptimaliseerd.
- De groep medewerkers was qua klachten representatief voor de paprikateelt.
- De allergieklachten worden veroorzaakt door het stuifmeel van paprika.
- Het inzetten van bijen gaf een significante vermindering van neusklachten.
- Bij longfuncties was een trend naar verbetering.

## LITERATUUR

- Blom HM, van Rijswijk JB, Garrelds IM, Mulder PGH, Timmermans T, Gerth van Wijk R. 1997. Intranasal capsaicin is efficacious in non-allergic, non-infectious perennial rhinitis. A placebo controlled study. Clin Exp Allergy 27:796-801.
- Delaplane KS, Mayer DF. 2000. Crop pollination by bees. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
- Dreborg S, Frew A, 1993. Allergen standardization and skin tests. Allergy Position paper EAACI 48, suppl 14:49-75
- Groenewoud GCM, Jong NW de, Oorschot-van Nes AJ van, Vermeulen AM, Toorenenbergen AW van, Mulder PGH, Burdorf A, Groot H de, Gerth van Wijk R. 2002. Prevalence of occupational allergy to bell pepper pollen in greenhouses in the Netherlands. Clin Exp Allergy 32:434-40.
- Steen JJM van der, 2002. Het inzetten van honingbijen voor reductie / preventie van beroepsallergie voor paprikastuifmeel bij werkers in de paprikateelt. Onderzoeksrapport PPO bijen van pilotstudy in 2001

## DANKZEGGING

We bedanken H. van der Woude, (afd. Huisartsengeneeskunde, Erasmus Universiteit Rotterdam) voor het uitlenen van de Micro DL spirometers. PGH Mulder (afd. Statistiek, Erasmus Universiteit Rotterdam) en Jacques Withagen (Plant Research International BV Wageningen) voor de statistische analyses, en Dr. LM van der Toorn (afd. Longziekten, Erasmus MC) voor het kritisch bekijken van de longfuncties.

## NAMEN EN ADRESSEN

### Participant

- naam dr. H. de Groot
- adres Erasmus MC  
Dr. Molewaterplein 40  
Postbus 2040  
3000 CA Rotterdam
- tel 010-4633970
- fax 010-4634081
- email [h.degroot@erasmusmc.nl](mailto:h.degroot@erasmusmc.nl)

### Sponsor

- naam Productschap Tuinbouw
- adres Louis Pasteurlaan 6  
Postbus 280  
2700 AG Zoetermeer

### Vertegenwoordiger sponsor

- naam J. Boon
- telefoon 079-3470707

- fax 079-3470404
- e-mail [J.Boon@tuinbouw.nl](mailto:J.Boon@tuinbouw.nl)

### **Projectleider**

- naam C.C. Smeekens
- bedrijf PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland
- telefoon 013-5833346
- fax 013-5439155
- e-mail [christ.smeekens@wur.nl](mailto:christ.smeekens@wur.nl)

### **Principal Scientist**

#### **Deel 1**

- naam N.W. de Jong
- afdeling Allergologie
- adres Erasmus MC
- Dr. Molewaterplein 40
- Postbus 2040
- 3000 CA Rotterdam
- tel 010-4634080
- fax 010-4634081
- e-mail [n.w.dejong@erasmusmc.nl](mailto:n.w.dejong@erasmusmc.nl)

#### **deel 2**

### **Principal Scientist**

- naam J.J. van der Steen
- bedrijf PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland
- telefoon 013-5425888
- fax 013-5439155
- e-mail [sjef.vandersteen@wur.nl](mailto:sjef.vandersteen@wur.nl)
- 

### **Co-workers**

- naam J. van der Aa-Furnée
- bedrijf PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland
- telefoon 013-5425888
- fax 013-5439155
- e-mail [jeannette.vanderaa@wur.nl](mailto:jeannette.vanderaa@wur.nl)
- 
- naam J. van den Eijnde
- bedrijf PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland
- telefoon 013-5833342
- fax 013-5439155
- e-mail [jan.vandeneijnde@wur.nl](mailto:jan.vandeneijnde@wur.nl)

- naam T. Blacquièrè
- bedrijf PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland
- telefoon 013-5425888
- fax 013-5439155
- e-mail [tjeerd.blacquièrè@wur.nl](mailto:tjeerd.blacquièrè@wur.nl)

#### **Test Facility Management**

- naam T. Blacquièrè
- bedrijf PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland
- telefoon 013-5425888
- fax 013-5439155
- e-mail [tjeerd.blacquièrè@wur.nl](mailto:tjeerd.blacquièrè@wur.nl)

#### **Test Facility**

- naam PPO sector bijen
- adres Ambrosiusweg 1
- 5081 NV Hilvarenbeek
- Nederland

#### **Paprikabedrijven**

- naam A. v.d. Berg
- adres Galgepad 30 2691MG 's Gravenzande
  
- naam H. v.d. Berg
- adres Chrysantenweg 25 2665LK Bleiswijk
  
- naam P. v.d. Berg
- adres Hooghe Beer 18 2295MX Kwintsheul
  
- naam A. v.d. Bosch
- adres Anthuriumweg 35 2665KV Bleiswijk
  
- naam F. van Gool
- adres Baarschotsestraat 23 4849BJ Dorst
  
- naam G. de Haas
- adres Bruidsbogert 6 2671DL Naaldwijk
  
- naam P. de Hoon
- adres Hoogstraat 71 4909AT Oosteind
  
- naam G. v.d. Kaa
- adres Hazeldonkse Zandweg 103 4762PA Zevenbergen
  
- naam J. Koorneef
- adres Groendalseweg 25 2665MH Bleiswijk
  
- naam D. Oosthoek
- adres Hoeksekade 117 266JL Bergschenhoek
  
- naam J. v.d. Valk
- adres Bovendijk 77a 2295RX Kwintsheul

naam P. Vromans  
adres St. Jorispad 4 2671MZ Naaldwijk

## BIJLAGEN

### BIJLAGE 1 GEBRUIKTE BIJENVOLKEN EN GEBRUIKSDUUR PER PAPRIKABEDRIJF

In deze bijlage is van alle deelnemende paprikabedrijven een overzicht gegeven van de gebruikte bijenvolken met daarbij het aantal weken dat ieder bijenvolk gebruikt is. Hierbij is ook de gemiddelde tijd in weken berekend, die de bijenvolken zijn gebruikt in de paprikakassen

Omdat aan het einde van de teelt bijenvolken uit de kas zijn gehaald die nog langer actief de paprikabloemen kunnen bevliegen, zijn deze bijenvolken voor de berekening van het gemiddelde buiten beschouwing gelaten. Bovendien zijn enkele bijenvolken tijdens het onderzoek om andere redenen uit de kassen gehaald. Ook deze volken zijn voor de berekening van de gemiddelde verblijfsduur in de kas buiten beschouwing gelaten. In deze bijlage zijn de bijenvolken, die voor het gemiddelde buiten beschouwing zijn gelaten, vet afgedrukt.

teler	m <sup>2</sup> /bijenvolk	volk	week in	week retour	n weken in kas
A.v.d.Berg	5.333	277	7	19	12
Totaal aantal volken	9	75	7	10	3
		226	7	22	15
		82	10	22	12
		237	19	25	6
		286	22	31	9
		85	22	33	11
		66	25	33	8
		223	31	33	2
Gem. aantal weken in de kas		9,5			
Sd		4,4			

A.v.d.Bosch	5.000	296	4	14	10
Totaal aantal volken	12	14	4	14	10
		123	4	17	13
		154	15	17	2
		245	17	21	4
		213	17	26	9
		45	21	41	20
		271	23	35	12
		144	26	35	9
		278	35	41	6
		101	35	38	3
		242	38	41	3
Gem. aantal weken in de kas		8			
sd		4,0			

G. de Haas	5.500	251	4	9	5
Totaal aantal volken	14	153	4	19	15
		101	4	19	15
		263	15	22	7
		305	15	22	7
		192	19	27	8
		67	22	27	5
		268	22	27	5

		195	27	34	7
		161	27	28	1
		143	27	37	10
		154	28	40	12
		193	34	40	6
		224	34	40	6
Gem. aantal weken in de kas		8			
sd		3,3			
J. Koorneef	10.000	305	7	8	1
Totaal aantal volken	9	36	8	17	9
		232	18	23	5
		87	19	23	4
		23	23	32	9
		272	23	32	9
		141	32	41	9
		243	32	38	16
		185	38	41	3
Gem. aantal weken in de kas		7			
sd		2,3			
P. Vromans grote kas	12.000	282	8	13	5
Totaal aantal volken	7	44	8	16	8
		251	10	25	15
		46	16	31	15
		75	25	28	3
		292	31	37	6
		287	31	37	6
Gem. aantal weken in de kas		9,3			
sd		5,1			
P. Vromans kleine kas	5.000	52	8	31	23
Totaal aantal volken	2	31	31	37	6
Gem. aantal weken in de kas		23,0			
sd					
D. Oosthoek	10.900	263	7	7	0
aantal volken	6	23	8	21	13
		252	18	26	8

		184	21	29	8
		82	26	41	15
		262	29	41	12
Gem. aantal weken in de kas		11,2			
sd		3,1			

P.de Hoon oude kas	8.750	212	4	18	14
aantal volken	4	236	4	17	13
		265	18	38	20
		43	18	38	20
Gem. aantal weken in de kas		16,8			
sd		3,8			

