

Neonikotynoidy: zagrożenie nie tylko dla pszczoł

przeгляд danych naukowych
uzyskanych po 2013 roku



Styczeń 2017

GREENPEACE



Spis treści

Przedmowa Greenpeace	5
Streszczenie	7
Zagrożenia dla pszczół	7
Możliwe ogólne zagrożenia dla środowiska	9
1. Wprowadzenie i bieżący stan wiedzy	11
2. Dane potwierdzające narażenie na działanie pestycydów z grupy neonikotynoidów	13
2.1 Ryzyko narażenia organizmów niedocelowych na działanie neonikotynoidów stosowanych na uprawy	13
2.2 Ryzyko narażenia organizmów niedocelowych na działania neonikotynoidów utrzymujące się w środowisku	21
3. Dane dotyczące wpływu neonikotynoidów na zdrowie zwierząt	41
3.1 Wrażliwość trzmieli i pszczół samotnic na neonikotynoidy	41
3.2 Wrażliwość motyli dziennych i nocnych na neonikotynoidy	53
3.3 Wrażliwość innych bezkręgowców lądowych na neonikotynoidy	58
3.4 Wrażliwość wodnych bezkręgowców na neonikotynoidy	61
3.5 Wrażliwość ptaków i nietoperzy na neonikotynoidy	65
3.6 Synergistyczne działanie innych pestycydów z neonikotynoidami	70
4. Uwagi końcowe	75
4.1 Postępy w wiedzy naukowej i porównanie ze stanem wiedzy z 2013 roku	75
4.2 Istniejące luki w wiedzy i przyszłe badania	77
4.3 Ostateczne wnioski	78
Źródła	80



Przedmowa Greenpeace

Zapylacze, w tym pszczoły miodne, dzikie pszczoły i inne owady, odgrywają kluczową rolę w produkcji żywności i produkcji rolnej w ogóle. Trzy czwarte upraw, trafiających na światowe rynki, jest w jakimś stopniu uzależnione od zapylaczy¹. Niestety te niezbędne dla człowieka owady mają obecnie poważne kłopoty. Liczebność niektórych gatunków dzikich trzmieli dramatycznie spadła. Owady te zaniknęły w pewnych regionach lub całkowicie wyginęły. Dane dostępne na temat innych zapylaczy są równie niepokojące.

Spadek ich liczebności oznacza, że obecny system rolnictwa przemysłowego się nie sprawdza. Dysponujemy wieloma wynikami badań naukowych na poparcie tezy, że rolnictwo przemysłowe stanowi zagrożenie dla owadów zapylających, od których jest uzależnione. Wynika to z niszczenia różnorodności biologicznej i siedlisk stanowiących miejsca żerowania owadów oraz zdania się na toksyczne chemikalia w walce z chwastami i szkodnikami.

Zapylacze są stale narażane na kontakt z toksycznymi chemikaliami, w tym insektycydami, herbicydami i fungicydami. Nadal nie znamy wszystkich konsekwencji tego narażenia. Jednakże coraz więcej badań naukowych wskazuje, że pewne insektycydy są szczególnie szkodliwe dla zapylaczy, ponieważ wywierają negatywny wpływ na pojedyncze organizmy i całe kolonie. Jest to między innymi szereg związków z grupy tzw. neonikotynoidów².

Środki owadobójcze z grupy neonikotynoidów wprowadzono do użycia w połowie lat 90. ubiegłego wieku jako „łagodny” substytut starszych, bardziej szkodliwych substancji. Stosuje się je głównie jako zaprawy nasienne. W ostatnich dekadach ich użycie znacznie wzrosło, przez co stały się najpowszechniej stosowaną klasą insektycydów na całym świecie. Już w połowie pierwszej dekady XXI wieku naukowcy zaczęli wyrażać obawy, że neonikotynoidy mogą szkodzić organizmom niedocelowym, w szczególności pszczołom miodnym i trzmielom.

W odpowiedzi na zwiększającą się liczbę wyników badań potwierdzających tę szkodliwość Unia Europejska (UE) wprowadziła w 2013 roku częściowy zakaz stosowania trzech neonikotynoidów (imidakloprydu, klotianidyny i tiametoksamu), jak również innego insektycydu - fipronilu. UE ograniczyła szereg zastosowań, których szkodliwy wpływ na pszczoły potwierdził Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA). EFSA stwierdził jednak, że nie ma wystarczających danych naukowych, aby ocenić określone zastosowania pod względem ich wpływu na zapylacze inne niż pszczoły miodne³.

Od tamtego czasu społeczność naukowa, kierując się obawami opinii publicznej i polityków, z jeszcze większym zainteresowaniem bada możliwe przyczyny kryzysu zapylaczy, w tym wpływ stosowania określonych pestycydów.

Greenpeace zlecił Uniwersytetowi w Sussex, jednej z najważniejszych instytucji naukowych Wielkiej Brytanii, przeprowadzenie szeroko zakrojonego przeglądu badań naukowych wpływu insektycydów z grupy neonikotynoidów na zapylacze i środowisko w ogóle, których wyniki opublikowano od 2013 roku.

Przeprowadzony przegląd potwierdził ryzyko rozpoznane przez EFSA w 2013 roku i umożliwił wykrycie kolejnych zagrożeń dla zapylaczy. Nowe badania wskazują w szczególności, że **szkodliwość dla pszczół jest związana nie tylko z poddanymi zabiegom ochronnym roślinami uprawnymi, lecz również z zanieczyszczonymi roślinami dzikimi**, wobec których nie stosowano neonikotynoidów. Niedawno uzyskane dane dowodzą ponadto, że **neonikotynoidy stały się wszechobecne w środowisku, zanieczyszczając wody, gleby i naturalną roślinność**. Uzyskano dowody, że środki te **stanowią poważne zagrożenie nie tylko dla pszczół, lecz również dla wielu gatunków dziko żyjących owadów**, w tym motyli, chrząszczy i owadów wodnych, pośrednio wywierając szkodliwy wpływ również na organizmy na wyższych poziomach łańcucha pokarmowego.

Te wyniki odzwierciedlają niedawne wnioski EFSA, jednocześnie potwierdzając wcześniejsze odkrycia dotyczące ryzyka wobec pszczół i ujawniając nowe zagrożenia⁴.

Biorąc pod uwagę obecną wiedzę na temat neonikotynoidów, dalsze stosowanie tych środków chemicznych byłoby nieodpowiedzialne. Imidaklopryd, klotianidyna i tiametoksam, czyli trzy neonikotynoidy, których stosowanie zostało już ograniczone, powinny zostać zakazane całkowicie. Wszystkie pestycydy powinny się poddać wnikliwym badaniom przesiewowym w kierunku oddziaływania na pszczoły, a następnie podjąć decyzje prawne dotyczące możliwości ich stosowania.

W świetle powyższych informacji **utrzymanie zakazu stosowania trzech wspomnianych substancji z grupy neonikotynoidów i fipronilu stanowi niezbędne minimum**. Mamy nadzieję, że polski rząd nadal będzie wspierał takie rozwiązanie.

Jednak żeby Polska stała się krajem prawdziwie przyjaznym pszczolom, musimy przyjąć systemowe rozwiązania na rzecz zapewnienia dobrych warunków owadom zapylającym. Oprócz całkowitego zakazania stosowania wymienionych insektycydów, **należy zainicjować proces tworzenia Narodowej Strategii Ochrony Owadów Zapylających**. Powinien to być zbiór długofalowych celów i działań w kompleksowym oraz wielosektorowym ujęciu, tak aby polski system ochrony pszczół stał się modelowym przykładem ochrony owadów zapylających dla całej Unii Europejskiej.

Z apelem o stworzenie takiej strategii w 2016 roku zwrócili się do Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi związki pszczelarskie oraz Greenpeace. Jej realizacja będzie działaniem korzystnym dla rolnictwa i przyrody, bo wprawdzie obecnie sytuacja owadów zapylających w naszym kraju nie jest jeszcze tak dramatyczna, jak np. w Stanach Zjednoczonych ani tak zła, jak w wielu

krajach Europy Zachodniej⁵, jednak pszczelarze napotykać coraz to nowe problemy, a obserwowane straty i osłabienie rodzin pszczelich rosną. Dotyczy to również pszczół dziko żyjących, z których już mniej więcej połowa znalazła się na Czerwonej Liście Zwierząt Ginących i Zagrożonych w Polsce.

Musimy zadbać o to, aby nie doprowadzić sytuacji, w której pszczelarze, rolnicy i środowisko naturalne zapłacą wysoką cenę za utratę populacji pszczół miodnych oraz dziko żyjących. W ciągu ostatnich lat w Polsce obserwuje się wzrost udziału upraw zależnych od zapylania. Tym samym rola owadów zapylających, przede wszystkim pszczół, staje się coraz istotniejsza dla polskiego rolnictwa i niezmiennie istotna dla polskiej przyrody. W samym tylko roku 2015 wartość zapylania w Polsce wyceniono na ponad 4 miliardy złotych rocznie⁶. Wartość zapylania roślin dziko żyjących jest bezcenna.

