



Výzkumný ústav včelařský, s.r.o., Dol
252 66 Libčice nad Vltavou

Tel: 220 941 259 Fax: 220 941 252 e-mail: beedol@beedol.cz

Závěrečná zpráva

**o plnění úkolů vyplývajících ze smlouvy o dílo č. 553/2013-17221 k úkolu
č. 110048 A uzavřené mezi MZe ČR a VÚVč v Dole**

**k provedení analýzy rozsahu a vlivu používání vysoce rizikových
insekticidů ze skupiny neonikotinoidů pro včely**



Dol, říjen 2013

Objednavatel: Česká republika – Ministerstvo zemědělství ČR
Těšnov 17, 117 05 Praha 1

Zastoupený: Ing. Jiří Machek, ředitel odboru rostlinných komodit

Zmocněnec pro věcná jednání: Ing. Michal Hnízdl

Zhotovitel: Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.
Máslovice – Dol 94, 252 66 p. Libčice nad Vltavou

Zastoupený: Dr. Ing. Františkem Kamlerem, ředitelem ústavu

IČO: 62968335

Pověřený pracovník: Ing. Dalibor Titěra, CSc.

Anotace

Laboratorní a polní studie publikované v posledních 5 letech jednoznačně prokázaly vedlejší subletální účinky neonikotinoidů na včely a další užitečný hmyz na úrovni jedinců.

Spolehlivé posouzení míry nevratných škod na včelstvech a celých populacích užitečného hmyzu pod zátěží subletálních dávek neonikotinoidů a mixu dalších pesticidů nelze zatím provést.

Probíhají a jsou zakládány další studie. Pracuje se rovněž na harmonizaci sledovacích a experimentálních postupů pro posuzování pesticidů při registracích přípravků příslušnými autoritami a jejich obnovách.

Experimentální odběry 13 vzorků pylu ze včelstev žijících na různých místech české republiky prokázaly nálezy dvou neonikotinoidů, dvou dalších insekticidů, pěti fungicidů a dvou herbicidů.

Plástový pyl jako potrava vývojových stadií včel může ovlivnit jejich vývoj a přispět k zániku včelstva při kombinaci více negativních faktorů.

Závěry studie budou se souhlasem objednatele použity při přípravě publikací a dalších projektů k předmětné problematice.

V Dole 28. 10. 2013

Ing. Dalibor Titěra, CSc.
vedoucí výzkumu

Dr. Ing. František Kamler
ředitel ústavu

Obsah	str.
Anotace	3
Nikotin, neonikotinoidy	.7
Chování neonikotinoidů v přírodě	
Problematika rozkladu	8
Ekotoxikologie	8
včely a další užitečný hmyz	
metody testování, které je třeba validovat	
Přehled v Evropě používaných neonikotinoidů	11
Imidakloprid	
Mechanismus účinku	
Thiametoxam	
Dopad účinku na včely	
Thiakloprid	
Acetamiprid	
Klothianidin	
Současná legislativní úprava	13
Rozsah použití neonikotinoidů	14
Hlavní plodiny ošetřované neonikotinoidy a jejich plochy	14
Ošetřované plochy a dávky neonikotinoidů	15
Riziko pro včely z pohledu jejich biologie	15
Způsoby a rozsah ohrožení včel neonikotinoidy	18
Model přenosu reziduí do úlu	20
Ohrožení jedince	
Ohrožení včelstva	
Ohrožení populace včel	
Experimentální část	21
Záměr	21
Výběr lokalit	21
Materiál a metodika	24
Výsledky	24
Diskuse k analytickým výsledkům	26
Závěr	26
Vybrané zdroje dalších informací	27

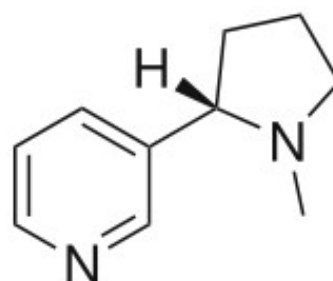
Seznam tabulek:

Tabulka 1	Poločasy rozpadu neonikotinoidů aerobně v půdě
Tabulka 2	Hodnoty akutní toxicity pro včely
Tabulka 3	Obchodní názvy přípravků obsahujících neonikotinoidy
Tabulka 4	Lokality odběru plástového pylu
Tabulka 5	Lokality odběru vzorků a jejich okolí
Tabulka 6	Kvantitativní nálezy [ng/g] ve vzorcích pylu
Tabulka 7	Kvalitativní a semikvantitativní nálezy ve vzorcích pylu



Nikotin

Nikotin je pojmenován podle latinského označení rostliny *Nicotiana tabacum*, která byla nazvána po francouzském velvyslanci v Portugalsku. Tento muž, Jean Nicot de Villemain, poslal v roce 1560 do Paříže semena tabáku s poukazem na jeho léčivé účinky. Jako insekticid se odvar z tabákových listů používá asi od roku 1700.



Neonikotinoidy

Neonikotinoidy jsou skupina syntetických insekticidů odvozených od molekuly nikotinu. Při jejich vývoji od roku 1980 bylo pokládáno za příznivé zjištění, že akutní toxicita neonikotinoidů pro savce je podstatně nižší než u dosud široce používaných organofosfátů a karbamátů. Většina neonikotinoidů je daleko méně jedovatá pro savce než pro hmyz, ale značně jedovaté jsou některé rozkladné produkty. Jako insekticidy se neonikotinoidy používají již 50 let a v současnosti jsou světově nejrozšířenější skupinou insekticidů ve světovém měřítku.

V posledních letech byly neonikotinoidy zařazeny mezi potenciálně vysoce rizikové látky pro včely. Je prokázáno, že působí neurotoxicky. Dávají se též do souvislosti se syndromem CCD a nedávno publikovaná práce italských autorů demonstruje, že neonikotinoidy narušují imunitní systém včel, jenž se tak stává vnímavější pro virové infekce, vůči kterým jsou normálně včely odolné. (Di Prisco, 2013 [2])

Chování neonikotinoidů v přírodě

Přestup neonikotinoidových účinných látek z mořidel do rostliny je, podle druhu rostlin a dalších okolností, mezi 2 a 20 %. Zbytek, tedy převážná část aplikované látky je deponována v půdě, přičemž poločas rozkladu se udává různě - podle typu látky, půdy a metodiky

stanovení. V tabulce jsou údaje ze dvou studií (Hopwood, 2012 [3]; Goulson, 2013 [10]). Probíhá řada dalších studií ve Francii, Anglii a Německu. Výsledky jsou znepokojivé zejména pro imidakloprid, jehož depozice vykazují velkou perzistenci. Spíše vyšší rychlosti rozpadu reziduí v půdě jsou udávány v materiálových tabulkách (MSDS) jednotlivých účinných látek.

Tabulka 1 Poločasy rozpadu neonikotinoidů aerobně v půdě

	Hopwood et al., 2012	Goulson, 2013
Acetamiprid	1-8	31-450
Klothianidin*	148 - 1155	148 - 6931
Imidakloprid	40 - 997	28 - 1250
Thiakloprid	1 - 27	3 - 74
Thiamethoxam	25 - 100	7 - 353

*Klotianidin je primárním metabolitem thiametoxamu

Velkou roli při odbourávání hraje přítomnost kyslíku, vody a zásadní je nestabilita na světle (Na světle je poločas rozkladu ve vodném prostředí v řádu hodin, ve tmě až v řádu let). To do značné míry vysvětluje překvapivě dlouhodobé přetrvávání reziduí neonikotinoidů ve včelstvech, zejména v přirozených zásobách potravy (Monitoring potravních řetězců). Zásoby medu i plástového pylu jsou díky vysokému obsahu monosacharidů redukčním prostředím. Med obsahuje velmi nízký celkový obsah vody (15-20 %) a nepatrnou vodní aktivitu (a_w 0,5-0,7). Plástový pyl navíc enzymaticky spotřebovává kyslík ze svého okolí a tak dochází k jeho stabilizaci a také ovšem ke stabilizaci reziduí cizorodých látek včetně neonikotinoidů.

Problematika rozkladu

Na příkladu 235 stránkové australské studie Denise Hamiltona o thiamethoxamu [38] je možné demonstrovat, jak komplikované je sledování osudu metabolitů původní látky. Rychlost odbourávání jednotlivých metabolitů je závislý nejen fyzikálních podmínkách, ale i na přítomnosti specifických bakterií.