P. de Hoon	10.000	243	7	21	14
aantal volken	7	195	7	21	14
		36	21	26	5
		146	21	28	7
		142	26	28	2
		73	28	38	10
		297	28	38	10
Gem. aantal weken in de kas		10,0			
sd		3,6			

E. v.Gool	6.750	307	4	11	7
aantal volken	13	148	4	17	13
		161	4	17	13
		146 (135)	6	17	11
		101	11	18	7
		177	17	32	15
		283	18	21	3
		264	18	21	3
		236	21	29	8
		148	21	38	17
		44	21	26	5
		166	26	38	12
		174	29	38	9
		33	32	38	6
Gem. aantal weken in de kas		10,3			
sd		3,8			

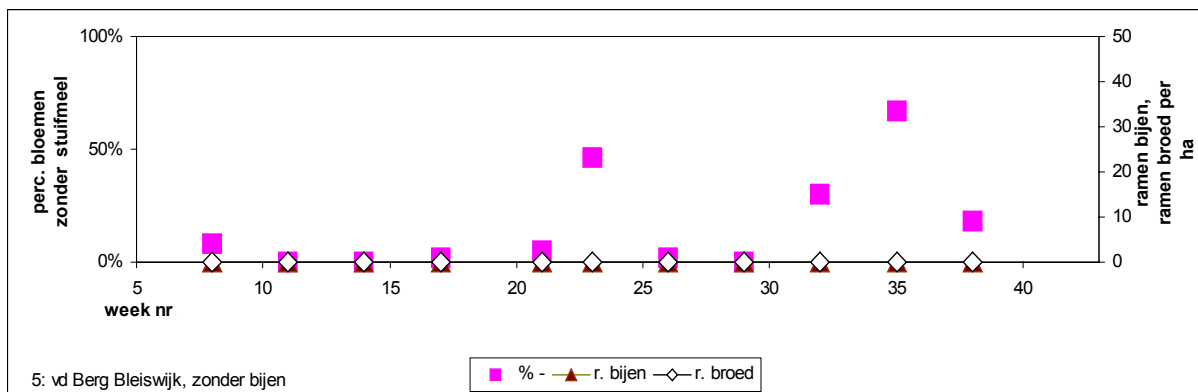
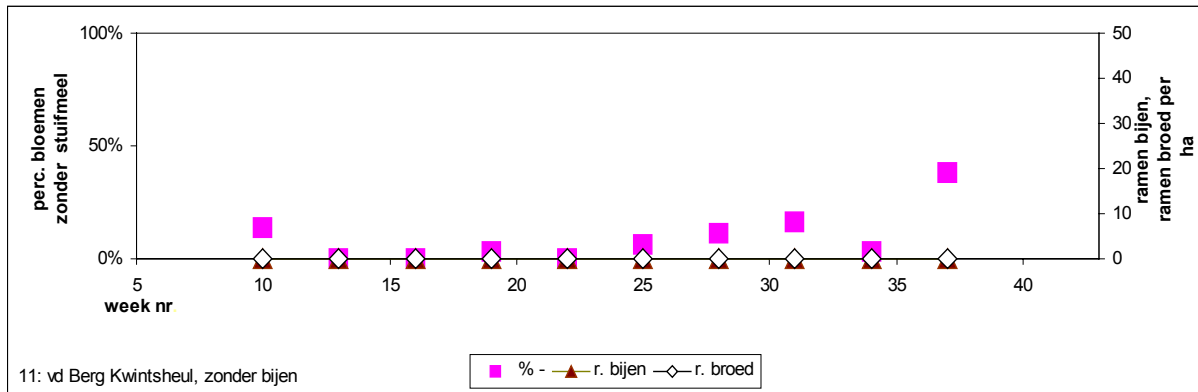
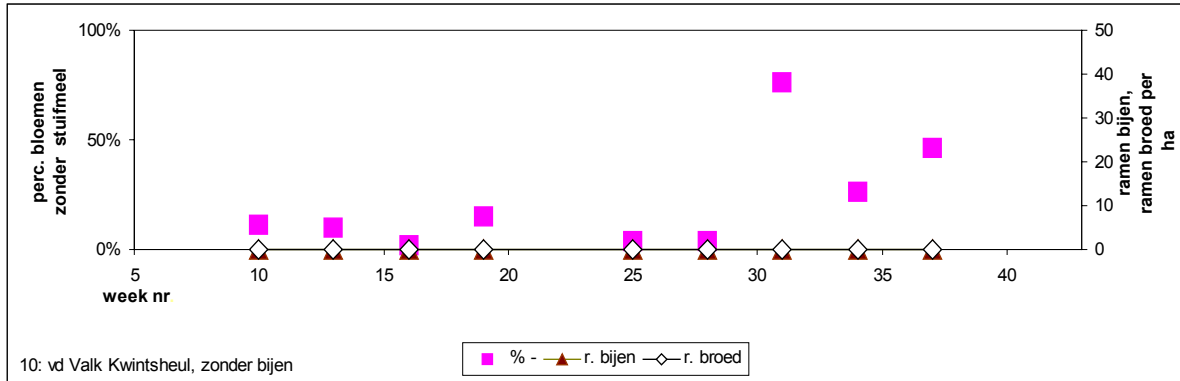
**BIJLAGE 2 OVERZICHT BIJENVOLKEN DIE BUITEN DE BEREKENINGEN ZIJN GEHOUDEN**

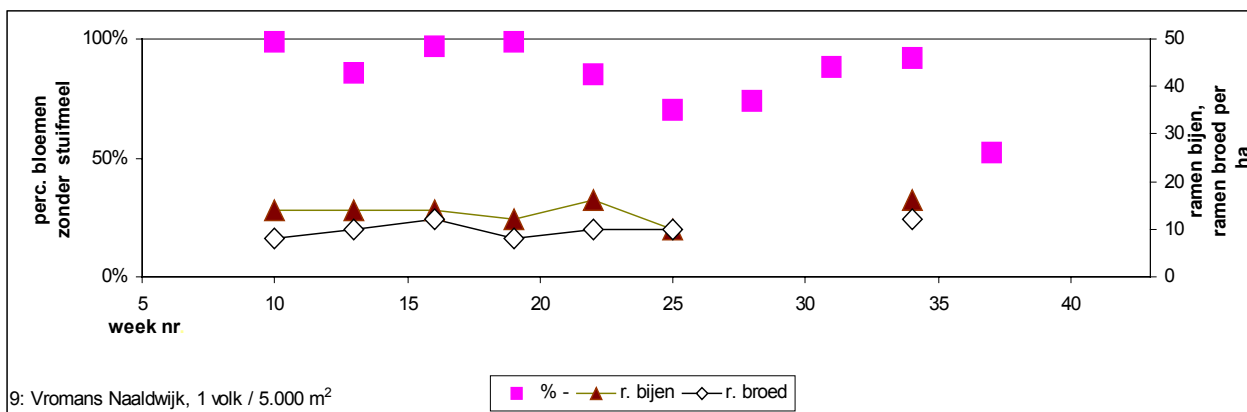
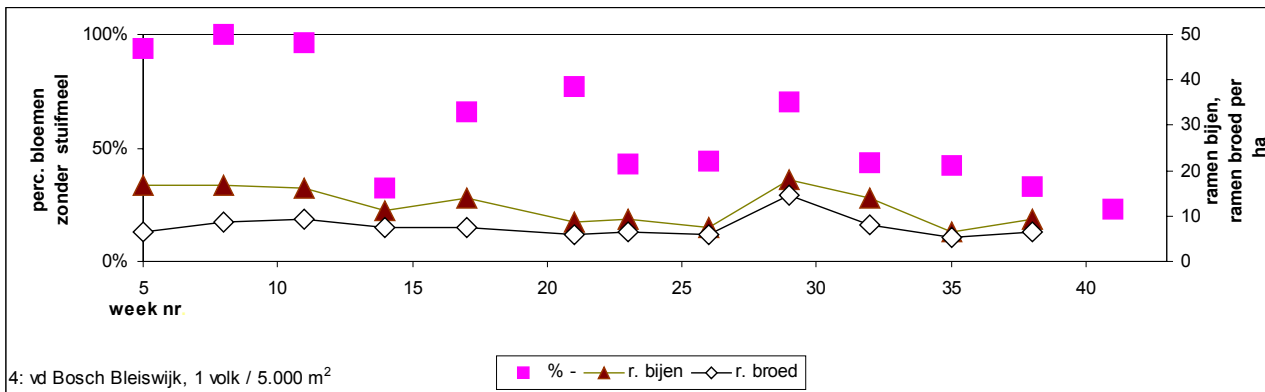
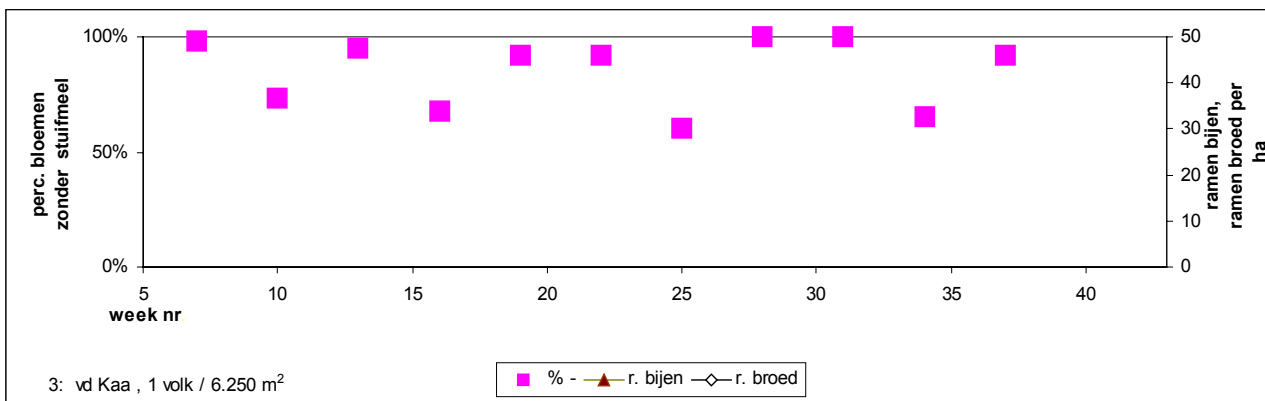
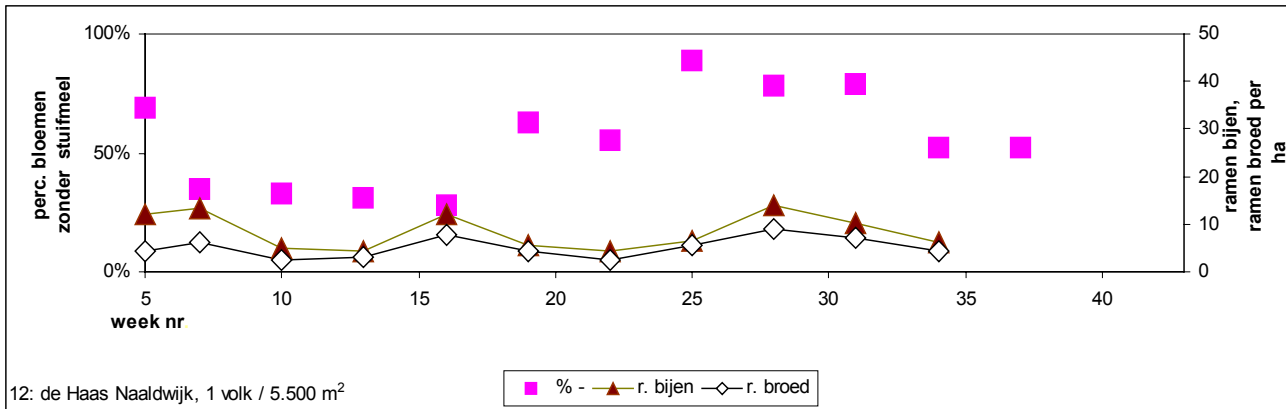
Overzicht van de bijenvolken die buiten de berekeningen voor de gemiddelde gebruiksduur zijn gehouden omdat deze volken om andere reden dan onvoldoende volksomvang uit de paprikakassen zijn verwijderd.