Już czas, aby zdać sobie sprawę, że zastąpienie szkodliwych chemikaliów rzekomo „łagodnymi” substytutami w postaci neonikotynoidów nie jest zrównoważoną metodą zwalczania owadów niszczących uprawy. Trzeba przede wszystkim skoncentrować wysiłki na opracowaniu i wdrożeniu ekologicznych praktyk zapobiegania występowaniu owadów będących szkodnikami, a metody ochrony roślin uprawnych stosować tylko, jeśli szkodniki się pojawią.

Wykazano, że rolnictwo ekologiczne, w którym zachowany jest wysoki poziom różnorodności biologicznej i nie stosuje się chemicznych środków ochrony roślin ani syntetycznych nawozów, umożliwia zwalczanie chwastów, chorób i szkodników roślin przy poprawie ogólnego stanu ekosystemów⁷. Przystawienie się na rolnictwo ekologiczne to jedyny sposób, aby ochronić zapylacze i zapewnić sobie ich bezcenne usługi z korzyścią dla nas wszystkich.

1 EASAC, 2015, Ecosystem services, agriculture and neonicotinoids

2 Greenpeace, 2013, Spadek populacji pszczół. Przegląd czynników zagrażających owadom zapylającym i rolnictwu w Europie

3 EFSA, 2013, Conclusions on the pesticide risk assessment for bees for the active substances imidacloprid, clothianidin and thiamethoxam

4 EFSA, 2015, Conclusions on uses other than seed treatments and granules of imidacloprid, clothianidin and thiamethoxam; EFSA, 2016, Conclusions on imidacloprid and clothianidin in the light of confirmatory data submitted

5 <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2016.1260240>

6 Greenpeace, 2016, Nie tylko miód. Wartość zapylania upraw rolniczych w Polsce w 2015 roku

7 Greenpeace, 2015, Ecological farming. The seven principles of a food system that has people at its heart

Streszczenie

Autorzy: Thomas Wood i Dave Goulson
Uniwersytet w Sussex

Insektycydy z grupy neonikotynoidów wprowadzono do użycia w połowie lat 90. XX wieku. Od tego czasu ich użycie wzrosło tak znacznie, że stały się najpowszechniej stosowaną klasą środków owadobójczych na całym świecie. Stosuje się je głównie jako zaprawy nasienne. Neonikotynoidy są rozpuszczalne w wodzie, dlatego też wystarczy nanieść niewielką ich ilość na nasiona, by rozpuściły się w wodzie, która znajduje się w glebie, i zostały wychwycone przez korzenie rozwijających się roślin. Neonikotynoid wewnątrz rośliny ma właściwości systemiczne – rozprzestrzenia się ogólnoustrojowo w roślinie, w tym w tkankach przewodzących i liściach, zapewniając ochronę przed roślinożernymi owadami. Profilaktyczne stosowanie neonikotynoidów stało się powszechne na znacznej części obszarów rolniczych w krajach rozwiniętych.

Należy podkreślić, że jedynie około 5% substancji czynnej preparatów neonikotynoidowych pobierana jest przez docelowe rośliny uprawne. Większość rozprzestrzenia się w środowisku. Liczne badania prowadzone od połowy pierwszej dekady XXI wieku wzbudziły obawy, że neonikotynoidy mogą szkodzić organizmom niebędącym celem ich oddziaływania. Neonikotynoidy powiązano w szczególności z masowymi zatruciami pszczół miodnych i wykazano ich szkodliwy wpływ na sprawność pszczół miodnych i trzmieli, które na kontakt z tymi środkami narażone są przez pokarm. W związku z uzyskiwaniem coraz obszerniejszych informacji zlecono Europejskiemu Urzędowi ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) przeprowadzenie oceny ryzyka związanego ze stosowaniem imidakloprydu, klotianidyny i tiametoksamu oraz w zakresie ich wpływu na pszczoły. W opublikowanym w styczniu 2013 roku raporcie z badań wskazano, że użycie tych związków wobec określonych kwitnących roślin uprawnych stwarza wysokie ryzyko dla pszczół. Na podstawie tych wyników

w maju 2013 roku Unia Europejska przyjęła częściowy zakaz stosowania tych substancji, który wszedł w życie z dniem 1 grudnia 2013.

Celem niniejszego opracowania jest porównanie i podsumowanie danych naukowych opublikowanych od 2013 roku, dotyczących wpływu neonikotynoidów na organizmy niedocelowe, oraz zebranie ich w jednym dokumencie po to, aby ułatwić zainteresowanym stronom podejmowanie decyzji opartych na rzetelnej wiedzy. Ze względu na obawy dotyczące potencjalnie negatywnego wpływu neonikotynoidów na przyrodę, w ciągu ostatnich trzech lat naukowcy z wielu krajów poświęcili dużo uwagi tej kwestii. Jako że wprowadzone ograniczenia dotyczyły stosowania neonikotynoidów, najnowsze badania poświęcono właśnie tej grupie związków.

Zagrożenia dla pszczół

Uogólniając, ocena ryzyka przeprowadzona przez EFSA dotyczyła zagrożeń wynikających z narażenia pszczół na kontakt z neonikotynoidami. Uwzględniono różne formy tego kontaktu oraz jego bezpośrednie skutki letalne (powodujące śmierć organizmu) i subletalne (osłabiające żywotność). Dostępne są najnowsze wyniki badań dotyczących każdego z tych aspektów, można więc już podjąć się skomentowania raportów EFSA i zmian w stanie wiedzy od 2013 roku. Poniższy komentarz nie stanowi formalnej oceny ryzyka stosowania neonikotynoidów, podobnej do tej przeprowadzonej przez EFSA. Ma na celu podsumowanie nowych wyników badań, które zmieniają dotychczasowy stan wiedzy o prawdopodobnym ryzyku dla pszczół, i określenie, czy jest ono mniejsze, większe czy takie samo w stosunku do tego, co ustalono w 2013 roku. Ocenę ryzyka przeprowadzoną przez EFSA w 2013 roku

traktujemy jako punkt wyjścia. Różnice dotyczące każdego z omawianych aspektów w porównaniu z pierwotną oceną można podsumować następująco:

- ∞ *Ryzyko narażenia na działanie neonikotynoidów poprzez kontakt z pyłkiem i nektarem roślin kwitnących poddanych zabiegom.* Raporty EFSA zawierają obliczenia typowych wartości narażenia na neonikotynoidy po zastosowaniu ich jako preparatów do zaprawiania nasion uprawnych roślin kwitnących. Obecnie dysponujemy znacznie większą wiedzą na ten temat, a najnowsze badania w dużej mierze potwierdziły obliczone wartości narażenia. **Ryzyko** dla pszczół związane ze stosowaniem neonikotynoidów do upraw roślin kwitnących jest więc **takie samo**, jak ustalono w raporcie EFSA z 2013 roku.
 - ∞ *Ryzyko związane z uprawami niekwitającymi i roślinami na etapie rozwoju poprzedzającym kwitnienie.* Uważano, że uprawy niekwitające nie stwarzają zagrożeń dla pszczół. Żadne z nowych badań nie wykazało bezpośredniego ryzyka dla pszczół związanego z uprawami niekwitającymi, które poddano działaniu neonikotynoidów. Również w tym przypadku stwierdza się **takie samo ryzyko**.
 - ∞ *Ryzyko związane z wysiewem nasion i unoszeniem się powstającego pyłu.* Mimo udoskonalenia technologii siewu, nadal dochodzi do unoszenia pyłu, co w sposób istotny naraża pszczoły na kontakt z zawartymi w nim substancjami. Najlepiej zatem przyjąć, że **ryzyko** narażenia na działanie neonikotynoidów jest **takie samo**, jak to ustalone poprzednio.
 - ∞ *Ryzyko spowodowane pobieraniem neonikotynoidów przez rośliny nieuprawne.* Uznano, że rośliny niedocelowe prawdopodobnie pobierają jedynie niewielkie ilości neonikotynoidów, choć nie dysponowano wynikami badań tej kwestii. Od tamtego czasu opublikowano jednak sporo danych, które stanowią dowód na nasilone pobieranie neonikotynoidów przez rośliny dziko rosnące. Obecność tych substancji stwierdzono w pyłku, nektarze i liściach roślin nieuprawnych. Można się zatem spodziewać, że pszczoły zbierające pyłek z roślin poddanych zabiegom z użyciem neonikotynoidów mogą być narażone na najwyższe stężenia tych środków. Ilości neonikotynoidów w pyłku i nektarze zbieranych z dzikich roślin również są znaczące.
- Stanowi to potencjalnie bardziej długotrwałe źródło kontaktu z neonikotynoidami niż uprawy o krótkim okresie kwitnienia. Tym samym z najnowszych ustaleń wynika, że **ryzyko** narażenia pszczół na obecność neonikotynoidów w roślinach niedocelowych jest **większe** niż to dotychczas szacowane.
- ∞ *Ryzyko narażenia na kontakt z neonikotynoidami poprzez uprawy następcze.* Ta kwestia nie została wystarczająco zbadana, choć można założyć, że zachowane w uprawach następczych neonikotynoidy potencjalnie mogą stanowić zagrożenie dla pszczół. Wiemy, że środki te mogą utrzymywać się w glebie przez długi czas. Ponieważ jednak nadal dysponujemy niewieloma danymi, należy przyjąć, że w tej kwestii **ryzyko jest takie samo**, jak to wskazywane dotychczas.
 - ∞ *Bezpośrednie letalne działanie neonikotynoidów na dorosłe pszczoły.* Dodatkowe badania toksyczności wobec pszczół miodnych potwierdziły wartości wyliczone przez EFSA. Uzyskano kolejne wyniki badań dotyczące toksyczności neonikotynoidów wobec dzikich gatunków pszczół, a ich metaanaliza sugeruje w przybliżeniu podobne działanie. Odnoszenie się do poszczególnych gatunków jest ważne, jednak dla potrzeb tego opracowania **ryzyko** letalnego działania neonikotynoidów należy ocenić ogólnie jako **takie samo**.
 - ∞ *Subletalne działanie neonikotynoidów na dzikie pszczoły.* W raporcie EFSA niewiele miejsca poświęcono na działanie subletalne, jako że nie uzgodniono jednolitej metody jego badania. Tę kwestię uznano więc za lukę w wiedzy. Wykazano, że kontakt wolno latających dzikich pszczół z neonikotynoidami pochodzącymi z upraw kwitnących ma na te owady negatywny wpływ. Niektóre badania laboratoryjne potwierdzają negatywny wpływ zbliżonych do polowych stężeń neonikotynoidów na zdolność pszczół do żerowania i ich sprawność. **Większe ryzyko.**
- Podsumowując, badania prowadzone od 2013 roku dowodzą, że neonikotynoidy stwarzają podobne lub większe zagrożenie dla dzikich i hodowlanych pszczół w porównaniu z szacowanym w 2013 roku. Pochodząca z 2013 roku ocena ryzyka związanego ze stosowaniem neonikotynoidów była wystarczająca do wprowadzenia częściowego zakazu ich używania do upraw roślin kwitnących. Nowe dane zaś nie tylko potwierdzają dotychczasowe szacunki, lecz także wskazują, że środki te są