Ekotoxikologie

Včely a další užitečný hmyz

V posledních letech bylo zřejmé mnoho prací, které dávají do souvislosti hynutí včelstev a aplikaci neonikotinoidů v ochraně rostlin. Studium problému ztěžují další skutečnosti:

- pro jednu včelu (cca 100 mg tělesné hmotnosti) může být toxická dávka neonikotinoidů pod 1 pg. To je množství pod hranicí detekce současnými metodami.
- na této hladině je včela, její potrava a její okolní prostředí kontaminována ještě desítkami dalších látek, potenciálně též toxických, které mohou synergovat, nebo interferovat v neřešitelně velkém počtu kombinací
- příčin ztrát včelstev je více, mezi hlavní počítáme nemoci, zvláště varroázu a asociované virózy (včetně dosud nepopsaných).

Od roku 1992 bylo zveřejněno přes 100 vědeckých prací o neonikotinoidech a včelách. Jedna systematická studie (Blacquiére, 2012 [13]) shrnuje řadu prací popisujících subletální efekty negativně ovlivňující snůškové chování, učení a orientaci včel. Vedle toho polní pokus, při kterém byl včelstvu podáván cukerný roztok s reálnými dávkami neonikotinoidů, škodlivost nepotvrdil. Rovněž kriticky posuzuje některé publikace Cresswell (2012)[14]. Poukazuje na to, že řada prací neobstojí při aplikaci tzv. Bradgord-Hillových kritérií a jsou v nich kauzální mezery. Cresswell dospěl meta-analýzou 14 polních i laboratorních experimentů k závěru, že běžné dávky imidaklopridu sice nezpůsobily měřitelné škody na včelstvech, ale dotčená včelstva měla o 6 až 20 % nižší výnos.

Hromadné poškození více než 11 tisíc včelstev v Horním Porýní koncem dubna 2008 bylo vyhodnoceno jako bezesporný účinek klotianidinu použitého jako mořidlo osiva kukuřice a aplikovaného pneumatickými secími stroji. Prachové částice se vzdušnou cestou dostaly i na okolní porosty, zejména rozkvétající řepku. Na základě tohoto a dalších případů bylo v Německu zakázáno použití mořidel na bázi klotianidinu, imidaklopridu a thiametoxamu (EFSA, 2012 [22]).

V roce 2013 EFSA zveřejnila na základě dalších početných studií stanovisko, že neonikotinoidy klotianidin, imidakloprid a thiametoxam jsou pro včely rizikové, přičemž existuje několik způsobů, jak se látka na včely dostane.

- expozice pylem a nektarem: dostanou se do potravního řetězce a zejména do zásob, které ve včelstvech kolují i více let (z toho plyne, že akceptovatelné je pouze ošetření rostlin, které nejsou navštěvovány včelami)
- expozice prachem: toto riziko na včely je i mimo oseté resp. ošetřené plochy, dá se do určité míry snížit použitím upravených secích strojů a přísné kontrole kvality mořeného osiva z hlediska odrolu. Nižší je riziko u granulovaného osiva cukrovky a při použití ve sklenících.
- expozice gutační vodou: u kukuřice ošetřené thiamethoxamem byla toxicita gutační vody prokázána, koncentrace aktivní látky mnohonásobně překročila průměrný obsah v pletivu rostlin.

Vzhledem k tomu, že nejsou k dispozici přesné údaje k dalším necílovým druhům hmyzu, uvažuje se, že riziko pro tento užitečný hmyz je do jisté srovnatelné se včelou medonosnou. Nicméně, další podrobnější studie na "non Apis" opylovačích jsou požadovány, jako potřebné. Rozdíly jsou mj. ve velikosti těla a hlavně ve způsobu přezimování nikoliv ve společenství, jako má včela medonosná, ale v hybernovaném stavu, což může být výhoda i nevýhoda.

Metody testování, které je třeba validovat

Klíčové studie k analýze rizika podle schematu EFSA potřebují pro mezinárodní akceptabilitu validaci metodik, jejich harmonizaci a organizování kruhových testů.

Jde o tyto okruhy problémů

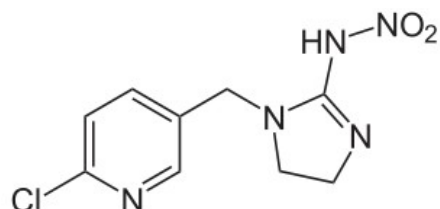
- laboratorní chronická toxicita pro včely
- laboratorní test rozvoje hltanových žláz
- in vitro chov celého vývojového cyklu včely
- studie akumulativní toxicity
- klecové a polní pokusy

Pro testování je navržen obsáhlý manuál EFSA [47]. Z diskuse mezi výzkumnými a laboratorními pracovníky k tomuto dokumentu vyplývá, že naplnění požadavku tohoto materiálu by vyžádalo zatím těžko představitelné navýšení lidských, materiálových a finančních zdrojů. Přesto i po prvních jednáních, na kterých byly kritické připomínky sumarizovány a diskutovány, je zřejmé, že manuál dozná jen kosmetických úprav a bude snaha jej zavést do praxe.

Přehled v Evropě používaných neonikotinoidů

Imidakloprid

Mechanismus účinku

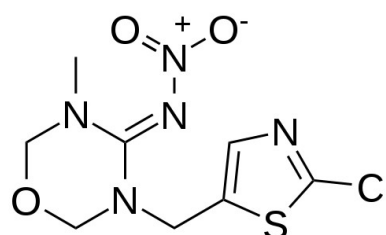


Imidakloprid je systemický insekticid s kontaktní i orální toxicitou. Může být přijímán kořeny a transportován do listů, které jsou pak chráněny proti kousavému a savému hmyzu. Při aplikaci na list transferuje rovnoměrně na svrchní i spodní stranu listu stejně jako na listy nově rašící. Imidakloprid se v rostlině odbourává pomalu a tím pádem působí dlouhodobě.

U hmyzu působí imidakloprid jako acetylcholin na receptory nervových buněk, ale není odbouráván acetylcholinesterázou. Tím je poškozen mechanismus přenosu nervového signálu (Roberts, Hutson, 1999 [39])

Thiamethoxam

Thiamethoxam je systemický insekticid rychle vstřebávaný a distribuovaný rostlinami do všech pletiv. Tím chrání rostlinu před fytofágním hmyzem. Thiamethoxam má kontaktní i požerovou toxitu pro hmyz. Jako u jiných neonikotinoidů porušuje transport nervového signálu a tím hmyz paralyzuje.



Thiamethoxam je středně jedovatá látka, při běžném použití nepředstavuje velké riziko. Je ale jedovatá pro včely a škodlivá pro vodní a půdní organismy. Rozkladným produktem thiamethoxamu v půdě je klothianidin. Spolu s klothianidinem a imidaklopridem je použití thiamethoxamu omezeno v EU na plodinách navštěvovaných včelami.

Dopad účinku na včely

Komplikovanost problematiky dokládá následující dvojice článků uveřejněná krátce po sobě prestižním časopisem *Science* [40].

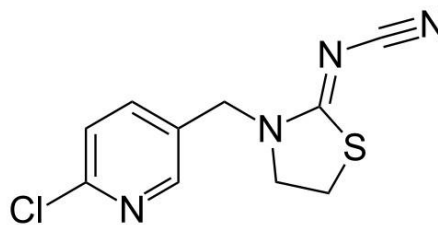
Skupina vědců zjistila, že subletální expozice včel vyvolává vysokou mortalitu díky ztrátě schopnosti vtátit se do svého hnízda. Tento jev byl experimentálně dokázán na včelách označených RF čipy.

Krátce na to polemizuje s těmito výsledky Cresswell a Thompsonová [41], kteří tvrdí že Henry *et al.* [40] použili určitý výpočetní model dokazující, že ztráta orientace zapříčiněná thiametoxamem vede ke kolapsu včelstva. Autoři naopak tvrdí, že pokud se do modelu zadají parametry lépe odpovídající období, kdy kvete většina ošetřených rostlin, ke kolapsu včelstev nedojde.