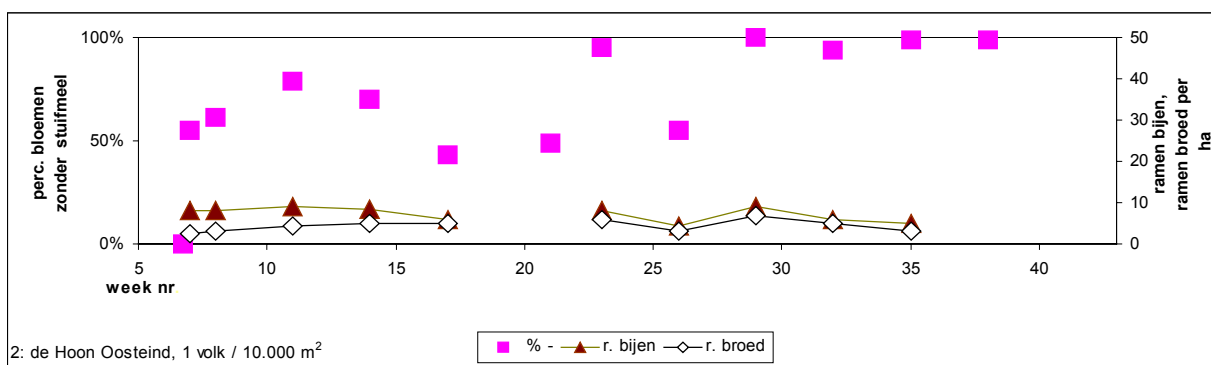
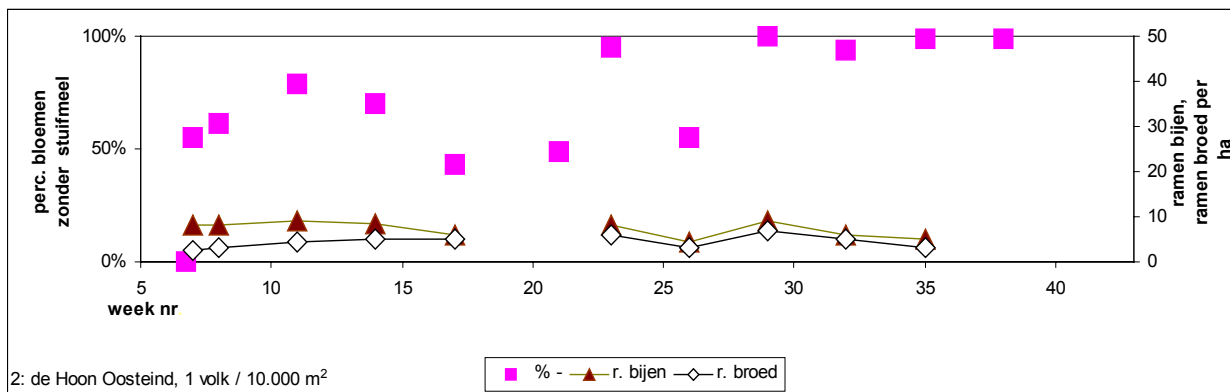
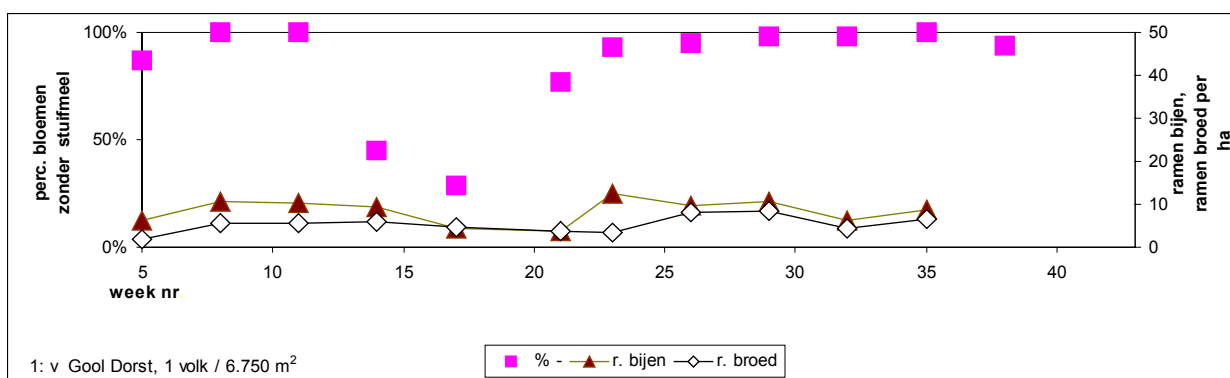
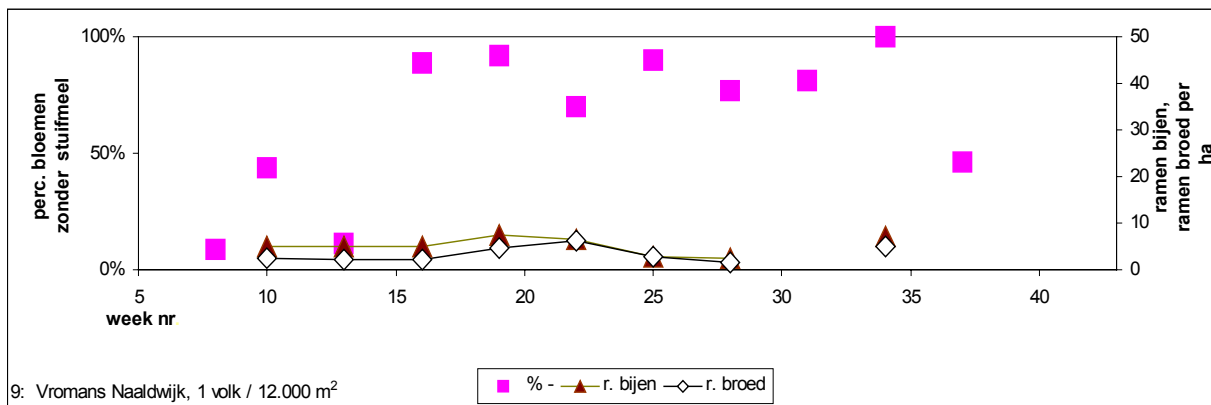
volk nr.	verblijfsduur in de kas	reden beëindiging
85	11	eiende teelt
66	8	eiende teelt
223	2	eiende teelt
45	20	eiende teelt
278	6	eiende teelt
242	3	eiende teelt
251	5	retour vanwege vermeende vervuiling
101	5	retour vanwege vermeende vervuiling
161	1	geen broed 1e controle
154	12	eiende teelt
193	6	eiende teelt
224	6	eiende teelt
305	1	geen broed 1e controle
141	9	eiende teelt
185	3	eiende teelt
46	15	retour vanwege Admire behandeling
75	3	retour vanwege Admire behandeling
292	6	eiende teelt
287	6	eiende teelt
231	6	eiende teelt
263	0	geen broed 1e controle
142	2	Spuitschade
283	3	Warmlopen
264	3	Warmlopen