© Kim Taylor / NPL

nawet bardziej szkodliwe, niż sądzono. Można zatem wyciągnąć wniosek, że konieczne jest wydłużenie moratorium i rozważenie częściowego zakazu również innych zastosowań neonikotynoidów.

Możliwe ogólne zagrożenia dla środowiska

Poza badaniami pszczół naukowcy przeprowadzili badania dotyczące nieuwzględnionych wcześniej przez EFSA kwestii. Ustalono, że:

- ∞ zabiegi na uprawach niekwitnących z zastosowaniem neonikotynoidów mogą stwarzać zagrożenie również dla organizmów niedocelowych, w tym zwiększać śmiertelność pożytecznych drapieżników;
- ∞ neonikotynoidy mogą utrzymywać się w glebie rolnej przez kilka lat, co powoduje długotrwałe zanieczyszczenie, a w pewnych przypadkach kumulację szkodliwych substancji;
- ∞ obecność neonikotynoidów wykryto w różnych typach zbiorników wodnych, w tym rowach, kałużach, stawach, strumieniach górskich, rzekach, okresowych mokradłach, wodach roztopowych i gruntowych oraz odpływach z oczyszczalni ścieków;
- ∞ liczne gatunki owadów wodnych są kilkanaście razy bardziej wrażliwe na działanie neonikotynoidów niż organizmy modelowe, na których standardowo ocenia się pestycydy w procesie uzyskiwania zezwolenia na ich wprowadzenie;
- ∞ neonikotynoidy obecne są w pyłku, nektarze i liściach roślin rosnących w sąsiedztwie pól uprawnych, w tym zarówno jednorocznych roślin zielnych, jak i wieloletnich roślin drzewiastych. Można zatem się spodziewać, że niedocelowe (czyli te, przeciw którym środki ochrony roślin nie miały być w zamyśle stosowane), roślinożerne owady i zapylacze niebędące pszczołami, bytujące na miedzach i w żywopłotach, mogą być narażone na działanie neonikotynoidów. Jest to szczególnie niepokojące w przypadku roślin specjalnie wysiewanych przy polach uprawnych w celu ochrony zapylaczy;
- ∞ w trzech różnych krajach, w których przeprowadzono badania, istnieje związek między stosowaniem neonikotynoidów na terenach rolniczych a spadkiem liczebności populacji motyli, pszczół i ptaków owadożernych.

Ostatnie badania na temat neonikotynoidów pozwalają jeszcze lepiej opisać proces krążenia tych substancji w przyrodzie i ich utrzymywanie się w środowisku. Substancje te są rozpuszczalne w wodzie, przez co ich obecność stwierdzić można nie tylko w roślinach uprawnych. Przenikają do większości środowisk rolniczych, w których są stosowane, a niekiedy docierają do dalszych obszarów z ciekami wodnymi i wodami odpływowymi. Doświadczenia laboratoryjne prowadzone w zbliżonych do polowych warunkach, jak również badania terenowe udowadniają, że nawet śladowe ilości neonikotynoidów mogą mieć działanie letalne lub subletalne na organizmy z wielu różnych taksonów. Skala podatności poszczególnych taksonów różni się nawet o kilka rzędów wielkości, przy czym niektóre reagują negatywnie już na stężenia rzędu kilku części na

miliard, podczas gdy u innych nie obserwuje się takiego działania nawet po narażeniu ich na stężenie wiele tysięcy razy większe. Analiza zagrożenia stwarzanego przez klotianidynę, imidaklopyrd i tiametoksam przeprowadzona w 2013 roku koncentrowała się na wpływie tych substancji na pszczoły. Nowe badania zwiększają siłę argumentów na rzecz nałożenia moratorium na stosowanie tych środków, ponieważ udowodniono, że stanowią one poważne zagrożenie nie tylko dla pszczoł, lecz również dla wielu innych organizmów niedocelowych. Biorąc pod uwagę kolejne doniesienia naukowe o dostawaniu się neonikotynoidów do środowiska z wszelkich typów upraw, należy pilnie przeanalizować ryzyko związane ze stosowaniem tych substancji w uprawach niekwitnących i na obszarach nierolniczych.



01.

Wprowadzenie i bieżący stan wiedzy

Insektycydy z grupy neonikotynoidów wprowadzono do użycia w latach 90. XX wieku. Od tego czasu ich użycie znacznie wzrosło, tak że stały się najpowszechniej stosowaną klasą środków owadobójczych na świecie. Najszybszy wzrost ich popularności notowano od pierwszych lat XXI wieku. (Rycina 1). Wynika to w dużej mierze z wdrożenia zapraw nasiennych. Neonikotynoidy są rozpuszczalne w wodzie, dlatego też wystarczy nanieść niewielką ich ilość na nasiona, a rozpuści się ona w kontakcie z wodą i zostanie pobrana przez korzenie rozwijających się roślin. Następnie rozprzestrzenia się ogólnoustrojowo w roślinie, w tym w tkankach przewodzących i liściach, zapewniając ochronę przed roślinożernymi owadami. Profilaktyczne stosowanie neonikotynoidów stało się powszechne: w 2011 roku zaprawiane neonikotynoidami nasiona wysiano na obszarach stanowiących 79–100% ogółu powierzchni upraw kukurydzy w Stanach Zjednoczonych (Douglas i Tooker 2015).