Polemika však nevyvrací zjištěný vliv thiametoxamu na dezorientaci jedinců. Diskutabilní je dopad na celé včelstvo, jakožto biologickou jednotku.

Thiacloprid

Neonikotinoid, který byl japonskou filiálkou firmy Bayer CropScience dále odvozen z imidaklopridu pro hubení škodlivého hmyzu na polích (řepka) a v ovocných sadech. V Evropě se thiakloprid používá v několika formulacích, též pro aplikace v zahradách. Akutní toxicita thiaklopridu je 15 µg/včelu.

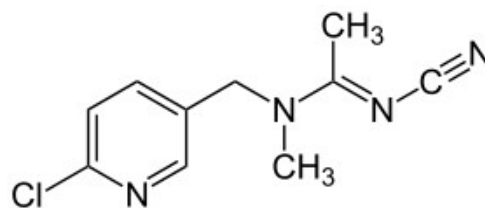


Thiakloprid patří k cyano-substituovaným neonikotinoidům. Nitro-substituované neonikotinoidy (imidakloprid nebo klothianidin) jsou pro včely 1000 x jedovatější. Ale akutní toxicita je jen jeden z parametrů. Subletální dávky působí mj. skokovou změnu v citlivosti včel vůči virovým infekcím. Problémy s narušením orientace jsou podobné, jako u dalších neonikotinoidů (Takao Iwasa [42]).

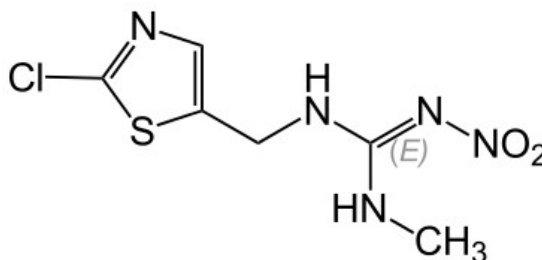
Acetamiprid

Heterocyklický aromatický neonikotinoid, který patří do skupiny tzv. měkkých insekticidů. Jako insekticid má uplatnění v zahradnictví, zelinářství a ovocnictví. Na polích proti blýskáčku, mandelince bramborové.

Je v EU povolen. Závažnější negativní účinky na včely nejsou zaznamenány, ale to může souviset i s menším rozsahem jeho aplikace ve srovnání s ostatními neonikotinoidy. Jeho vysoká insekticidní účinnost určité riziko pro včely predikuje. Jeho perzistenci dokládá mj. to, že ve Švýcarsku byly stanoveny následující limity pro rezidua acetamipridu: 0,5 mg/kg pro salát, 0,1 mg/kg pro hrášek, pórek, rybíz a třešně, 0,05 mg/kg pro brambory, cibuli, slívy a švestky. (Zdroj [43])



Klothianidin



Clothianidin je systemický insekticid s kontaktním a požerovým účinkem. Stejně jako ostatní neonikotinoidy blokuje acetylcholinové receptory. Vzhledem k systemickému účinku se používá zejména jako mořidlo osiv. Ve srovnání s imidaklopridem má asi dvojnásobnou účinnost. Pěstitelé cení ochranný účinek na rubové straně listu, který je dosažen systemicky, což je účinnější při běžné aplikaci jiných látek na list.

Poločas rozpadu v půdě je podle různých studií 120 až 1155 dní.

Toxicita pro včely je vysoká. Clothianidin ve formě přípravku Gaucho je dáván do souvislosti s hromadnými úhyny včel.

Studie univerzity v Padově (2009) testovala toxicitu gutační vody pro včely. Při srovnatelných aplikovaných dávkách mořidla clothianidinu a thiamethoxamu vykázaly větší toxicitu gutační vody než imidakloprid (V. Girolami, (2009) [44])

Jak dalece může dojít k protrahované toxicitě reziduí clothianidinu ze zásob pylu z ošetřené kukuřice, není ještě plně objasněno. Škody hlášené včelaři mohou mít ještě jiné příčiny, mj. varroázu. Máme ale dokumentované nálezy včel s typickými symptomy nervových křečí ze včelstev bez klinické varroázy.

V Itálii, Francii a Norsku je clothianidin zakázán.

Současná legislativní úprava

Vzhledem k tomu, že Evropská komise nemohla rozhodnout kvalifikovanou většinou, usnesla se na částečném omezení použití clothianidinu, imidaklopridu a thiametoxamu od 1. 12. 2013 po následující dva roky.

- Pšenice a ječmen: setí ošetřených osiv a ošetření půdy je možné jen od července do prosince. Aplikace na list není dovolena.

Pro včely je u těchto obilnin riziko z gutace a prachu

- Kukuřice, řepka a slunečnice: ošetření osiva a půdy není dovoleno, aplikace na list je dovolena až po odkvětu

Pro včely je u těchto plodin riziko zejména z pylu, částečně i z nektaru, prachu a gutace

- Cukrovka: ošetření není dotčeno, pokud je sklizeň prováděna před květem

Pro včely cukrovka nepředstavuje zdroj potravy, riziko z prachu a gutace není vyhodnoceno

Použití přípravků upravují

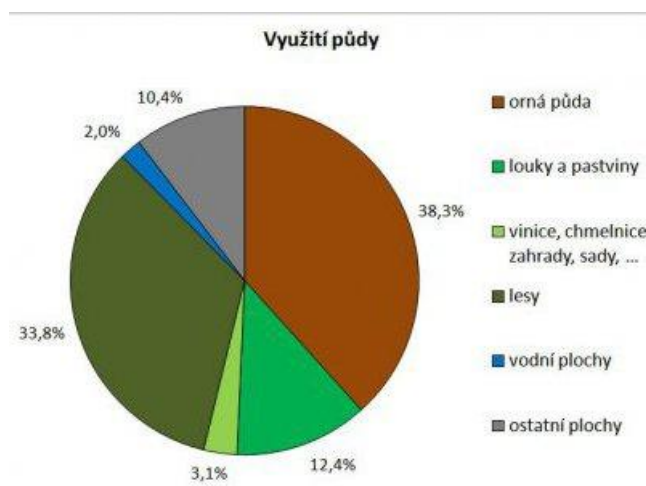
Seznam povolených přípravků a dalších prostředků na ochranu rostlin a

Seznam povolených přípravků a dalších prostředků na ochranu lesa

v aktuálním znění

Rozsah použití neonikotinoidů

Zemědělská půda v ČR představuje plochu kolem **4 mil. hektarů** (53,8 %). Zemědělská půda je dále tvořena ornou půdou (38,3 %) - půda, která je opakovaně zemědělsky obdělávána. Stupeň zornění půdy v ČR je tedy 71,2 % (podíl orné půdy na celkové zemědělské půdě), přičemž evropský průměr je asi 60 %. V rámci zemědělské půdy trvalé travnaté plochy (louky a pastviny) zabírají 12,4 %. Zbylá asi 3 % připadají na zahrady, sady, vinice, chmelnice a ostatní zemědělskou půdu.



Zdroj: <http://www.hajduch.net/cesko/priroda/pudy>

Hlavní plodiny ošetřované neonikotinoidy a jejich plochy

Olejniny 500 000 ha z toho řepka 350 000 ha
mák 50 000 ha
slunečnice 25 000 ha
hořčice 25 000

Ovocné sady (plodné) 15 000 ha

Kukuřice 100 000 ha

Ošetřované plochy a dávky neonikotinoidů

Příklad reálné aplikace acetamipridu (Mospilan 20S) v zemědělském podniku ve středočeském kraji o celkové výměře 2700 ha. Z toho ozimá řepka je pěstována na 450 ha (17 % výměry). Všechny 25 honů ozimé řepky byla ošetřena v období 5. - 15. května insekticidním přípravkem Mospilan v dávce 0,12 l/ha tj. 240 ng účinné látky na cm². To představuje aplikaci 54 kg přípravku, tedy přes 10 kg účinné látky na ploše cca 50 km².

Při průměrném zavčelení 7 včelstev/km² se na této ploše pohybují včely létavky ze 350 včelstev, tedy asi 3 000 000 včel. Prostředí je tedy každoročně zatíženo dávkou asi 3 mg na jednu včelu létavku což je asi 400 násobek dávky LD₅₀. (Tento údaj je bilanční, nepředstavuje dávku, se kterou přijde včela do styku.) Data o významných dávkách působících subletální, leč průkazně nežádoucí účinky zatím nemáme.