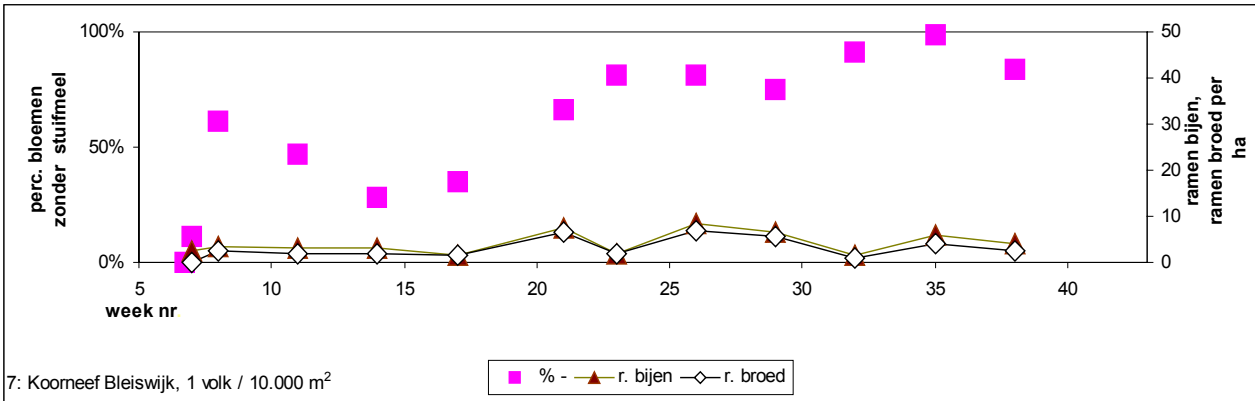
### BIJLAGE 3: WAARNEMINGEN VAN DE VOLKSTERKTE EN HET VERZAMELEN VAN STUIFMEEL PER PAPIKABEDRIJF

Grafieken van de waarnemingen van de volksterkte van de bijenvolken en de mate waarin het stuifmeel van de paprikabloemen is verzameld per individueel proefbedrijf.









## BIJLAGE 4 STATISTISCHE ANALYSE PERCENTAGE BLOEMEN ZONDER STUIFMEEL / DICHTHEID BIJEN

### Kansverdeling van de waarnemingen:

De y-variabele is de fractie bloemen zonder stuifmeel. Omdat er slechts 2 mogelijkheden zijn onderscheiden (wel of geen stuifmeel) heeft de variabele een binomiale verdeling met  $n$  = het totaal aantal bekeken bloemen en

$p$  = de kans dat een willekeurige bloem **geen** stuifmeel had.

De fractie bloemen zonderstuifmeel is dan  $n \cdot p$ .  $N$  was steeds 100 bloemen per meting.

### Gebruikt model:

exponentiele curve (zie curve in figuur rechts):

$$y = a + b \cdot r^x$$

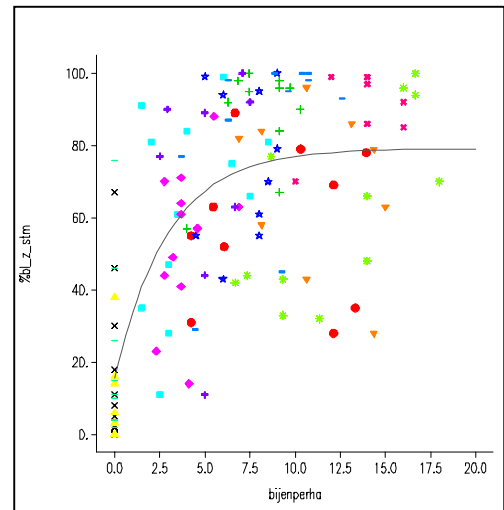
$y$  = % bloemen zonder stuifmeel

$x$  = aantal bijen per raam

parameter  $a$  = asymptoot

$b$  = 'startpunt' ( $a+b$  =  $y$ -waarde bij  $x=0$ )

$r$  = relatieve snelheid ('rate')



Het is logisch dit soort curve te verwachten: bij een hoge  $X$  (aantal bijen) zal bijna elk bloemetje leeggehaald zijn, bij minder bijen steeds minder. Helemaal nul zal het niet worden doordat eventueel bijen van buiten komen om stuifmeel te halen, of omdat ook door plantbewerking bloemen stuifmeel kunnen verliezen.

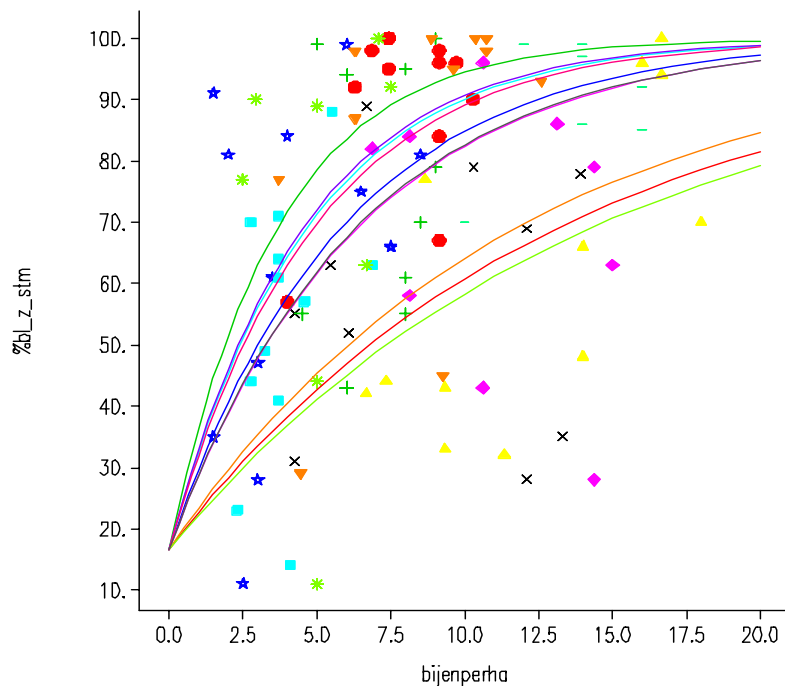
Vervolgens heeft het programma de volgende mogelijke varianten van de curve doorgerekend:

- 1 1 curve door alle waarnemingspunten. Dit is de uitgangscurve (zie figuurtje boven).
- 2 Vervolgens is per bedrijf gezocht naar de optimale waarde voor  $a$ : de asymptoot waarnaar de waarden neigen bij een maximaal aantal bijen. Vooralsnog nemen we aan dat de asymptoot 100 zou kunnen zijn, maar uitgerekend uit de punten hoeft dat nog niet te blijken.
- 3 Daarna is naar een optimaal snijpunt met de  $Y$ -as gezocht, gesteld dat ieder bedrijf een curve met dezelfde asymptoot (maximale waarde) en relatieve kromming heeft.
- 4 De kromming per bedrijf optimaliseren, bij een zelfde nulpunt en een zelfde maximum ( $a$ ). Hier bleek een aantal bedrijven duidelijk buiten de rest van het veld te vallen: deze bereikten de asymptoot (= maximale % bloemen zonder stuifmeel) pas bij veel hogere bijendichtheden dan de resterende bedrijven.
- 5 Parameters  $b$  en  $r$  per bedrijf optimaliseren; parameters  $a$  voor alle bedrijven gelijk. Hier had het programma moeite mee (was dus nauwelijks mogelijk), en weer vielen een paar bedrijven ver buiten de rest.
- 6 Parameter  $a$  op 100 stellen; parameter  $b$  1 maal schatten op alle data, vervolgens vastzetten op de gevonden waarde en parameter  $r$  schatten voor de bedrijven met bijen afzonderlijk.

Uitgaande van de veronderstelling dat bij inzet van voldoende bijen 100% bloemen zonder stuifmeel bereikt kan worden, kunnen we de parameter  $a$  vast zetten op 100.

Dan zijn er nog 3 bedrijven zonder inzet van bijen. Deze bedrijven worden gebruikt om het 'nul-punt' van de curve te schatten: de waarde van het aantal bloemen zonder stuifmeel als er geen bijenvolken worden ingezet. In het model is dit de waarde van parameter  $a$  plus die van parameter  $b$ .

De parameter  $r$  kunnen we dan schatten per bedrijf en we kunnen zien of voor de waarde van  $r$  significante verschillen aanwezig zijn tussen de bedrijven.