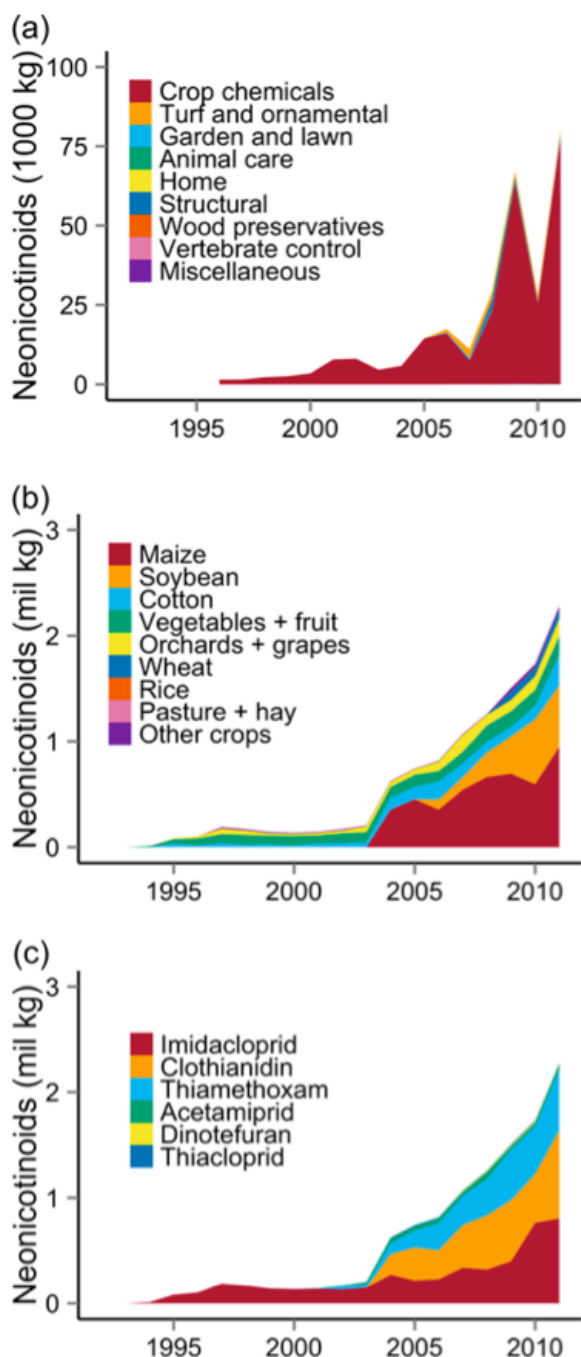
Jednakże tylko około 5% substancji czynnej preparatów neonikotynoidowych jest pobieranych przez rośliny docelowe podczas gdy większa ich część rozprzestrzenia się w środowisku. W ciągu ostatnich lat wielu autorów wyrażało zaniepokojenie możliwym wpływem neonikotynoidów na organizmy niedocelowe. Neonikotynoidy wzbijane wraz z pyłem przez siewniki powiązane z masowymi zatruciami pszczoł miodnych w Niemczech i we Włoszech (Pistorius i in. 2009; Bortolotti i in. 2009). Ponadto wykrywano je w glebie rolnej (Bonmatin i in. 2005) oraz w pyłku i nektarze upraw poddawanych zabiegom (Bonmatin i in. 2007). W 2012 roku opublikowano wyniki dwóch prestiżowych badań, w czasie których udowodniono, że narażenie na neonikotynoidy w pyłku i nektarze może poważnie ograniczać zdolność pszczoł miodnych do nawigacji i zwiększać ich śmiertelność (Henry i in. 2012), jak również zaburzać

rozwój rodzin trzmieli oraz produktywność ich matek (Whitehorn i in. 2012). W odpowiedzi na zwiększającą się liczbę prac poświęconych temu zagadnieniu zlecono Europejskiemu Urzędowi ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), instytucji nadzorującej chemikalia stosowane w rolnictwie, przeprowadzenie analizy ryzyka związanego ze stosowaniem trzech najpopularniejszych w rolnictwie neonikotynoidów (imidakloprydu, klotianidyny i tiametoksamu) pod kątem ich wpływu na pszczoły (EFSA 2013a; 2013b; 2013c). Na podstawie dostępnych danych EFSA zalecił wprowadzenie moratorium na stosowanie neonikotynoidów do upraw. Zostało ono zatwierdzone i wdrożone przez Komisję Europejską pod koniec 2013 roku.

Moratorium to niedługo wygasa. Jednym z głównych jego celów było zapewnienie warunków do dalszych badań nad wpływem neonikotynoidów na pszczoły, aby umożliwić uchwalenie przepisów prawa popartych dowodami naukowymi. Od 2013 roku opublikowano wyniki bardzo licznych badań nad wpływem neonikotynoidów na pszczoły i inne organizmy niedocelowe z wielu różnych taksonów. Opublikowano też szeroko zakrojone prace przeglądowe dotyczące wpływu neonikotynoidów na organizmy niedocelowe, takie jak na przykład prace: Nuyttens i in. (2013) na temat pyłów skażonych neonikotynoidami, Godfray i in. (2014; 2015) na temat ryzyka stwarzanego przez neonikotynoidy dla zapylaczy, Bonmatin i in. (2015) na temat narażenia na neonikotynoidy i ich obiegu w środowisku, Pisa i in. (2015) i Gibbons i in. (2015) na temat wpływu neonikotynoidów na niedocelowe organizmy lądowe oraz Morrissey i in. (2015) na temat zanieczyszczenia ekosystemów wodnych neonikotynoidami i ich wpływu na organizmy wodne.

Celem niniejszego przeglądu jest porównanie wyników badań naukowych opublikowanych od 2013 roku, dotyczących wpływu neonikotynoidów na dzikie organizmy niedocelowe (a więc nieobejmujących udomowionej pszczoły miodnej), oraz zebranie ich w jednym dokumencie, aby umożliwić politykom podjęcie decyzji opartych na rzetelnej wiedzy. Publikacja nie ma na celu formalnej oceny ryzyka stosowania neonikotynoidów. Prezentuje za to porównanie danych z 2013

roku, dostępnych w momencie prac nad przeprowadzoną przez EFSA analizą, z aktualnym stanem badań. W opracowaniu opisany został ogólny wpływ pestycydów z grupy neonikotynoidów na środowisko, który powinien być wzięty pod uwagę przy podejmowaniu decyzji o dalszym stosowaniu tych substancji w rolnictwie.



Rycina 1. Sprzedaż neonikotynoidów według (a) typu produktu, (b) upraw i (c) substancji czynnej między 1992 a 2011 rokiem. Dane dotyczące wykorzystania (a) oparto na danych ze sprzedaży w stanie Minnesota. Dane dotyczące upraw i substancji czynnych dotyczą całego terytorium USA i uzyskano je w ramach Amerykańskich Badań Geologicznych. Na osiach y wykreślono masę substancji czynnej preparatu neonikotynoidowego w tysiącach lub milionach kg. Źródło: Douglas and Tooker (2015)

02.

Dane potwierdzające narażenie na działanie pestycydów z grupy neonikotynoidów

2.1 Ryzyko narażenia organizmów niedocelowych na działanie neonikotynoidów stosowanych bezpośrednio na uprawy

Ze względu na systemiczny charakter neonikotynoidów stosowanie ich bezpośrednio na uprawy przy użyciu dowolnej metody aplikacji (np. zaprawianie nasion, opryskiwanie liści i zraszanie gleby) skutkuje wchłanianiem substancji we wszystkie tkanki roślin uprawnych. W rezultacie substancje trafiają do wszystkich organów roślin poddanych zabiegowi (Simon-Delso i in. 2015). W raportach EFSA (2103a; 2013b; 2013c) zidentyfikowano i omówiono szereg możliwych sposobów kontaktu pszczół z neonikotynoidami, wskazując, że ryzyko narażenia na ich działanie zależy od dawki i sposobu aplikacji substancji oraz rodzaju rośliny uprawnej. Jednakże wiedza na temat tego, w jakim stopniu i w jaki dokładnie sposób neonikotynoidy mogą oddziaływać na pszczoły, była niekompletna. Od tamtego czasu opublikowano jednak wyniki bardzo wielu badań na temat zagrożenia dla pszczół powodowanego przez neonikotynoidy stosowane do upraw. Z ważniejszych przeglądów wymienić można prace zespołów: Nuyttens i in. (2013), Godfray i in. (2014), Long and Krupke (2015) i Bonmatin i in. (2015).

2.1.1 Ryzyko narażenia na działanie neonikotynoidów zawartych w pyłku i nektarze roślin kwitnących

Na podstawie 30 (klotianidyna), 16 (tiametoksam) i 29 (imidaklopyrd) badań polowych oraz znanej, zatwierdzonej dawki aplikowania tych substancji EFSA (2013a; 2013b; 2013c) wyliczył, ile pozostać ich może w pyłku i nektarze badanych upraw (Tabela 1). Poziom substancji oznaczony w badaniach był zmienny, lecz pozostawał w zakresie jednego rzędu wielkości. Ilość pozostałości neonikotynoidów w pyłku była we wszystkich badanych przypadkach wyższa niż w nektarze. Zespół Godfray i in. (2014) dokonał przeglądu 20 publikacji, aby obliczyć średnią arytmetyczną maksymalnego poziomu substancji w uprawach poddanych zabiegowi. W wyniku obliczeń uzyskano wynik 1,9 ppb (części na miliard, ng/g) w nektarze i 6,1 ppb w pyłku, co odpowiada wynikom uzyskanym przez EFSA.

Uprawa	Pestycyd	Pozostałości w pyłku (ng/g)		Pozostałości w nektarze	
		Wartość min	Wartość max	Wartość min	Wartość max
Rzepak	Klotianidyna	5,95	19,04	5	16
Słonecznik	Klotianidyna		3,29		0,324
Kukurydza	Klotianidyna	7,38	36,88	<i>nie dotyczy</i>	<i>nie dotyczy</i>
Kukurydza	Imidaklopyryd	1,56	8,19	1,59	8,35
Słonecznik	Imidaklopyryd		3,9		1,9
Kukurydza	Imidaklopyryd	3,02	15,01	<i>nie dotyczy</i>	<i>nie dotyczy</i>
Bawełna	Imidaklopyryd	3,45	4,6	3,45	4,6
Rzepak	Tiametoksam	4,592	19,29	0,648	2,72
Słonecznik	Tiametoksam	2,378	3,02	0,59	0,75
Kukurydza	Tiametoksam	13,419	21,513	<i>nie dotyczy</i>	<i>nie dotyczy</i>

Tabela 1: Podsumowanie oczekiwanego poziomu pozostałości w pyłku i nektarze różnych upraw kwitnących, poddanych zabiegowi z użyciem neonikotynoidów, zgodnie z wyliczeniami EFSA na podstawie przeglądu badań polowych. Brak danych dotyczących nektaru kukurydzy wynika z faktu, że ta roślina go nie wytwarza. W przypadku braku wartości minimalnych pozostawiono puste miejsce.