Riziko pro včely z pohledu jejich biologie

Výživa včelstev

Zdroje potravy

Včely jsou potravně velmi úzce specializované, takže i zdroje potravy tomu musí odpovídat. Je pozoruhodnou vlastností včelstva, že si potravu neopatřuje každý jedinec sám, ale uplatňuje se dělba práce.

Pro překonání nepříznivých životních podmínek (špatné počasí, zimní období) si shromažďují včely zásoby dobře konzervované potravy, kterou skladují v plástech mimo svá těla, přičemž energetickou potravu (med) a stavební látky (pyl) ukládají a konzumují odděleně.

Voda

Voda je v přírodě k dispozici po celý rok, avšak včely ji nemohou vždy stejně snadno získat.

Převážnou většinu vody, zejména při plodování, musí včely donášet z přírody. V úle žádné zásoby vody nedělají, kromě té vody, kterou mají přechodně ve svém medněm vaku některé

včely, které ji předávají ostatním. Mnoho vody je třeba k ředění zásob a k tvorbě krmné kasičky. Pro nakrmení 100 larev musí 5 nosiček přinést vodu (Lindauer, 1955). Celková spotřeba vody ve včelstvu se odhaduje asi na 30 litrů během sezóny. Denní spotřeba vody kolísá podle množství plodu ve včelstvu. Činí asi 200—300 mililitrů. Byly zaznamenány i přínosy přes 2 litry vody za den při extrémních teplotách.

Přinášení vody pokračuje i za nižších teplot než sběr nektaru. Nepříznivý je vítr. Při rychlosti větru 24 km/h již let včel silně zpomaluje a při rychlosti 32 km/h ustává (Milum, 1938).

Včely preferují zdroje teplejší vody, než je okolní vzduch. Optimální je teplota vody 18 - 32 °C Teplejší vodu než 38 °C již včely neodebírají (Farrar, 1968).

S oblibou navštěvují včely též zdroje slané vody, nejlépe s koncentrací kolem 0,3 %. Potřebnost kuchyňské soli pro včely však není objasněna. Také voda s příměsí močůvky včely vábí. K atraktivitě vody v blízkosti hnojišť přispívají především aromatické látky a snad i zvýšená teplota. Také voda obsahující řasy je z nějakého důvodu pro včely přitažlivá. Včely raději sají vodu z pórovitého materiálu než z hladiny.

V zimním období může včelstvo využívat vodu, která kondenzuje na chladných částech úlu. Také med v otevřených buňkách jímá vodní páru z okolí. Část potřebné vody získávají včely přímo v těle metabolicky při trávení cukrů (Simpson, 1964).

V kulturní krajině ubývá vhodných zdrojů vody pro včely. Nejhorší situace je ve městech, kde je vodních ploch velmi málo a srážková voda odteče kanalizací.

Pyl

Pyl je pro včely zdrojem všech látek nezbytných pro výživu, kromě dostatečného množství cukrů. Výživné látky jsou v pylových buňkách ve vhodném poměru a vhodné formě. Obsah pylového zrna však musí včela nejprve uvolnit z velmi pevného obalu, kterým je zrno chráněno před vnějšími vlivy.

Zpracování pylu včelami začíná již při jeho sběru, kdy včely přidávají k právě utvářeným pylovým rouškám obsah medného vaku a výměšky svých žláz. Po přinesení do úlu může být pyl konzumován a tráven. Přebytný pyl včely dobře stlačí v buňkách, aby v něm nebyly vzduchové mezery. V takto uloženém pylu probíhají biochemické změny. Kromě enzymů pylových zrn a enzymů sekretů přidaných do pylu včelami se podílejí na změnách v uloženém pylu i některé mikroorganismy, především kvasinky (Gilliam, 1979). Takto uložený a konzervovaný pyl se nazývá plástový pyl a slouží včelám jako hlavní zdroj potravy.

Trvanlivost plástového pylu je značná. Teprve u více než 1 rok starého pylu pozorujeme postupné snižování výživné hodnoty (Haydak, 1963). Naproti tomu pylové roušky, pokud nejsou zpracovány včelami, ztrácejí výživnou hodnotu rychleji.

Včely konzumují pyl již od vylíhnutí z buňky. Některé včely hned v prvních minutách, postupně se přidávají další. Ve věku 6—12 hodin konzumuje pyl již většina včel a do 2 dnů prakticky všechny (Hagedorn a Moeler, 1967; Dietz, 1969). Mezi 3. a 9. dnem konzumují včely pylu nejvíce. Tento pyl ale nespotřebovávají pro sebe, nýbrž transformují potravu na

krmnou kasičku pro larvy. Po 18. dnu života množství konzumovaného pylu klesá a létavky již prakticky nepřijímají žádný pyl.

Jak vyplynulo z pokusů Tabera (1973) a Doulla (1974), je velmi důležité, kde je pyl ve včelstvu umístěn. Krmičky odebírají pyl jen do vzdálenosti několika centimetrů od plodového tělesa.

Pylová zrna, která včela polkne, procházejí neporušená medným váčkem až do žaludku, kde se obsah zrn uvolňuje z obalu. Enzymatickému trávení napomáhají do určité míry i rozdíly osmotických tlaků (koncentrací) mezi pylem, obsahem medného váčku a žaludku (Kroon, 1974). Některá zrna popraskají, jindy se obsah vylévá póry v pylových blánách. Bílkoviny a další látky jsou po enzymatickém rozložení vstřebány a transportovány hemolymfou do celého těla. Nerozložené zbytky potravy se hromadí ve výkalovém vaku. Z pylu mohou včely zužitkovat 70 až 85 % látek (Strojkov, 1966).

Výživná hodnota pylu různých druhů rostlin není stejná (Maurizio, 1954). Je to způsobeno různou dostupností vnitřního obsahu pylového zrna podle tloušťky a charakteru buněčné stěny. Také složení obsahu pylu se liší. Včely zpravidla přinášejí směs pylů, a tím se mezidruhové rozdíly vyrovnají.

Roční spotřeba pylu jedním včelstvem bývá odhadována různými propočty. V jednom roce odchová středně silné včelstvo asi 100 000 larev, což podle obsahu bílkovin odpovídá více než 30 kg pylu jenom pro odchov plodu. V jarním období, kdy včelstvo musí nahradit všechny včely podzimní generace, musí mít k dispozici asi 5—6 kg pylu (Wille, 1973). Jedna buňka plástového pylu představuje zhruba potravu pro odchov 2 mladušek.

Následky nedostatku pylu. Při delším nedostatku pylu v přírodě dochází ve včelstvu ke konzumaci pylových zásob. Po jejich vyčerpání včely nemohou pokračovat v tvorbě krmné kasičky a to se okamžitě projeví tím, že včely odstraní otevřený plod. Protože matka pokračuje v kladení, ale včely z vajíček neodchovávají larvy, nalezneme pak v plástech jen vajíčka a zbytky zavíčkovaného plodu.

Trpí-li včelstva částečným nedostatkem pylu, odchovávají jen omezené množství plodu, a včely vyhlíhlé z hůře živých larev jsou rovněž poznamenány podvýživou (Bilaš, 1980).

Nedostatek pylu v potravě dospělých včel se projeví výrazným zkrácením jejich života.

Nektar, medovice a med

Zdrojem cukrů a dalších látek pro výživu je nektar, medovice a med, zahuštěný a biochemicky přeměněný produkt vzniklý z těchto surovin. Med z obou zdrojů slouží včelám jako plnohodnotná součást potravy. Jednoduché cukry — glukóza a fruktóza, které jsou hlavními součástmi medu, jsou v organismu včely lehko rozložitelné.

Nektar, resp. nektarový med, tráví včely téměř beze zbytku. Nestravitelných látek je méně než 1 %. Medovice a z ní vzniklý med obsahují vyšší procento jiných sacharidů, zčásti nebo zcela nestravitelných. Ty se dostávají nezměněné do výkalů, a pokud včely mohou létat, výkalů se zbavují. Pouze v zimě nestravitelné látky z medovicového medu včely zatěžují a za určitých

okolností mohou způsobit přeplnění výkalových vaků. Obsah trisacharidu melecitózy v některých medovicových medech způsobuje rychlou krystalizaci medu v plástech.