Deze analyse leverde het volgende resultaat op

\*\*\* Homogene groepen in p\_spair (bij P=0.05)

teler	r	.. groep	p-waarde	verschil
3	0.7629	a . . .	*	
12	0.8037	a . . .	0.512	*
5	0.8084	a . . .	0.539	1.000 *
13	0.8376	a . . .	0.459	0.986 0.869 *
4	0.8436	a b . .	0.212	0.585 0.502 0.649 *
14	0.8549	a b c .	0.259	0.534 0.431 0.542 0.800 *
6	0.8561	a b c .	0.096	0.352 0.324 0.449 0.755 1.000 *
8	0.9191	. b c d	0.003	0.018 0.013 0.028 0.058 0.207 0.115 *
2	0.9274	. . c d	0.001	0.007 0.006 0.013 0.025 0.110 0.060 0.722 *
9	0.9330	. . . d	0.000	0.000 0.001 0.002 0.004 0.027 0.015 0.416 0.698 *

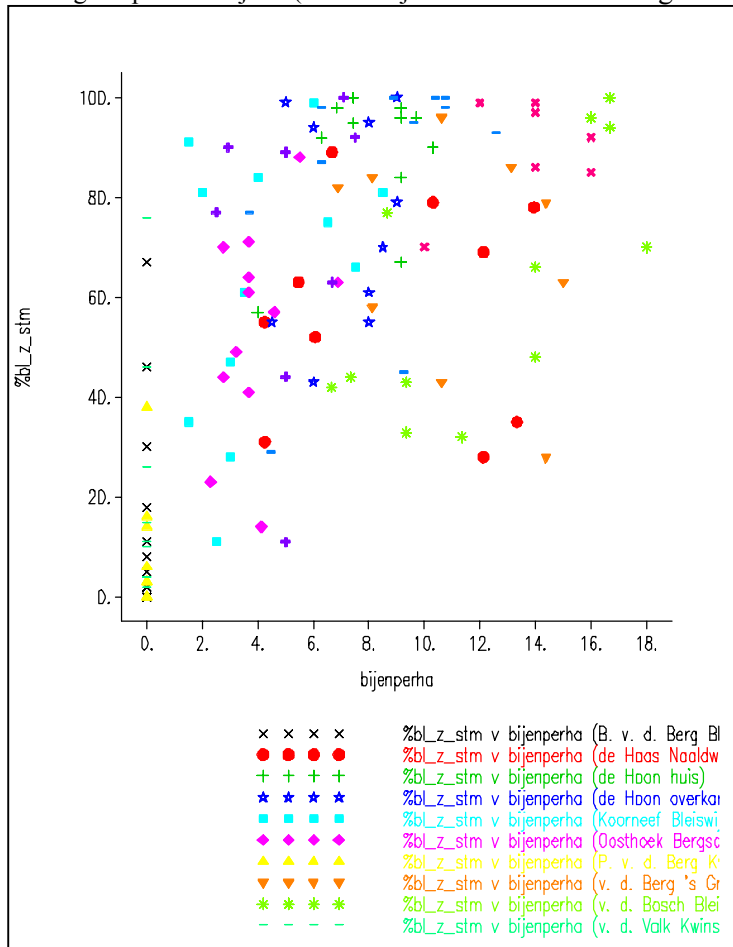
De p-waarden zijn benaderingen omdat het model op een binomiale verdeling berust i.p.v. een normale verdeling, maar de aantallen zijn groot genoeg voor een goede benadering.

### Conclusie statistische analyse:

Uitgaande van eenzelfde nulpunt (hoeveelheid bloemen zonder stuifmeel zonder inzet van bijen) en een asymptoot van 100 (bij voldoende bijen wordt 100% van stuifmeel ontdaan) wordt bij alle bedrijven een correlatie tussen het aantal ramen bijen en het percentage bloemen zonder stuifmeel gevonden. De sterkte van de relatie (kromming van de curve) verschilt per bedrijf. In de totale groep zijn vier significant onderscheidbare groepen te herkennen (zie analyse boven: a, b, c en d in de tabel), die echter deels overlappen. Deze grote variatie tussen bedrijven maakt het ook logisch dat in figuur 3 en 2 weinig verschillen toonbaar waren, omdat binnen de groepen zoveel verschil aanwezig was.

### Relatie aantal bijen per raam en % bloemen zonder stuifmeel.

Metingen op 10 bedrijven (van bedrijf 'v. d. Kaa Zevenbergen' waren geen bijendichtheden gemeten)



Kansverdeling van de waarnemingen:

De y-variabele is de fractie bloemen zonder stuifmeel. Omdat er slechts 2 mogelijkheden zijn onderscheiden (wel of geen stuifmeel) heeft de variabele een binomiale verdeling met  $n =$  het totaal aantal bekeken bloemen en  $p =$  de kans dat een willekeurige bloem **geen**

stuifmeel had.

De fractie bloemen zonderstuifmeel is dan  $n \cdot p$ .

Omdat alle data reeds zijn omgerekend naar % wordt voor alle metingen (units)  $n$  op 100 gesteld.

Model: exponentiele curve (zie curve in figuur rechts):

$$y = a + b \cdot r^x$$

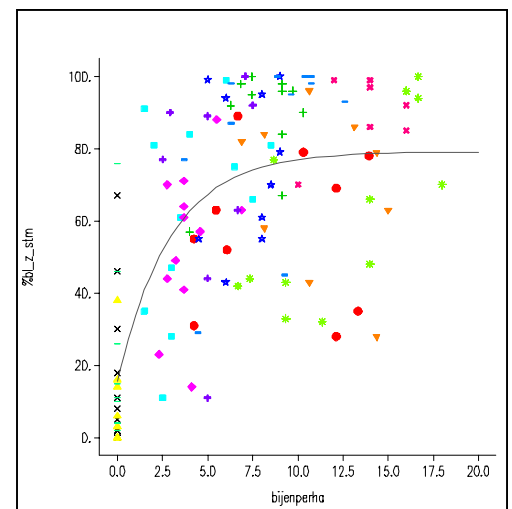
$y =$  % bloemen zonder stuifmeel

$x =$  aantalbijen per raam

parameter  $a =$  asymptoot

$b =$  'startpunt' ( $a+b = y$ -waarde bij  $x=0$ )

$r =$  relatieve snelheid ('rate')



Mogelijke variantien ('speciale gevallen') van deze curve:

1. 1 curve door alle waarnemingspunten.
2. parameter  $a$  per bedrijf optimaliseren; parameters  $b$  en  $r$  voor alle bedrijven gelijk.
3. parameter  $b$  per bedrijf optimaliseren; parameters  $a$  en  $r$  voor alle bedrijven gelijk.
4. parameter  $r$  per bedrijf optimaliseren; parameters  $a$  en  $b$  voor alle bedrijven gelijk.
5. parameters  $b$  en  $r$  per bedrijf optimaliseren; parameters  $a$  voor alle bedrijven gelijk.
6. Parameter  $a$  op 100 stellen; parameter  $b$  1 maal schatten op alle data, vervolgens vastzetten op de gevonden waarde en parameter  $r$  schatten voor de bedrijven met bijen afzonderlijk.

Op de volgende pagina's zijn van deze modellen de parameterschattingen gegeven

**Variant 1: 1 curve door alle waarnemingspunten**

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

Response variate: %bl\_z\_stm  
 Binomial totals: alle\_bl\_%  
 Distribution: Binomial  
 Nonlinear parameters: a, b, r  
 Model calculations: em

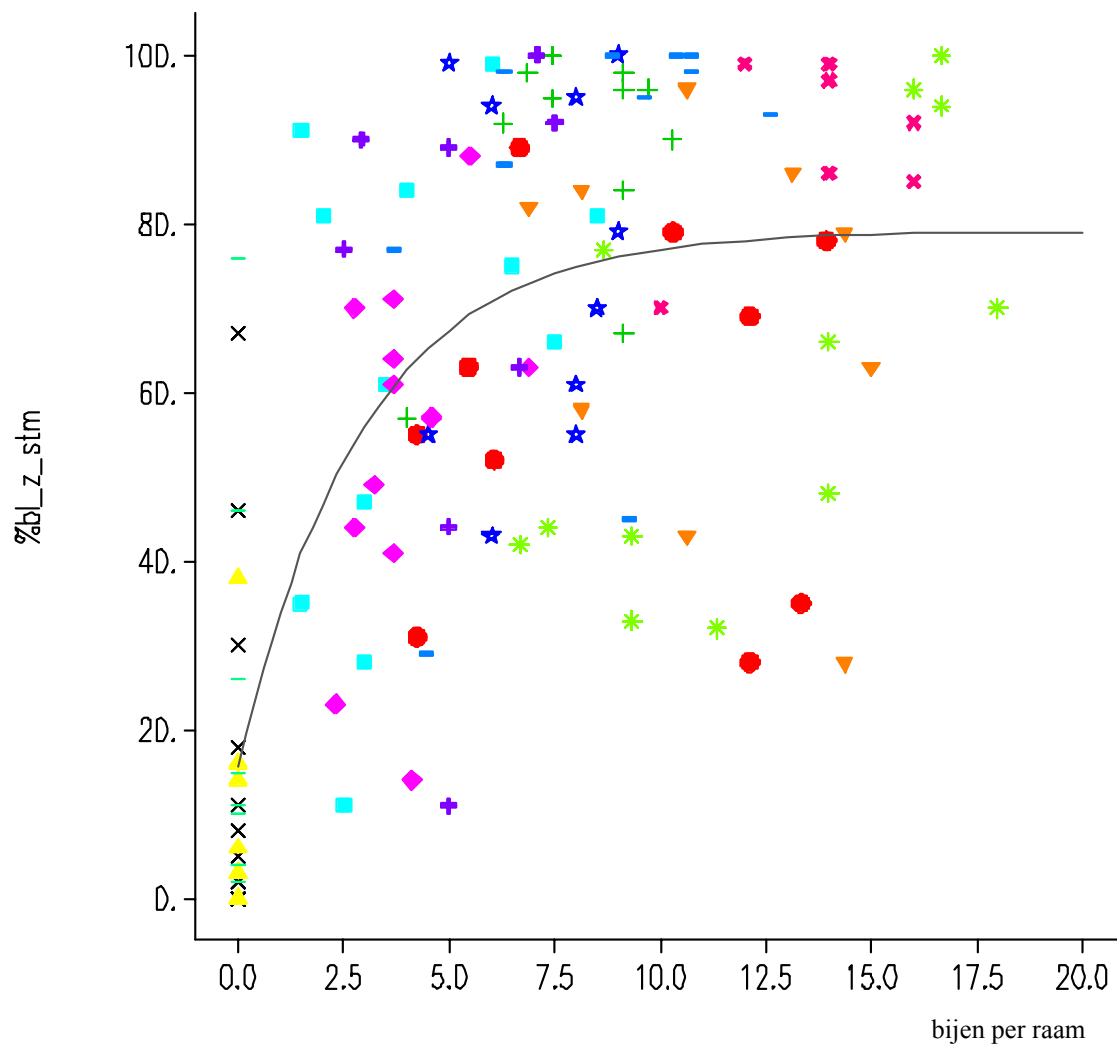
\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	3	*	*	
Residual	130	3874.	29.80	
Total	133	*	*	