Tabela 2: Podsumowanie badań opublikowanych od 2013 roku, dotyczących pozostałości neonikotynoidów stwierdzonych w pyłku i nektarze zebranym przez wolno żyjące pszczołowe w miejscach sąsiadujących z uprawami kwitnącymi niepoddanymi zabiegowi. Wyniki dotyczące próbek pozyskanych w miejscach poddanych zabiegowi zaznaczono pogrubioną czcionką. SS = wysiewane na wiosnę, WS = wysiewane na zimę, US = data wysiewu nieznana

Gatunek	Rodzaj próbki	Pobranie próbek	Położenie gniazda	Średnie sumaryczne stężenie neonikotynoidów (ng/ml lub ng/g)	Źródło
<i>Apis mellifera</i>	nektar	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól rzepaku US niepoddanego zabiegowi	<1 (granica oznaczalności)	Pilling <i>i in.</i> (2013)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól rzepaku US poddanego zabiegowi	0,7-2,4 (wartości mediany)	Pilling <i>i in.</i> (2013)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	6 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,3 (granica wykrywalności)	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	6 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	0,68	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	10-14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,3 (granica wykrywalności)	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	10-14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	0,77	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku SS niepoddanego zabiegowi	0,1	Rundlöf <i>i in.</i> (2015)
<i>Apis mellifera</i>	nektar	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku SS poddanego zabiegowi	10,3	Rundlöf <i>i in.</i> (2015)
<i>Bombus terrestris</i>	nektar	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku SS niepoddanego zabiegowi	0	Rundlöf <i>i in.</i> (2015)
<i>Bombus terrestris</i>	nektar	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku SS poddanego zabiegowi	5,4	Rundlöf <i>i in.</i> (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól kukurydzy niepoddanej zabiegowi	<1 (granica oznaczalności)	Pilling <i>i in.</i> (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	1-7 (wartości mediany)	Pilling <i>i in.</i> (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól rzepaku US niepoddanego zabiegowi	<1 (granica oznaczalności)	Pilling <i>i in.</i> (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól rzepaku US poddanego zabiegowi	<1-3,5 (wartości mediany)	Pilling <i>i in.</i> (2013)

<i>Apis mellifera</i>	pyłek	pierwsze dwa tygodnie lipca 2012	Na polu rzepaku SS niepoddanego zabiegowi	0,24	Cutler <i>i in.</i> (2014)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	pierwsze dwa tygodnie lipca 2012	Na polu rzepaku SS poddanego zabiegowi	0,84	Cutler <i>i in.</i> (2014)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,5 (<i>granica wykrywalności</i>)	Rundlöf <i>i in.</i> (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	13,9	Rundlöf <i>i in.</i> (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	maj do września 2011	Tereny nierolnicze	0,047	Long i Krupke (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	maj do września 2011	W sąsiedztwie pól kukurydzy niepoddanej zabiegowi	0,078	Long i Krupke (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	maj do września 2011	W sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	0,176	Long i Krupke (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	6 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,3 (<i>granica wykrywalności</i>)	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	6 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	0,50	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	10-14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,3 (<i>granica wykrywalności</i>)	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	10-14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	0,97	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Bombus terrestris</i>	pyłek	10 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,3 (<i>granica wykrywalności</i>)	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Bombus terrestris</i>	pyłek	10 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	0,88	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Bombus impatiens</i>	pyłek	lipiec do sierpnia 2013	W sąsiedztwie pól kukurydzy niepoddanej zabiegowi	<0,1 (<i>granica wykrywalności</i>)	Cutler i Scott-Dupree (2014)
<i>Bombus impatiens</i>	pyłek	lipiec do sierpnia 2013	W sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	0,4	Cutler i Scott-Dupree (2014)
<i>Osmia bicornis</i>	pyłek	14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS niepoddanego zabiegowi	<0,3 (<i>granica wykrywalności</i>)	Rolke <i>i in.</i> (2016)
<i>Osmia bicornis</i>	pyłek	14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku WS poddanego zabiegowi	0,88	Rolke <i>i in.</i> (2016)

Od 2014 roku pojawiło się wiele publikacji na temat stężeń neonikotynoidów w pyłku i nektarze upraw kwitnących poddanych działaniu tych substancji. Wyniki były w przybliżeniu zgodne z danymi prezentowanymi przez EFSA i w publikacji Godfray i in.. Dla rzepaku, którego nasiona zaprawiano tiametoksamem, publikacja Botías i in. (2015) wskazuje średnie stężenia tiametoksamu wynoszące 3,26 ng/g, klotianidyny – 2,27 ng/g i tiakloprydu – 1,68 ng/g w pyłku.

W nektarze rzepaku stwierdzono podobne średnie stężenia, wynoszące 3,20 ng/g tiametoksamu, 2,18 ng/g klotianidyny i 0,26 ng/g tiakloprydu. Xu i in. (2016) wykrywali średnie stężenia klotianidyny w rzepaku na poziomie 0,6 ng/g. Nie pobrano próbek pyłku. Stewart i in. (2014) badali pyłek kukurydzy. Ustalili, że średnie stężenia tiametoksamu i klotianidyny mieściły się w zależności od zastosowanej zaprawy nasiennej, w zakresie od granicy wykrywalności (LOD) wynoszącej 1 ng/g do 5,9 ng/g. Xu i in. (2016) określili, że średnie stężenie klotianidyny w pyłku kukurydzy wynosiło 1,8 ng/g. Natomiast Stewart i in. (2014) nie wykryli pozostałości neonikotynoidów w kwiatach soi ani nektarze bawełny.

Wiele badań, których wyniki opublikowano od 2013 roku, polegało na doświadczalnym sprawdzeniu, czy bliskość kwitnących upraw poddanych zabiegowi z użyciem neonikotynoidów zwiększa ryzyko narażenia pszczół na działanie tych substancji (Tabela 2). W badaniach na pszczole miodnej stężenia neonikotynoidów w pyłku owadów powracających po zbieraniu pożytku do gniazd położonych przy niepoddanych zabiegowi uprawach wynosiły 0-0,24 ng/g, natomiast w przypadku gniazd położonych blisko poddanych zabiegowi upraw wynosiły 0,84-13,9 ng/g. Mniej badań poświęcono trzmielom, dlatego też dysponujemy znacznie mniejszą próbą. Zgodnie z uzyskanymi wynikami, stężenia neonikotynoidów w pyłku z obszarów niepoddanych zabiegowi wynosiły <0,1- <0,3 ng/g, natomiast w przypadku gniazd położonych blisko poddanych zabiegowi obszarów wynosiły 0,4-0,88 ng/g. Jedyne dostępne badanie poświęcone pyłkowi zebranemu przez pszczoły samotnice (*Osmia bicornis*) wskazuje na stężenia <0,3 ng/g na obszarach niepoddanych zabiegowi i 0,88 ng/g na obszarach poddanych zabiegowi. Podobne trendy wykryto w badaniach dotyczących nektaru, chociaż ich dostępność jest mniejsza. Rolke i in. (2016) wykryli stężenia neonikotynoidów w zakresie 0,68–0,77 ng/ml w próbkach nektaru zebranego

przez pszczoły miodne z pasiek sąsiadujących z polami zaprawianego neonikotynoidami rzepaku. Dla porównania, w przypadku pasiek sąsiadujących z polami niezaprawianego rzepaku stężenia były <0,3 ng/ml. Natomiast Rundlöf i in. (2015) wykryli stężenia wynoszące 5,4 ng/ml w nektarze zebrany przez trzmiel i 10,3 ng/ml w nektarze zebrany przez pszczoły, których gniazda znajdowały się w pobliżu poddanych zabiegowi pól rzepaku, gdy w sąsiedztwie niepoddanych zabiegowi pól rzepaku stężenia te wynosiły 0-0,1 ng/ml.