Potřeba cukru u jednotlivých včel je různá podle toho, jak energeticky náročnou činnost provádějí. V klidu při teplotě úlu spotřebuje dělnice podle Olaerse (1956) asi 1 mg glukózy za hodinu. Při letu, větrání nebo vyhřívání prostoru chvěním svalů vzrůstá spotřeba cukru asi na desetinásobek.

Roční spotřeba medu jedním včelstvem se odhaduje na 60 až 120 kg.

Efektivní dolet včel je asi 2 - 3 km od úlu. Při nedostatku potravy se akční rádius zvětšuje, což zvyšuje vlastní spotřebu včelstva a ztráty včel v terénu z mnoha důvodů.

(Citované prameny oddílu Výživa včel: viz Veselý, V.: Včelařství, Brázda Praha, 1. vydání)

Způsoby a rozsah ohrožení včel neonikotinoidy

Orální nebo kontaktní toxicita neonikotinoidů pro včely prokazatelně nepostačí pro kompletní analýzu rizika. Subletální účinky mohou mít na včelstvo destruktivnější účinek než toxicita akutní. Tyto údaje však nejsou k dispozici, o harmonizaci metod posuzování se jedná.

Tabulka 2 Hodnoty akutní toxicity pro včely

	Akutní orální toxicita	Akutní kontaktní toxicita
Acetamiprid	LD50: 14,53 µg/včela	LD50: 8,01 µg/včela
Klothianidin	LD50: 0,00379 µg/včela	LD50: 0,04426 µg/včela
Imidaklopid	LD50: 0,0037 µg/včela	LD50: 0,081 µg/včela
Thiaklopid	LD50: 17,32 µg/včela	LD50: 38,82 µg/včela
Thiamethoxam	LD50: 0,005 µg/včela	LD50: 0,024 µg/včela

Tabulka 3 Obchodní názvy přípravků obsahujících neonikotinoidy

Účinná látka	Obchodní název přípravku	aplikace přípravku	dávkování
Acetamiprid	CAREO Combi granulát proti škůdcům		40 g/kg
	CAREO Combi tyčinky proti škůdcům		40 g/kg
	CAREO koncentrát proti škůdcům		5,0 g/l

Acetamipirid (pokr.)	CAREO postřik proti škůdcům		0,05 g/kg
	Mospilan 20S	sady, řepka	200 g/kg
	Diaspid 20 SP		0,08-0,25kg/ha
	KeMiChem-Acetamipirid 20% SP		0,08-0,25kg/ha
	NeoNic		0,08-0,25kg/ha
Imidaklopid	Chinook 200 FS	mák, řepka	20-60g/kg
	Confidor 200 OD		200 g/l
	Confidor 70 WG		700 g/kg
	Confidor WG 70		0,6 l/ha 1500-2000 l vody /ha
	Euro-Chem Imida 700		
	Gaucho 70 WS	řepka	700 g/kg
	KeMiChem-Imidaclopid 70 WG		
	KeMiChem-Imidaclopid I-70 WG		
	Monceren G		120 g/l
	RC-Imidaclopid 70 WG		
	RealChemie-Imidaclopid 70 WG		
	Sherpa		
	Viteus 70 WG		
	Warrant 700 WG		700 g/kg
Thiaklopid	Biscaya 240 OD	řepka	240 g/l
	Calypso	řepka, sady	
	Clopid 480 SC		
	Calypso 480 SC	řepka, sady	480 g/l
	Nymph 480 SC		
	Proteus 110 OD		100 g/l
Thiamethoxam	Actara 25 WG	řepka, kukuřice	0,08 kg 200-500 l vody /ha
	COM 109 01 I PR		12 g/kg
	COM 109 11 I SL		10 g/l
	Cruiser 350 WS		
	Cruiser 70 WS		
	Cruiser OSR		280 g/l
Klothianidin	Elado FS 480	mák, řepka, hořčice	25-60kg/t, 400 g/l
	Poncho Beta FS 453,3		400 g/l
	Poncho 600 FS		600 g/l
	Janus FS 180		100 g/l
	Modesto		400 g/l

Poznámka: Úletový prach při aplikaci mořeného osiva může také včely ohrozit.

Model přenosu reziduí z přírody do úlu

Včely sbírají pyl na rostlinách do formy páru granulí, tzv. rousků, vážících 15 - 30 mg. Vytvářejí je z pylu, který očesou z povrchu těla. Pal i povrch těla může být kontaminován také prachem, tedy dalším zdrojem cizorodých látek. Pyl pak včela navlhčí obsahem medného váčku utvoří rousky, které upevní a transportují na třetím páru noh do úlu. Zde složí náklad do prázdné buňky, aniž by pyl konzumovaly. Tak se může stát, že do úlu je donesen toxický materiál, který zkonsumují

Ohrožení jedince

Jedna pylová buňka obsahující asi 200 mg pylu a představuje výživu pro dvě larvy. Pyl, jak dále uvádíme ve výsledcích našich experimentů, může obsahovat jednotky až stovky ng/g neonikotinoidů. Je však nutno uvažovat, že analyzovaný pyl ze zásob už měl za sebou několik poločasů rozkladu, takže počáteční koncentrace mohla být 4x (po dvou poločasech) až 1000x (po deseti poločasech) větší. Neznáme toxicitu některých rozkladných produktů, synergické efekty těchto a dalších toxických látek, přičemž analyzované spektrum pesticidů nezahrnuje zdaleka všechny potenciální zátěže.

Pyl konzumují kojičky ve velkém množství a transformují do potravy larev. Je prokázáno, že do mateří kašičky přecházejí např. léky, resp. i jiné cizorodé látky velmi snadno. Juvenilní stadia při nepatrné hmotnosti těla (první den 0,1 mg) jsou zatížena neporovnatelně více, než dospělé včely.

Ohrožení včelstva

Včelstvo je společenství několika desítek tisíc jedinců. Pro takový superorganismus je typická dělba práce. Poškození některé, byť nepočetné skupiny včel s důležitou úlohou, může ohrozit celé včelstvo. Příkladem jsou pátračky, které pod vlivem látek ovlivňujících orientaci mohou snadno zabloudit. Včelstvo pak strádá poruchami informačních kanálů. Druhým příkladem mohou být včely s hormonálně nastavenou dlouhověkostí, které zajišťují ve včelstvu přezimování. Při absenci této skupiny dlouhověkých včel včelstvo s jedinci běžné délky života nemusí přežít bezplodové období.

Ohrožení populace včel

Populace je ohrožena, pokud ztráty přesáhnou asi 30 % stavu. Zejména, když další podíl včelstev přežívá, ale je oslaben, mizí možnost jednoduché meziroční náhrady ztrát přirozeným nebo umělým dělením včelstev. Na to, aby rozdělená včelstva zesílila do produkčních je třeba opět velké kvantum pylu. Byl-li by tento pyl opět kontaminován, dostáváme se do bludného kruhu. Včelstva můžeme částečně ozdravit přeložením do nového úlu a na nové pláсты, které jim necháme vystavět. Včelstvům lze dodat krátkodobě energetickou složku potravy formou roztoku sacharózy. Neexistuje ale adekvátní náhražka pylu, jakožto naprosto unikátní bílkovinné potravy včel, takže včely jsou odkázány na zdroje ve svém doletovém okruhu.

Experimentální část

Záměr

Dosavadní zkušenosti vedou k hypotéze, že těžiště potenciálních problémů včel pod určitým tlakem reziduí neonikotinoidů a dalších agrochemikálií z prostředí je v kontaminaci vnitřního potravinového řetězce včelstva, zejména pylových zásob, ze kterých mladé včely postupně čerpají proteiny pro tvorbu žlázového sekretu (tzv. mateří kašičky) pro výživu juvenilních stadií (tj. plodu) včel. Pyl je ve včelstvech lokalizován v podobě tzv. plástového pylu, který tvoří dobrý směsný vzorek materiálu z okolí z okruhu doletu včelstva. Pyl, na rozdíl od medu není systematicky monitorován na rezidua.

Zaměřili jsme se tedy zejména na analýzu plástového pylu a na následné vyhodnocení analytických výsledků.