Dispersion parameter is estimated to be 29.8 from the residual deviance

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.
a	79.18	4.10
b	-63.54	5.30
r	0.7143	0.0636



**Variant 2: parameter a per bedrijf optimaliseren; parameters b en r voor alle bedrijven gelijk.**

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

Response variate: %bl\_z\_stm  
Binomial totals: alle\_bl\_%  
Distribution: Binomial  
Nonlinear parameters: A[1], A[2], A[3], A[4], A[5], A[6], A[7], A[9], A[10], A[11], b, r  
Model calculations: em

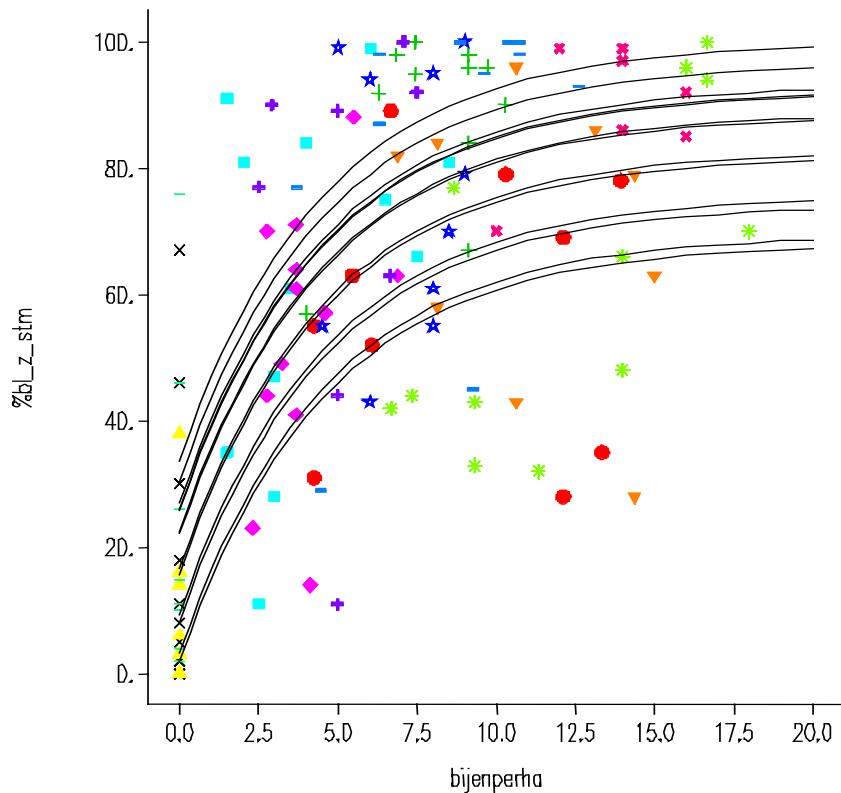
\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	12	*	*	
Residual	91	2350.	25.82	
Total	103	*	*	

Dispersion parameter is estimated to be 25.8 from the residual deviance

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.
A[1]	78.2	20.7
A[2]	110.2	20.8
A[3]	98.5	22.2
A[4]	98.5	21.1
A[5]	88.8	21.8
A[6]	82.8	19.6
A[7]	76.5	19.4
A[9]	106.1	20.5
A[10]	100.9	22.5
A[11]	100.5	16.9
b	-56.0	19.2
r	0.8843	0.0984



**Variant 3: parameter b per bedrijf optimaliseren; parameters a en r voor alle bedrijven gelijk.**

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

Response variate: %bl\_z\_stm  
 Binomial totals: alle\_bl\_%  
 Distribution: Binomial  
 Nonlinear parameters: a, B[1], B[2], B[3], B[4], B[5], B[6], B[7], B[9], B[10], B[11], r  
 Model calculations: em

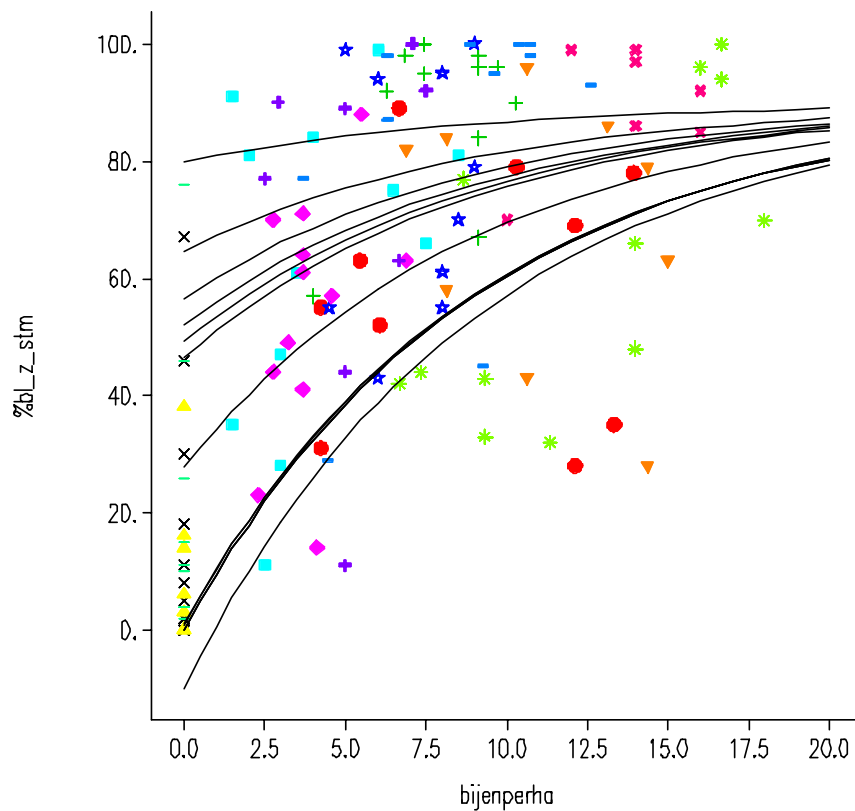
\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	12	*	*	*
Residual	91	2377.	26.12	
Total	103	*	*	*

Dispersion parameter is estimated to be 26.1 from the residual deviance

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate
a	124.3
B[1]	-94.38
B[2]	-48.80
B[3]	-66.49
B[4]	-72.39
B[5]	-83.19
B[6]	-88.41
B[7]	-103.4
B[9]	-56.43
B[10]	-66.41
B[11]	-61.87
r	0.9589



**Variant 4: parameter r per bedrijf optimaliseren; parameters a en b voor alle bedrijven gelijk.**

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

Response variate: %bl\_z\_stm  
 Binomial totals: alle\_bl\_%  
 Distribution: Binomial  
 Nonlinear parameters: a, b, R[1], R[2], R[3], R[4], R[5], R[6], R[7], R[9], R[10], R[11]  
 Model calculations: em