Taka zmienność w stężeniach neonikotynoidów w pyłku i nektarze zebranych przez pszczoły, sięgająca całego rzędu wielkości, występuje również w innych badaniach. Stężenia substancji wykrywane w pyłku i nektarze prawdopodobnie silnie zależą od dawki i sposobu aplikacji, badanych upraw, pory roku, lokalizacji, typu gleby, pogody, pory dnia, w której zebrano próbki, i wielu innych czynników. Nawet w przypadku różnych odmian upraw można uzyskać znaczącą zmienność stężenia pozostałości pestycydów w pyłku i nektarze (Bonmatin i in. 2015). Jako że próbki pyłku od grupy pszczół stanowią mieszaninę pyłku pochodzącego od różnych roślin, z których dodatkowo większość nie jest roślinami uprawnymi, stężenie pozostałości neonikotynoidów w pyłku upraw jest zaniżone z powodu wymieszania z pyłkiem roślin niepoddanych zabiegowi. Jednakże w omawianych badaniach wyższe stężenia neonikotynoidów mieszczą się w rzędzie wielkości 6,1 ng/g w pyłku i 1,9 ng/ml w nektarze, jak wyliczył zespół Godfray i in. (2014). Ponadto, we wszystkich przypadkach, stężenie neonikotynoidów w pyłku i nektarze było wyższe w miejscach sąsiadujących z uprawami kwitnącymi poddanymi zabiegowi z użyciem neonikotynoidów niż w miejscach sąsiadujących z uprawami, na których takich zabiegów nie dokonywano. Z dostępnych danych można wyczytać, że im mniejsza odległość od poddanych zabiegowi z użyciem neonikotynoidów upraw kwitnących, tym większe narażenie pszczół na kontakt z pestycydami. Niedawno uzyskane wyniki badań na temat stężeń wykrytych w uprawach kwitnących są w przybliżeniu zgodne z poziomami przedstawionymi przez EFSA (2013a; 2013b; 2013c).

2.1.2 Ryzyko związane z uprawami niekwitnącymi i roślinami na etapie rozwoju poprzedzającym kwitnienie

W raportach EFSA uznano, że uprawy, w przypadku których wydano zezwolenie na zaprawianie nasion klotianidyną, nie kwitną, są zbierane przed kwitnieniem lub nie wytwarzają pyłku ani nektaru, dlatego też nie stwarzają ryzyka narażenia pszczół na kontakt z tym pestycydem. Wprawdzie niekwitnące uprawy rzeczywiście nie stanowią zagrożenia wynikającego z wytwarzania pyłku i nektaru, jednak stanowią źródło neonikotynoidów, które mogą rozprzestrzeniać się w środowisku (patrz punkt 2.2). Ponadto uprawy poddane jakimkolwiek zabiegowi z użyciem neonikotynoidów stanowią ich dodatkowe źródło dla innych organizmów.

Zależnie od gatunku rośliny uprawnej, a tym samym od wielkości nasion, na zaprawione neonikotynoidami nasiono przypada 0,2–1 mg substancji czynnej (Goulson 2013). W tym samym badaniu wyliczono, że wystarczy, aby żywiła się ziarnem, ważąca 390 g kuropatwa zjadła około pięciu nasion kukurydzy, sześciu nasion buraka cukrowego lub 32 nasion rzepaku, aby przyjąć nominalną dawkę LD50. Zgodnie z danymi szacunkowymi Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska, przy zalecanej gęstości wysiewu około 1% wysiewanych nasion jest dostępnych dla żerujących kręgowców. Goulson wyliczył na tej podstawie, że zaprawiane nasiona są dostępne w ilości pozwalającej dostarczyć dawkę równą LD50 około 100 kuropatwom na hektar kukurydzy lub rzepaku (kuropatwa zwyczajna zwykle spożywa około 25 g nasion dziennie). Występuje też wyraźne ryzyko spożycia neonikotynoidów przez inne zwierzęta żywiące się ziarnem, zwłaszcza ptaki i ssaki. Wprawdzie przeprowadzono kilka badań doświadczalnych na temat śmiertelności i działania subletalnego u ptaków z powodu zaprawiania nasion (patrz punkt 3.5), nie ma jednak dostępnych danych, które dowodziłyby spożycia takich nasion przez ptaki z terenów rolniczych w warunkach polowych lub oceniały ilościowo spożycie takich nasion w porównaniu z nasionami niezaprawianymi. Takie dane pozwoliłyby określić całkowite ryzyko narażenia tą drogą na działanie neonikotynoidów.

Rozwijające się siewki roślin poddanych zabiegowi z użyciem neonikotynoidów są zjadane nie tylko przez

roślinożerne owady, lecz również przez mięczaki. Mimo że neonikotynoidy mają względnie małą skuteczność wobec mięczaków, zespół Douglas i in. (2015) badał pozostałości neonikotynoidów w organizmie ślimaka *Deroceras reticulatum*, będącego istotnym szkodnikiem w rolnictwie. Prowadzono badania w warunkach laboratoryjnych i polowych z wykorzystaniem nasion soi zaprawianych neonikotynoidami. Sumaryczne stężenie neonikotynoidów w próbkach pobranych od ślimaków żerujących w warunkach polowych na zaprawianej soi wynosiło maksymalnie nawet 500 ng/g, przy czym średni poziom przekraczał 100 ng/g po 12 dniach żerowania. Nie wykryto neonikotynoidów w ślimakach żerujących na niepoddanych zabiegowi roślinach kontrolnych. Po 169 dniach nie wykrywano neonikotynoidów nie tylko w próbkach kontrolnych, lecz również w próbkach pobranych od ślimaków mających kontakt z zaprawianą soją. W badaniach laboratoryjnych ślimaki żywione siewkami soi wykazywały niską śmiertelność, wynoszącą 6–15% w zależności od intensywności stosowania zaprawy nasiennej. Przeprowadzono doświadczenia laboratoryjne, w których ślimaki karmione soją wystawiano na atak chrząszczy *Chlaenius tricolor*. *C. tricolor* jest typowym drapieżnym chrząszczem ekosystemów rolniczych, który żywi się w dużej mierze ślimakami. W grupie chrząszczy, które spożyły ślimaki narażone na neonikotynoidy, 61,5% (n=16/26) wykazało następnie oznaki zaburzeń, których nie obserwowano u chrząszczy z grupy kontrolnej (n=0/28). Siedem z 16 chrząszczy z zaburzeniami w rezultacie zdechło. Badanie to omówiono też w punkcie 3.3. Podobne wyniki uzyskał zespół Szczepaniec i in. (2011), który odkrył, że spryskanie wiązków imidakloprzydem powoduje nasilone namnażanie przedziorków *Tetranychus schoenei*. Było to spowodowane zmniejszeniem zagęszczenia polujących na nie drapieżników, których śmiertelność zwiększyła się na skutek spożycia zawierających imidakloprzyd organizmów. Wiele pożytecznych, drapieżnych bezkręgowców żywi się szkodnikami upraw, wobec których stosuje się neonikotynoidy, lecz do tej pory nie przeprowadzono innych badań mających na celu sprawdzenie, czy neonikotynoidy przenoszone są na te drapieżniki poprzez bezpośrednie spożycie przez nie szkodników upraw w ramach ekosystemów rolniczych.

Kolejne zagrożenie dla populacji naturalnych wrogów szkodników stanowią potencjalnie kwitnące uprawy na etapie rozwoju poprzedzającym kwitnienie. Będąca parazytoide mszyc osa *Aphelinus certus* jest ważnym wrogiem żywiących się soją mszyc *Aphis glycines*. Zespół Frewin i in. (2014) przeprowadził badania laboratoryjne nad *A. certus*, dając im dostęp do mszyc żywionych soją zaprawianą neonikotynoidami i mszyc kontrolnych. *A. certus* pasożytowała na znacznie mniejszym odsetku mszyc żerujących na poddanych zabiegowi roślinach niż w grupie kontrolnej. Frewin i in. podają dwie możliwe przyczyny tego zjawiska. Po pierwsze, narażenie na pozostałości neonikotynoidów w mszycy będącej żywicielem może zwiększać śmiertelność niedojrzałych parazytoide lub połączony wpływ tych pozostałości i obecności parazytoide może zwiększać śmiertelność mszyc. Po drugie, *A. certus* może unikać zatrutych pestycydami mszyc jako żywicieli. Wiadomo, że gatunki z rodzaju *Aphelinus* mają wbudowane mechanizmy oceny odpowiedniości żywiciela. Możliwe, że wykorzystują w tym celu hormony mszyc związane ze stresem lub odpowiedzią immunologiczną. Jako że zwalczanie szkodliwych owadów metodami

biologicznymi wymaga zwiększenia liczebności os będących parazytoideami we wczesnych etapach sezonu, powlekanie nasion neonikotynoidami i ograniczanie relacji pasożytniczych może potencjalnie utrudnić osom *A. certus* ograniczanie populacji mszyc żywiących się soją.

Niekwitnące uprawy zawierające neonikotynoidy stanowią możliwe ich źródło dla organizmów żywiących się poddanyymi zabiegowi nasionom lub siewkom. To z kolei prowadzić może do przenikania neonikotynoidów do wyższych poziomów troficznych, w tym do pożytecznych owadów, które przyczyniają się do zwalczania szkodników poprzez drapieżnictwo. Jako że raporty EFSA nie uwzględniały wpływu neonikotynoidów na organizmy inne niż pszczoły, nie da się przedstawić porównania z przedstawionymi tam wynikami.