Výběr lokalit

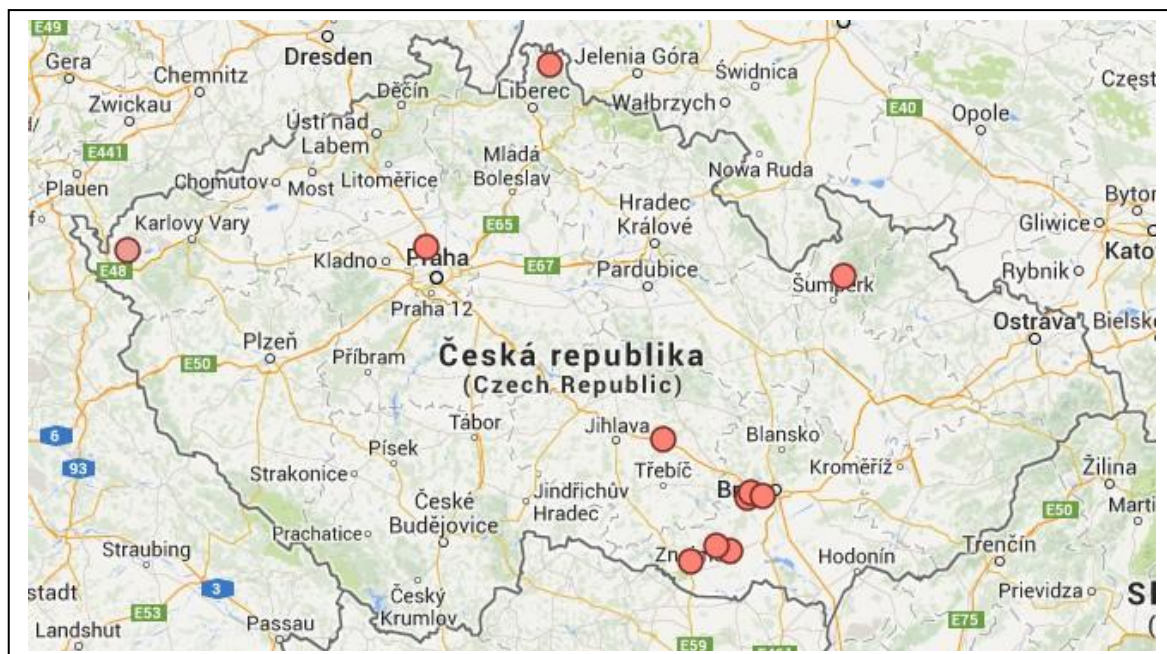
Pro experimentální část této studie bylo zvoleno celkem 13 lokalit pro odběr a následnou analýzu plástového pylu. Výsledky jsou doplněny analýzou medu z jedné lokality.

Do těchto lokalit byla zahrnuta místa se zřetelnými klinickými případy hromadného hynutí včel na jaře a v časném létě (1,2,5,6) a další místa, kde viditelné problémy se včelstvy zaznamenány nebyly. Jedna lokalita (13) měla viditelné hynutí u jednoho včelstva v podletí, přičemž ostatních více než 30 včelstev na tomtéž stanovišti se jevilo bez problémů.

Tabulka 4 Lokality odběru plástového pylu

Číslo vzorku	Lokalita	Okres	Charakteristika stanoviště včelstev	Problémy
1	Kopanina	Cheb	okraj obce, monokultura řepky olejky, les	ano
2	Únanov	Znojmo	v obci, v okolí zemědělsky využívaná krajina	ano
3	Skalice u Znojma	Znojmo	v obci, v okolí zemědělsky využívaná krajina	ne
4	Miroslav	Znojmo	v obci zemědělsky využívaná krajina	ne
5	Dolní Řasnice	Liberec	v obci, v okolí zemědělsky využívaná krajina	ano
6	Dolní Řasnice	Liberec	v obci, v okolí zemědělsky využívaná krajina	ano
7	Bosonohy	Brno-město	zemědělsky využívaná krajina	ne
8	Kývalka	Brno-venkov	zemědělsky využívaná krajina	ne
9	Rosice	Brno-venkov	zemědělsky využívaná krajina	ne
10	Pekařov	Šumperk	CHKO Jeseníky	ne
11	Pekařov	Šumperk	CHKO Jeseníky	ne
12	Blížkov	Žďár n.Sázavou	zemědělsky využívaná krajina	ne
13	Dol	Praha-východ	zemědělsky využívaná krajina	ano

Mapa rozložení experimentálních lokalit

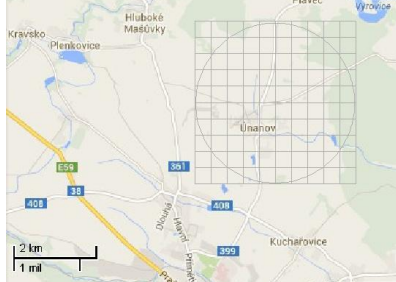
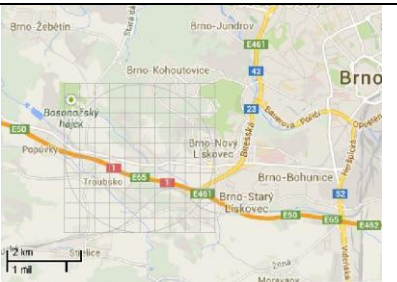
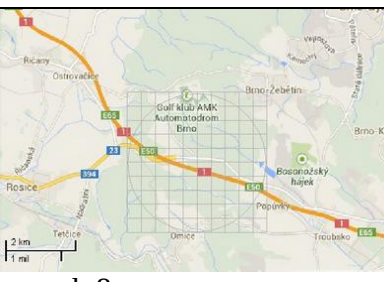
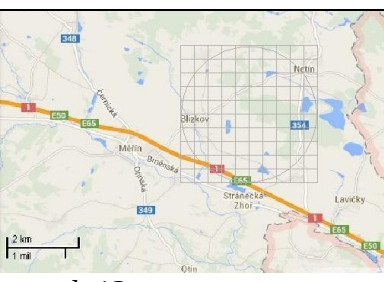
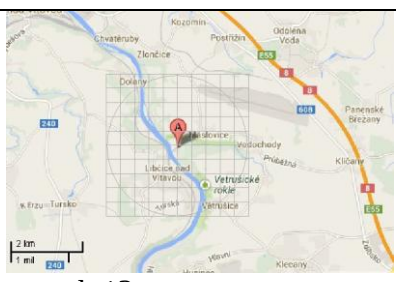


Ve čtyřech lokalitách byly pozorovány klinické projevy otrav. Včely v křečích, bezletné včely, zvýšený výskyt mrtvolek včel na zemi bez porostu. V případě, kde byl následně odebrán vzorek 2 byly pozorovány v několika letech po sobě příznaky akutní otravy v souvislosti se setím mořené kukuřice.

Vzorky 2 a 4 jsou z blízkosti, ale ze včelínů, kde problémy nepozorovali. U vzorků číslo 1, 5 a 6 byly problémy za okolností jiných, měly charakter hromadné otravy.

Vzorek číslo 13 byl z případu zcela odlišného. Jedno včelstvo uprostřed řady dalších mělo výskyt paralyzovaných včel po delší časové období. Sousední včelstva byla bez problémů.

Na následujících mapkách jsou kolem stanovišť včelstev zakresleny sítě 400 x 400 metrů v prostoru zhruba pokrývajícím efektivní dolet včel. Je vidět, že většina lokalit je v mimo lesní plochy.

 vzorek 1	 vzorek 2	 vzorek 3
 vzorek 4	 vzorek 5-6	 vzorek 7
 vzorek 8	 vzorek 9	 vzorek 10-11
 vzorek 12	 vzorek 13	

Materiál a metodika

Materiál představoval běžnou potravu včel v době, kdy je maximální plodování a včelstva chystají již generaci důležitou pro přezimování.

Na stanovištích byly v průběhu července a srpna odebrány ze včelstev plásty se zásobami bez včel, které byly převezeny do laboratoře. Plásty byly uloženy v laboratoři v chladničce až do odběru vzorků pylu z buněk. Po té byly vzorky předány laboratořím k analýze. Analyzované množství vzorků představovalo vždy 5 gramů pylu, vybraného vždy novou jednorázovou plastovou špachtlí z několika desítek buněk každého plástu. Pro transport do laboratoří byly použity nové plastové vzorkovnice.