\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

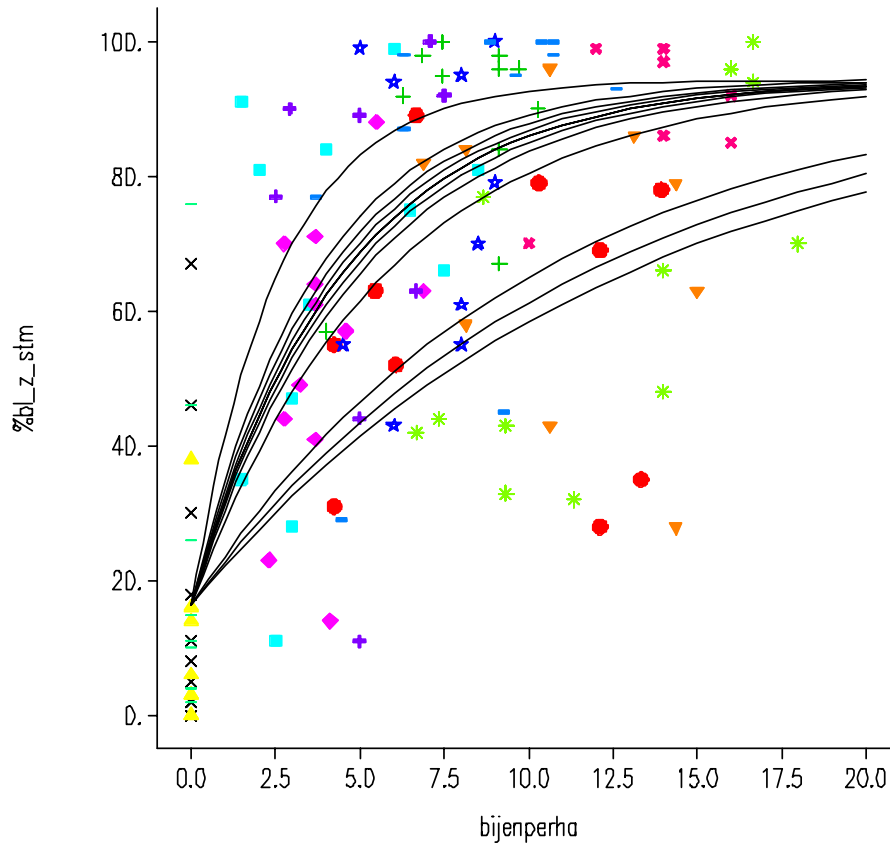
	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	12	*	*	
Residual	91	2336.	25.67	
Total	103	*	*	

Dispersion parameter is estimated to be 25.7 from the residual deviance

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.
a	99.93	6.53
b	-60.9	14.1
R[1]	0.9618	0.0287
R[2]	0.7942	0.0834
R[3]	0.8819	0.0458
R[4]	0.8752	0.0601
R[5]	0.9258	0.0578
R[6]	0.9466	0.0275
R[7]	0.9560	0.0213
R[9]	0.8362	0.0583
R[10]	0.8702	0.0598
R[11]	0.8748	*

\* MESSAGE: some standard errors not available due to singularity



**Variant 5: parameters b en r per bedrijf optimaliseren; parameters a voor alle bedrijven gelijk.**

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

```

Response variate: %bl_z_stm
Binomial totals: alle_bl_%
Distribution: Binomial
Nonlinear parameters: a, B[1], B[2], B[3], B[4], B[5], B[6], B[7], B[8], B[9], B[11], B[12],
B[13], B[14], R[1], R[2], R[3], R[4], R[5], R[6], R[7], R[8], R[9], R[11], R[12],
R[13], R[14]
Model calculations: em
  
```

\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	27	*	*	*
Residual	106	5802.	54.73	
Total	133	*	*	*

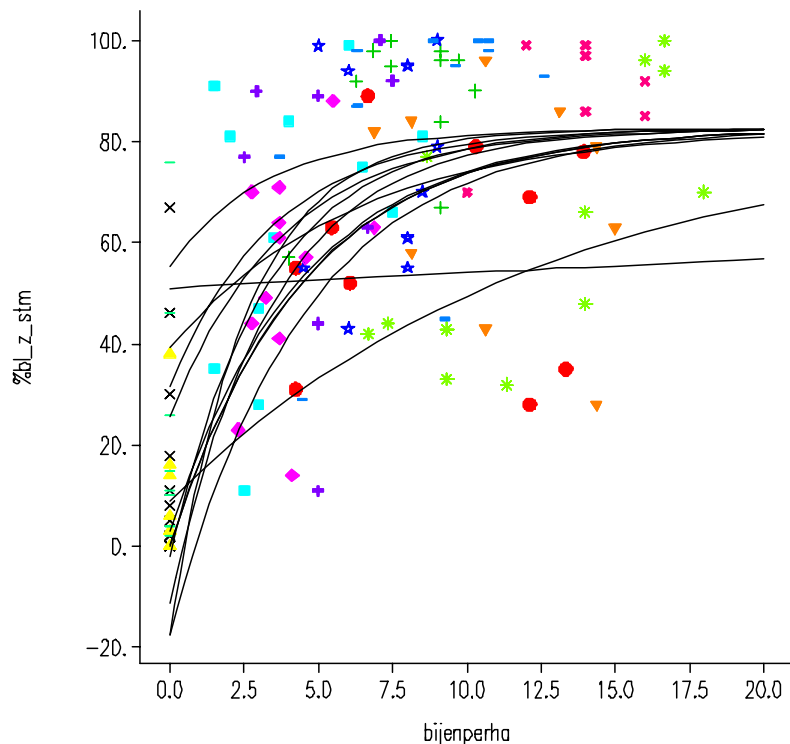
Dispersion parameter is estimated to be 54.7 from the residual deviance

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate		
a	82.57		
B[1]	-82.40	R[1]	0.8000
B[2]	-31.52	R[2]	0.9900
B[3]	-27.21	R[3]	0.7389
B[4]	-43.36	R[4]	0.8500
B[5]	-50.91	R[5]	0.7536
B[6]	-93.86	R[6]	0.7488
B[7]	-82.35	R[7]	0.8000
B[8]	-73.48	R[8]	0.9233

Hierbij gaf genstat de waarschuwing dat het optimalisatieproces niet voldoende convergeerde. Te zien is ook dat door de parameter vrij te laten kiezen per bedrijf, de curves meteen verder uit elkaar liggen.

B[9]	-100.0	R[9]	0.8001
B[11]	-79.46	R[11]	0.8000
B[12]	-84.62	R[12]	0.7353
B[13]	-56.82	R[13]	0.7698
B[14]	-100.0	R[14]	0.6782



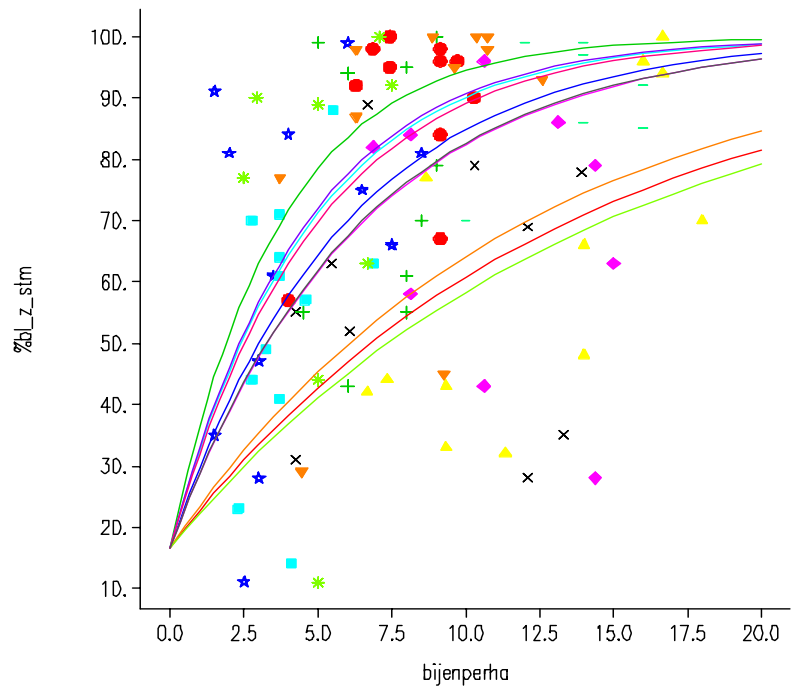
**Variante 6: Parameter a op 100 stellen; parameter b 1 maal schatten op alle data, vervolgens vastzetten op de gevonden waarde en parameter r schatten voor de bedrijven met bijen afzonderlijk.** Uitgaande van de veronderstelling dat bij inzet van voldoende bijen 100% bloemen zonderstuifmeel bereikt kan worden, kunnen we de parameter a vast zetten op 100. Dan zijn er nog 3 bedrijven zonder inzet van bijen. Deze bedrijven worden gebruikt om het 'nul-punt' van de curve te schatten: de waarde van het aantal bloemen zonder stuifmeel als er geen bijenvolken worden ingezet. In het model is dit de waarde van parameter a plus die van parameter b. De parameter r kunnen we dan schatten per bedrijf en we kunnen zien of voor de waarde van r significante verschillen aanwezig zijn tussen de bedrijven.