2.1.3 Ryzyko narażenia pszczoł na działanie neonikotynoidów wynikające z wysiewu nasion i unoszenia się powstającego pyłu

W wielu badaniach (np. 12 badań wymienionych w pracy Godfray i in. 2014) przed 2013 rokiem ustalono, że neonikotynoidy z zaprawianych nasion mogą zostać z nich usunięte mechanicznie podczas siewu i następnie uwolnione w postaci pyłu. Tak powstały pył może w pewnych warunkach zawierać bardzo wysokie stężenia neonikotynoidów, dochodzące do 240 000 ng/g (patrz praca przeglądowa Nuyttens i in. 2013). Intensywny kontakt z takim pyłem może w pewnych przypadkach skutkować masowym zatruciem pszczoł miodnych (patrz Pistorius i in. 2009; Bortolotti i in. 2009). Stężenie neonikotynoidów w pyłe wytworzonym podczas siewu i łączna objętość uwolniona do powietrza zależą od dawki zaprawy nasiennej, typu nasion, jakości powłoki na nasionach (w tym takich dodatków jak talk w proszku), technologii siewu i warunków środowiskowych. Zespół Girolami i in. (2013) wykazał, że chmury pyłu wzbijane przez siewniki mają kształt elipsoidalny o średnicy 20 m. Podczas doświadczeń klatkowych pojedynczy przejazd maszyny do siewu wystarczył, aby zabić wszystkie badane pszczoły miodne. Zastosowanie rur zaprojektowanych tak, by powietrze wychodzące z siewnika podczas siewu skierowane było bezpośrednio ku ziemi, nie zwiększyło wystarczająco przeżywalności pszczoł. W organizmach pszczoł miodnych wykrywano stężenia neonikotynoidów



Zaprawiane neonikotynoidami nasiona ogórka
© ajaykampani / iStockphoto

sięgające 4000 ng/g przy średnim stężeniu wynoszącym 300 ng/g. Podobne stężenia wykrywano w pszczołach mających zarówno kontakt z uprawami, w których zastosowano siewniki zmodyfikowane, jak i niemodyfikowane.

Na podstawie dostępnych danych w raportach EFSA (2013a; 2013b; 2013c) wywnioskowano, że produkcja kukurydzy wiąże się z największym odkładaniem powstałego pyłu, podczas gdy zjawisko to było ograniczone w przypadku buraka cukrowego, rzepaku i jęczmienia. Brak jest dostępnych danych o innych uprawach, a zważywszy, że typ nasion jest ważnym czynnikiem warunkującym uwalnianie neonikotynoidów, ekstrapolacja wyników na inne uprawy wiąże się z dużą niepewnością. Nie da się wykluczyć dużego ryzyka narażenia pszczół korzystających z pól uprawnych lub przelatujących obok nich podczas wysiewu kukurydzy, rzepaku i zbóż na działanie neonikotynoidów. W praktyce ta ocena oznacza, że pszczoły miodne lub inne zapylacze przelatujące obok pól uprawnych są narażone na wysokie ryzyko (np. poprzez bezpośredni kontakt z pyłem) i mogą zanosić znaczące ilości neonikotynoidów innym owadom w rodzinie (w przypadku owadów społecznych). Zagrożenie dla pszczół korzystających z pożytków znajdujących się w większej odległości od obszarów, na których zastosowano neonikotynoidy, lub takich, do których substancje te mogą dotrzeć wraz z wiatrem, powinno być znacząco mniejsze. Z raportów wynika, że wcześniejsze oceny nie uwzględniły potencjalnego ryzyka działania subletalnego na pszczoły miodne z powodu narażenia na pył. Brak było dostępnych informacji na temat pozostałości neonikotynoidów w nektarze okolicznej roślinności po wzbiciu się pyłu.

W ciągu ostatnich lat wprowadzono różne typy udoskonalonych siewników, które kierują powietrze z dmuchawy do gleby. Ogranicza to wzbijanie się pyłu nawet o 95% (patrz Manzone i in. 2015). Deflektory powietrza stały się obowiązkowe przy niektórych produktach w Holandii, Francji, Belgii i Niemczech (Godfray i in. 2014). Bonmatin i in. (2015) oraz Long i Krupke (2015) przeprowadzili przegląd dostępnej literatury dotyczącej narażenia zapylaczy i innych organizmów niedocelowych na skażony pył z siewników, koncentrując się na źródłach sprzed kwietnia 2013 roku. Autorzy podsumowali, że mimo działań legislacyjnych, wzbijanie się pyłu jest prawdopodobną przyczyną skażenia środowiska neonikotynoidami, zwłaszcza jeśli nie są przestrzegane najwyższe standardy.

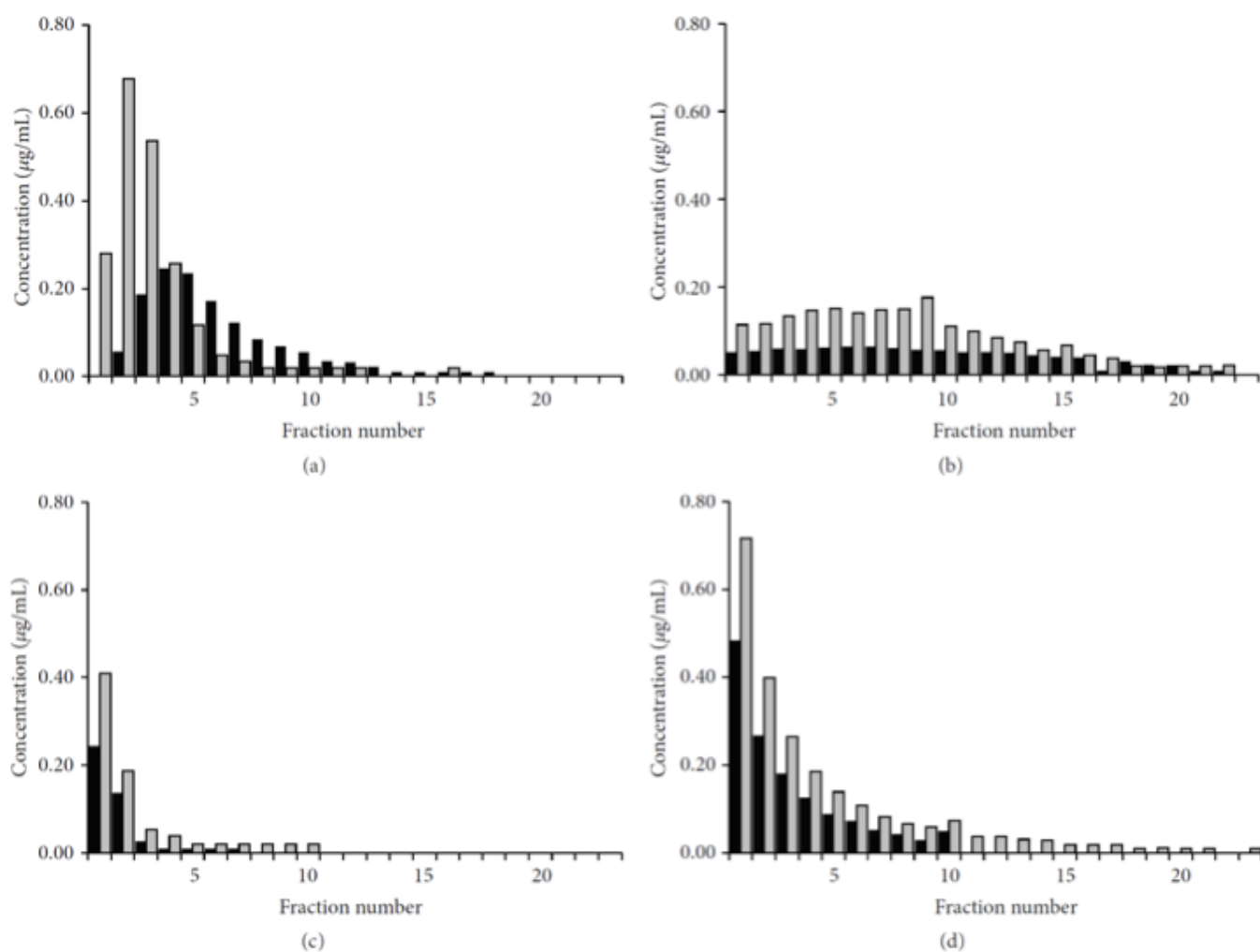
W niedawnych badaniach, prowadzonych bezpośrednio po wysiewie, wykrywano neonikotynoidy również w tkankach dzikich roślin kwiatowych otaczających pola uprawne. Stewart i in. (2014) wykryli średnie stężenia neonikotynoidów wynoszące 9,6 ng/g w całych dzikich kwiatach zebranych z miedz przy polach obsianych kukurydzą (n=18), bawełną (n=18) i soją (n=13). Próbkę pobrano kilka dni po obsianiu pola (zwykle w ciągu trzech dni), a najwyższe stężenie, wynoszące 257 ng/g, wykryto w próbce pobranej obok pola obsianego poprzedniego dnia kukurydzą zaprawianą tiametoksamem. Szczegółowe dane na temat stężeń w sąsiedztwie poszczególnych typów upraw są niedostępne. Nie pobrano próbek roślinności sąsiadującej z polami obsianymi nasionami niezaprawianymi neonikotynoidami. Rundlöf i in. (2015) zbierali kwiaty i liście dzikich roślin rosnących w sąsiedztwie pól obsianych dwa dni wcześniej zaprawianymi oraz niezaprawianymi nasionami rzepaku. Obok pól obsianych zaprawianymi nasionami stężenia były niższe niż wykrywane w poprzednich badaniach i wynosiły 1,2 ng/g. Stężenie to jest jednak wyższe niż przy polach kontrolnych, gdzie nie stosowano neonikotynoidów. Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi publikacjami, które sugerowały mniejsze ryzyko skażenia pyłem pochodzącym od nasion rzepaku niż od nasion kukurydzy.