Analyzovaný materiál byl rozšířen o jeden vzorek medu z lokality Dol.

Analýzy provedl Státní veterinární ústav Praha, oddělení chemie, zkušební laboratoř č. 1176.1 akreditovaná ČIA a ALS Czech republic s.r.o., zkušební laboratoř č. 1163 akreditovaná ČIA.

Použité analytické metody jsou HPLC-MS/MS

Výsledky

Ve všech vzorcích pylu byla nalezena rezidua uvedených látek. Meze detekce a kvantifikace jsou zpravidla mezi 1 až 5 ng/g. Standardní rozšířená nejistota stanovení je $\pm 50\%$.

Analyzovaná matrice je svou přirozeností značně nehomogenní a obsahuje polární i nepolární podíl. Získání kvantitativně přesných dat by vyžádalo větší vstupní objemy vzorků a validační studie zaměřené na extrakční procesy a způsoby standardizace přístupu k látkám permanentně se rozkládajícím. Pro tuto studii však získané hodnoty lze považovat za relevantní s tím, že reálné spektrum cizorodých látek i jejich kvanta budou spíše větší.

Tabulka 6 Kvantitativní nálezy [ng/g] ve vzorcích pylu

Analyt		Vzorek č.												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Acetamiprid	N		18	18										3
Acetamiprid*	N		8	3										
Thiacloprid	N		6		239			18	16	14		212		
Thiamethoxam	N													
Thiamethoxam*	N													
Imidakloprid	N													
Imidakloprid*	N													
Klothianidin	N													
Klothianidin*	N													
Propikonazol	F		99		7									
Propikonazol*	F		3											
Prochloraz	F		168											
Prochloraz*	F		10											

N = neonikotinoid, F = fungicid, *opakování, prázdné buňky = žádný nálezy nad limit detekce

Tabulka 7 Kvalitativní (x) a semikvantitativní (ng/g) nálezy ve vzorcích pylu

Analyt	použití	reg	toxická pro včely	Vzorek č.												
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Propamocarb	fungicid	*									x				x	
Dimethoate	insekticid	*	jedovatý												x	
"																
Karbendazim	fungicid	*				x	x			x	x					
"						1	7			>1	0,5	2				
Oxadixyl	fungicid			x				x	x							
Formothion	insekticid										x					
Pirimicarb	insekticid	*			x					x						
"																
Phenmedipham	herbicid						x									
Azoxystrobin	fungicid	*		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
"							>1									
Dimethomorph	fungicid														x	
"															1	
Terbutylazine	herbicid				x	x	x			x	x		x	x	x	
"					0,3											
Boscalid	fungicid	*			x		x								x	
"																
Cyproconazole	fungicid					x	x			x						
"						2	>1									
Iprovalicarb	fungicid	*				x	x			x					x	
Acetochlor	herbicid	*					x									
"							2									
Fluopyram	fungicid	*													x	
Metolachlor	herbicid	*			x	x	x			x						
"					>0,1	>0,1	>0,1				>0,1			>0,1		
Dimoxystrobin	fungicid	*			x	x										
Flusilazole	fungicid	*				x	x			x						
"										1						
Picoxystrobin	fungicid	*				x					x					x
"											1					2
Penconazole	fungicid	*													x	
"																
Tebuconazole	fungicid	*	příjemný pro včely									x				
"												5				
Chlorpyrifos-methyl	insekticid, akaricid	*	nebezpečný a zvlášť pro včely												x	
Indoxacarb	insekticid	*										x				
Chlorpyrifos	insekticid	*	nebezpečný a zvlášť pro včely		x	x	x				x	x				
Etofenprox	insekticid	*	škodlivý										x			
"																
Fenpropymorph	fungicid				>1	>1	>1									
Metalaxyl	fungicid	*								>1						
Pyrimethanil	fungicid	*								>1						
Simetryn	herbicid												>0,1			
Chlormequat	růstový regulátor	*					1			2						30
Zátěž (n)				2	13	13	15	2	2	12	10	6	4	4	10	5
Klinické problémy včelstev				A	A			A	A							A

Vysvětlivky:

- reg * účinná látka je v některém přípravku ze seznamu registrovaných přípravků
 " tatáž látka, jako v předchozím řádku
 (n) počet pesticidů nalezený ve vzorku
 A vzorek z lokality, kde včely měly klinické problémy

Doplňující výsledek z analýzy medu

Nález v medu z lokality Dol: Thiakloprid 16 ng/g, Fluoroxypyr 3 ng/g

Diskuse k analytickým výsledkům

Nález thiaklopridu v polovině vzorků pylu a v náhodně odebraném vzorku medu je dokladem o skutečně nečekaně vysoké perzistenci této látky. Koncentrace v řádu jednotek až stovek nanogramů na gram potravy s přihlédnutím k tomu, že počáteční zatížení mohlo být stokrát až tisíckrát větší, je biologicky významná.

Potvrdilo se očekávání, že ve vzorku číslo 2 z lokality Únanov, kde byly několik roků po sobě pozorovány klinické příznaky otravy, zátěž nalezena bude. Toto stanoviště je na kraji obce na poměrně větrném místě otevřeném do volné krajiny. Nález dvou neonikotinoidů, pěti fungicidů, dvou dalších insekticidů a dvou herbicidů lze považovat za ukázkou zátěže prostředí, která již viditelně včelstva oslabí. Ve stejné obhospodařované krajině nedaleko od tohoto místa, ale v intravilánu, byly odebrány další vzorky pylu ve stejnou dobu. Nalezená zátěž mixem pesticidů byla o něco nižší, klinické problémy chovatelé nepozorovali.

Další lokality s hlášeným hynutím včel až i kolapsům včelstev (vzorky 1, 5, 6, 13) patřily naopak k těm méně zatíženým.

Poznámka k problematice zatížení medu, jakožto potravin

Žádný z nálezů pesticidů nepřekročil hygienický limit, stanovený pro med. **Výsledky této studie je třeba interpretovat pro veřejnost tak, aby v nepoučených osobách nevznikl dojem, že je ohrožena bezpečnost konzumentů.** Problematika monitoringu cizorodých látek v potravinách je systematicky sledována [45, 46] a **zatížení medu v ČR obecně je hluboko pod přípustnými limity.**

Závěr

Publikované laboratorní a polní studie jednoznačně prokázaly vedlejší subletální účinky neonikotinoidů na včely a další užitečný hmyz na úrovni jedinců. Spolehlivé posouzení míry nevratných škod na včelstvech a celých populacích užitečného hmyzu pod zátěží subletálních dávek neonikotinoidů a mixu dalších pesticidů nelze zatím provést.

Probíhají a jsou zakládány další studie. Pracuje se rovněž na harmonizaci sledovacích a experimentálních postupů pro posuzování pesticidů při registracích přípravků a prodlužování těchto registrací příslušnými autoritami.

Experimentální odběry 13 vzorků pylu ze včelstev žijících na různých místech české republiky prokázaly nález dvou neonikotinoidů, dvou dalších insekticidů, pěti fungicidů a dvou herbicidů. Plástový pyl jako potrava vývojových stadií včel může ovlivnit jejich vývoj a přispět k zániku včelstva při kombinaci více negativních faktorů.

Citované články a vybrané zdroje dalších informací, včetně některých funkčních odkazů.