Deze analyse leverde het volgende resultaat op

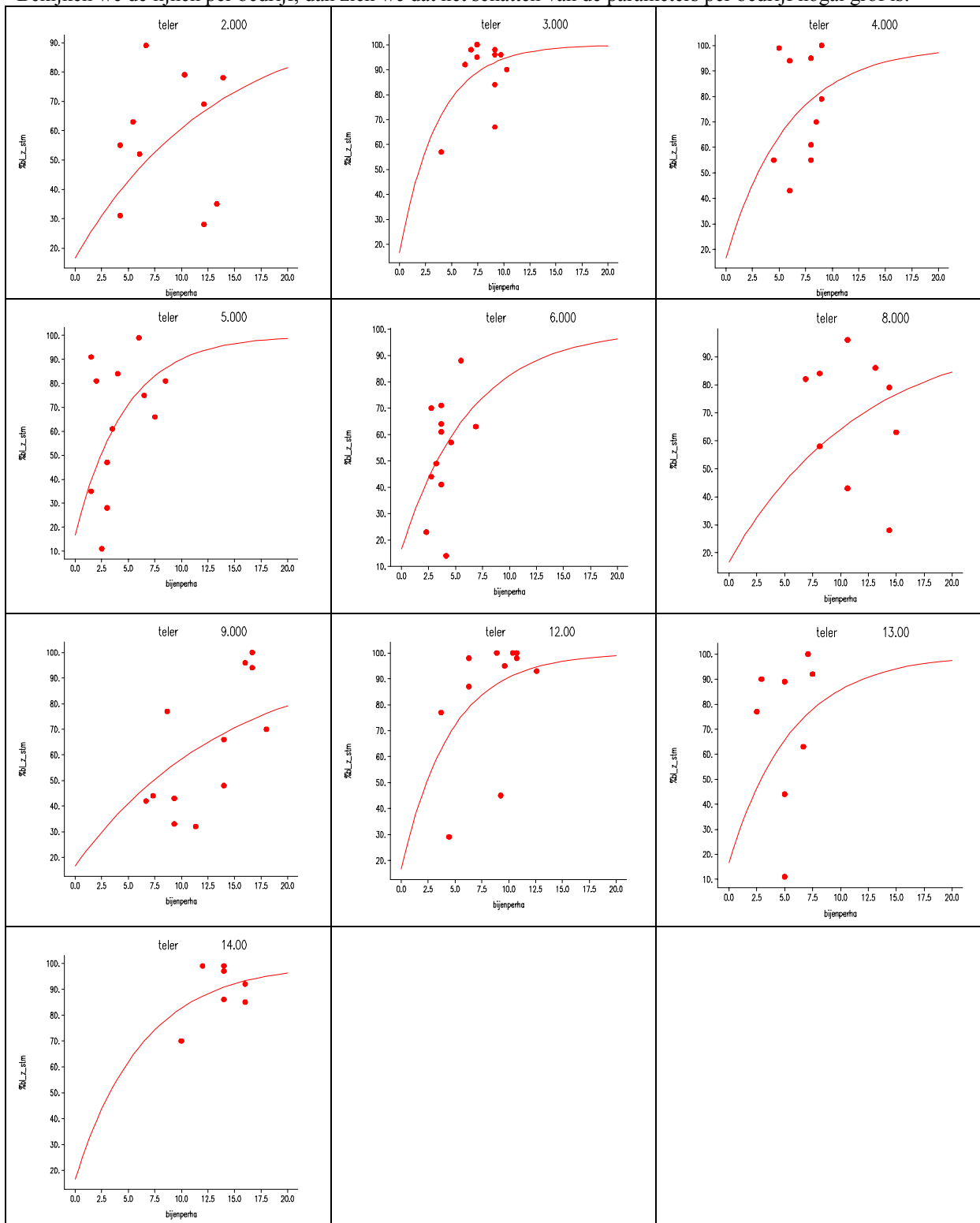
\*\*\* Homogene groepen in p\_spair (bij P=0.05)

teler	r	.. groep	p-waarde	verschil
3	0.7629	a . . .	*	
12	0.8037	a . . .	0.512	*
5	0.8084	a . . .	0.539	1.000 *
13	0.8376	a . . .	0.459	0.986 0.869 *
4	0.8436	a b . .	0.212	0.585 0.502 0.649 *
14	0.8549	a b c .	0.259	0.534 0.431 0.542 0.800 *
6	0.8561	a b c .	0.096	0.352 0.324 0.449 0.755 1.000 *
8	0.9191	. b c d	0.003	0.018 0.013 0.028 0.058 0.207 0.115 *
2	0.9274	. . c d	0.001	0.007 0.006 0.013 0.025 0.110 0.060 0.722 *
9	0.9330	. . . d	0.000	0.000 0.001 0.002 0.004 0.027 0.015 0.416 0.698 *

De p-waarden zijn benaderingen omdat het model op een binomiale verdeling berust i.p.v. een normale, maar de aantallen zijn groot genoeg voor een goede benadering.

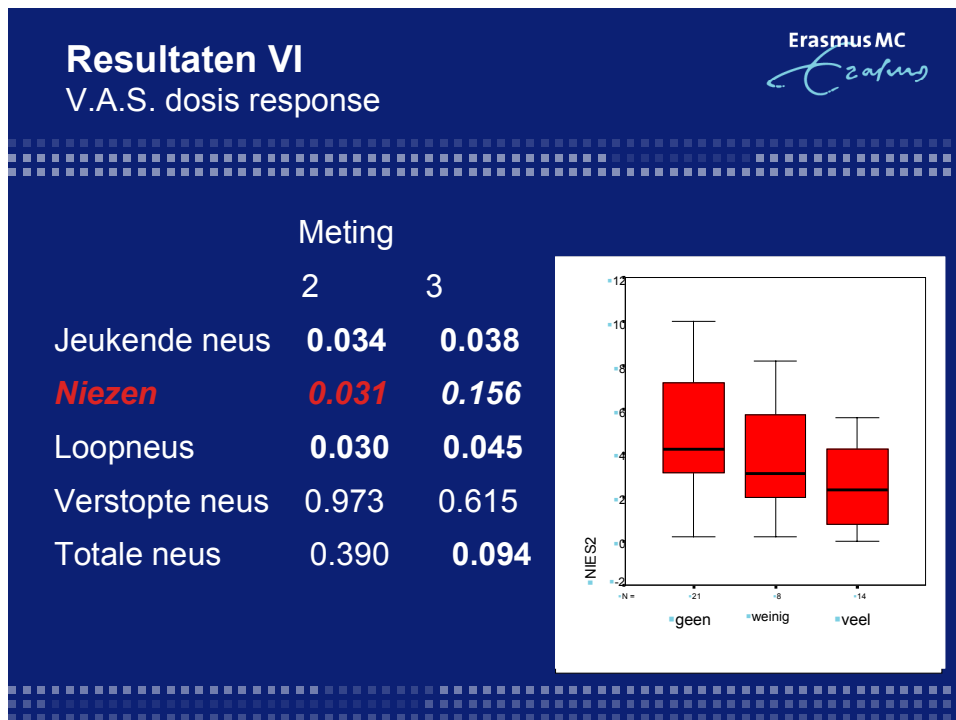
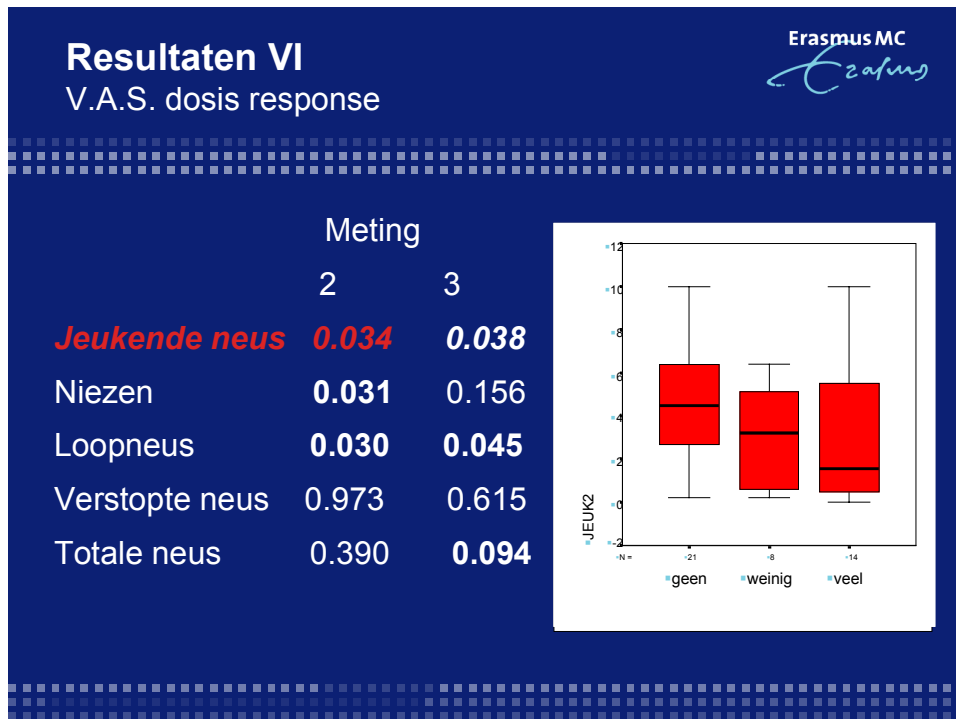


Bekijken we de lijnen per bedrijf, dan zien we dat het schatten van de parameters per bedrijf nogal graf is:



De speiding tussen de waarnemingen %bloemen\_zonder\_stuifmeel binnen bedrijven is zeer groot, terwijl de variatie in aantallen bijen per raam vrij klein is. Het beeld moet dus ontstaan door over bedrijven heen te kijken. De bedrijven 2, 8 en 9 lijken in de grafiek op de vorige pagina wat afgezonderd te liggen. Ook bij de schattingen van de parameter  $r$  liggen ze wat verder weg van de overige bedrijven. Is hier een verklaring voor te vinden?

BIJLAGE 5: BOX PLOTS



## Resultaten VI

V.A.S. dosis response

	Meting	
	2	3
Jeukende neus	<b>0.034</b>	<b>0.038</b>
Niezen	<b>0.031</b>	0.156
<b>Loopneus</b>	<b>0.030</b>	<b>0.045</b>
Verstopte neus	0.973	0.615
Totale neus	0.390	0.094