(adresa se objeví při najetí kurzorem na modrý podtržený odkaz)

1. [Pesticide Toxicity Profile: Neonicotinoid Pesticides \(engl.\)](#)
2. Di Prisco, G.; Cavaliere, V.; Annoscia, D.; Varricchio, P.; Caprio, E.; Nazzi, F.; Gargiulo, G.; Pennacchio, F. (2013). "Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees". *Proceedings of the National Academy of Sciences*
3. Hopwood (2012) www.beekeeping.com/articles/us/are_neonicotinoids_killing_bees.pdf
4. Jones AK, Raymond-Delpech V, Thany SH, Gauthier M, Sattelle DB.: *The nicotinic acetylcholine receptor gene family of the honey bee, Apis mellifera.*, *Genome Res.* 2006 Nov;16(11):1422-30. [PMID 17065616](#)
5. Peter Jeschke, Ralf Nauen: *Neonicotinoid Insecticides*. In: Lawrence I. Gilbert, Sarjeet S. Gill (Hrsg.): *Insect Control: Biological and Synthetic Agents*. Academic Press, London 2010, [ISBN 978-0-12-381449-4](#), S. 61-119.
6. Peter Jeschke, Ralf Nauen, Michael Schindler, Alfred Elbert: *Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids*. In: *Journals of Agricultural and Food Chemistry*. Bd. 59, 2011, S. 2897-2908.
7. Taparo A, Giorio C, Soldà L, Bogialli S, Marton D, Marzaro M, Girolami V.: *UHPLC-DAD method for the determination of neonicotinoid insecticides in single bees and its relevance in honeybee colony loss investigations.*, *Anal Bioanal Chem.* 2013 Jan;405(2-3):1007-14. [PMID 22965530](#)
8. Kamel A.: *Refined methodology for the determination of neonicotinoid pesticides and their metabolites in honey bees and bee products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).*, [J Agric Food Chem.](#) 2010 May 26;58(10):5926-31. [PMID 20163114](#)
9. Tapparo A, Marton D, Giorio C, Zanella A, Soldà L, Marzaro M, Vivan L, Girolami V.: *Assessment of the environmental exposure of honeybees to particulate matter containing neonicotinoid insecticides coming from corn coated seeds.*, *Environ Sci Technol.* 2012 Mar 6;46(5):2592-9. [PMID 22292570](#)
10. Dave Goulson: *An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides*. In: *Journal of Applied Ecology*. 50, 2013, S. 977-987, [doi:10.1111/1365-2664.12111](#).
11. Netzwerk Regenbogen.de: [Frankreich: Bayer und BASF wegen Bienensterben angeklagt](#) vom 19. Februar 2004, abgerufen am 9. Juni 2013
12. [Mysterious Honey Bee Disorder Buzzes into Court](#); im August 2008 reicht das [Natural Resources Defense Council](#) eine Klage wegen der Verwendung des Insektizids [Clothianidin](#) beim amerikanischen Bundesgerichtshof von Washington ein.
13. Blacquière T, Smagghe G, van Gestel CA, Mommaerts V.: *Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment*. In: *Ecotoxicology*. 21, Nr. 4, 2012, S. 973-92, [doi:10.1007/s10646-012-0863-x](#).
14. James E Cresswell, Nicolas Desneux, Dennis vanEngelsdorp: *Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: an evaluation by Hill's epidemiological criteria*. In: *Pest Management Science*. 68, Nr. 6, 2012, S. 819-827, [doi:10.1002/ps.3290](#).

15. James E. Cresswell: *A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees*. In: *Ecotoxicology*. 20, Nr. 1, 2011, S. 149-57, [doi:10.1007/s10646-010-0566-0](https://doi.org/10.1007/s10646-010-0566-0).
16. Ministerium für Ernährung und Ländlichen Raum, Baden-Württemberg: Abschlussbericht Beizung und Bienenschäden. 17. Dezember 2008.
17. Thomas G. Nagel: *Die Überwachung der Einhaltung der Verordnung über das Inverkehrbringen und die Aussaat von mit bestimmten Pflanzenschutzmitteln behandeltem Maissaatgut (MaisPflSchMV)*. In: *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 6, 2011, S. 223-231, [doi:10.1007/s00003-010-0656-1](https://doi.org/10.1007/s00003-010-0656-1).
18. LTZ Augustenberg: [Bienensterben im Jahr 2008 in Baden-Württemberg](#), Übersichtsseite.
19. Informationsdienst Wissenschaft: [Analysen des Julius Kühn-Instituts zu Bienenschäden durch Clothianidin](#), 10. Juni 2008.
20. Erik Stokstad: *Pesticides Under Fire for Risks to Pollinators*. In: *Science*. 340, 2013, S. 674-676, [doi:10.1126/science.340.6133.674](https://doi.org/10.1126/science.340.6133.674).
21. A. Lopez-Antia, M. E. Ortiz-Santaliestra, F. Mougeot, R. Mateo: [Experimental exposure of red-legged partridges \(*Alectoris rufa*\) to seeds coated with imidacloprid, thiram and difenoconazole](#). *Ecotoxicology*, Januar 2013, 22(1):125-38. doi: 10.1007/s10646-012-1009-x.
22. Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA): [EFSA identifiziert Risiken durch Neonicotinoide für Bienen](#) Pressemitteilung, 16. Januar 2012.
23. Europäische Kommission: [Bienen und Pestizide: Kommission verfolgt Plan zum besseren Bienenschutz weiter](#). Pressemitteilung, 29. April 2013.
24. EU-Kommission: [Bees & Pesticides: Commission goes ahead with plan to better protect bees](#). 30. Mai 2013.
25. [Durchführungsverordnung \(EU\) Nr. 485/2013 der Kommission](#) vom 24. Mai 2013.
26. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: [Änderungen bei Pflanzenschutzmitteln mit neonicotinoiden Wirkstoffen](#). Fachmeldung, 12. Juli 2013.
27. [Ministerio del lavoro, della salute e delle politiche sociali: Sospensione cautelativa dell'autorizzazione di impiego per la concia di sementi, dei prodotti fitosanitari contenenti le sostanze attive clothianidin, thiamethoxam, imidacloprid e fipronil, ai sensi dell'articolo 13, comma 1, del decreto del Presidente della Repubblica 23 aprile 2001, n. 290](#).
28. [Interdiction de la molécule d'imidaclopride](#)
29. [Décision du Conseil d'Etat relative au Gaucho](#), 31. März 2004.
30. [Arrêté du 24 juillet 2012 relatif à l'interdiction d'utilisation et de mise sur le marché pour utilisation sur le territoire national des semences de crucifères oléagineuses traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active thiametoxam](#), JORF n°0172 du 26 juillet 2012 page 12246, texte n° 26.
31. Steffen Noleppa, Thomas Hahn: [The value of Neonicotinoid seed treatment in the European Union: A socio-economic, technological and environmental review](#). Humboldt Forum for Food and Agriculture (HFFA), 2013.
32. [Neonicotinoid pesticide restrictions](#). HGCA, Juni 2013.
33. [Verbot neonicotinoider Saatgutbeizung wird scharf kritisiert](#). Proplanta.de, 5. Mai 2013. Abgerufen am 22. Oktober 2013.
34. [Neonikotinoid-Verbot spaltet Meinung deutscher Landwirte](#). Kleffmann Group, 29. August 2013. Abgerufen am 22. Oktober 2013.
35. [Neonikotinoide: Unternehmen legen eigenen Aktionsplan vor](#). agrarheute.com, 28. März 2013.
36. [Rheinische Post](#)
37. Tania Rabesandratana: [Pesticidmakers Challenge E.U. Neonicotinoid Ban in Court](#). ScienceInsider, 28. August 2013.
38. Hamilton (2011)
http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation10/Thiamethoxam.pdf

39. Robert Roberts, D. H. Hutson: *Metabolic pathways of agrochemicals*. Royal Soc of Chemistry, 1999, ISBN 978-0854044993, S. 124
40. Henry M et al. 2012, A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees, *Science* 20, Vol. 336 no. 6079 pp. 348-350
41. Cresswell JE, Thompson HM 2012, Comment on "A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees", *Science* 21 September 2012: Vol. 337 no. 6101 p. 1453
42. Takao Iwasa, Naoki Motoyama, John T. Ambrose, R. Michael Roe 2004, *Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, Apis mellifera*, Crop Protection, 23: 371–378
43. [Verordnung über Fremd- und Inhaltsstoffe in Lebensmitteln \(Fremd- und Inhaltsstoffverordnung, FIV\)](#)
44. V. Girolami, L. Mazzon, A. Squartini, N. Mori, M. Marzaro, A. di Bernardo, M. Greatti, C. Giorio, A. Tapparo: [Translocation of Neonicotinoid Insecticides From Coated Seeds to Seedling Guttation Drops: A Novel Way of intoxication for Bees](#) (PDF; 157 kB), J. Econ. Entomol. 102(5): 1808–1815 (2009))
45. <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/monitoring-cizorodych-latek/>
46. <http://eagri.cz/public/web/svs/portal/dokumenty-a-publikace/prehled-podle-temat/kontaminace-potravnich-retezcu/>
47. [EFSA](#) Journal 2013;11(7):3295)