2.1.4 Ryzyko narażenia pszczół na działanie neonikotynoidów poprzez kontakt z płynem gutacyjnym

Niektóre rośliny wydzielają niewielkie objętości płynu (soku ksylemowego) na końcówkach liści i innych krawędziach. Płyn ten bywa nazywany gutacyjnym. W sześciu opublikowanych badaniach i badaniu przeglądowym EFSA wykryto skrajnie wysokie stężenia neonikotynoidów w kropelkach płynu gutacyjnego, wyższe nawet o 4–5 rzędów wielkości niż w nektarze. Dotyczy to zwłaszcza młodych roślin (patrz Godfray i in. 2014). Przyjmując stężenie klotianidyny wynoszące 717 000 ng/g i toksyczność ostrą drogą pokarmową 3,8 ng klotianidyny na pszczołę (patrz punkt 3.1.1), urząd EFSA (2013a) obliczył, że pszczoła miodna otrzymałaby LD50 po spożyciu zaledwie 0,005 µl tego płynu. Jako że robotnice pszczoły miodnej mogą przenosić 1,4–2,7 ml wody dziennie, ten sposób kontaktu z neonikotynoidami może niewątpliwie prowadzić do zamierania pszczół. Ocena ryzyka w przypadku tiametoksamu i imidakloprydu dała podobne wyniki (EFSA

2013b; 2013c). Jednakże na podstawie badań doświadczalnych w raporcie EFSA wywnioskowano, że wprawdzie kropelki płynu gutacyjnego są często wytwarzane, jednak rzadko obserwuje się, żeby pszczoły miodne je zbierały. Należy więc uznać ryzyko za niewielkie.

Od 2013 roku przeprowadzono niewiele badań narażenia na neonikotynoidy poprzez płyn gutacyjny. Jedno z dostępnych badań, Reetz i in. (2015), dotyczyło oceny stężenia tiametoksamu w kropelkach płynu gutacyjnego rzepak. Dokonywano oznaczenia pozostałości tiametoksamu w wólach miodowych poszczególnych pszczół miodnych. Autorzy podkreślają, że obserwacja sposobu pozyskiwania wody przez pszczoły miodne w terenie jest prawie niemożliwa. Zamiast tego zbierano pszczoły powracające do ula z pól rzepaku, na których zastosowano neonikotynoidy. Badania prowadzono jesienią, gdy siewki rzepaku wydzielają płyn gutacyjny, w latach 2010 i 2011. Na etapie liścienia rzepak wydzieliał płyn gutacyjny zawierający 70-130 ng/ml klotianidyny. Spośród 436 przebadanych woli miodowych wykryto neonikotynoidy tylko w 62 próbkach, a stężenie mieściło się w zakresie

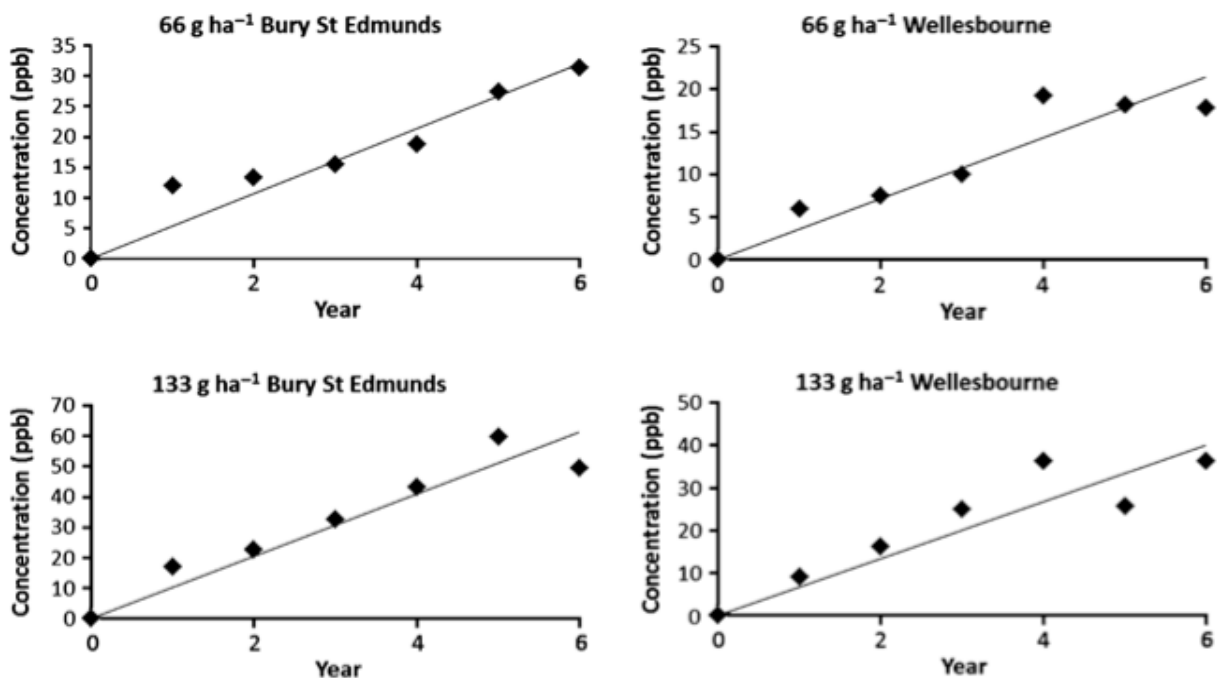


Rycina 2. Profil rozcięrczenia klotianidyny i tiametoksamu po wchłonięciu do gleby. Stężenia klotianidyny (czarne słupki) i tiametoksamu (szare słupki) mierzone w roztworach wodnych gleb (a) piaszczystych, (b) gliniastych i (c) ilastych. Roztwory z (d) pumeksu ukazano w charakterze kontroli. Stężenia we frakcjach 10 ml roztworu ukazano w µg/ml, jako funkcję frakcji o danym numerze. Źródło: Mörtl i in. (2016)

0,1-0,95 ng/ml. Jako że nie była jednak możliwa obserwacja behawioralna, nie da się potwierdzić tego poziomu zanieczyszczenia z dużą pewnością, ponieważ neonikotynoidy występują też w zbiornikach wodnych i w nektarze dzikich kwiatów (patrz punkt 2.2). Dlatego też nadal nie ma dowodów potwierdzających ryzyko narażenia pszczoł miodnych i innych owadów na neonikotynoidy poprzez kontakt z kropelkami płynu gutacyjnego lub zbieranie go.

2.2 Ryzyko narażenia organizmów niedocelowych na działania neonikotynoidów utrzymujące się w środowisku

W trakcie identyfikacji dróg narażenia pszczoł miodnych, w raportach EFSA rozważano możliwość występowania pozostałości neonikotynoidów w chwastach rosnących wśród upraw poddanych zabiegowi. Uznano, że ta droga narażenia jest pomijalna, ponieważ chwasty nie powinny występować na polu w czasie obsiewania roślin uprawną. Jako że substancje czynne pestycydów występują w wysokim stężeniu wokół powlekaných nasion, wchłanianie tych substancji przez korzenie chwastów został uznane za mało prawdopodobne. Mimo to w raportach zaznaczono, że nie można wykluczyć potencjalnego wchłaniania neonikotynoidów przez korzenie kwitnących chwastów po zastosowaniu tych substancji w postaci granuli oraz podkreślono, że istnieje w tym przypadku luka w wiedzy.



Rycina 3. Poziomy imidakloprydu w glebie obsiewanej zaprawianymi nasionami pszenicy ozimej co roku na jesieni (1991–1996). Oba badane stanowiska znajdują się we wschodniej Anglii. Podczas zabiegów stosowano 66 g i 133 g substancji czynnej na ha z wyjątkiem pierwszego roku, kiedy zastosowano 56 g i 112 g. Źródło danych: Placke (1998a). Źródło: Goulson (2013)

Utrzymywanie się neonikotynoidów w glebie, wodzie i dzikich roślinach stanowi potencjalnie poważny problem. Jeśli te pestycydy mogą dostawać się do siedlisk otaczających pola uprawne, może być na nie narażonych dużo więcej organizmów niż tylko bezkręgowce odwiedzające pola. Jeśli te pestycydy utrzymują się w środowisku przez dłuższy okres, wówczas narażenie na neonikotynoidy może stać się przewlekłe, w odróżnieniu od ostrego narażenia związanego z wysiewem zaprawianych nasion.

Od kwietnia 2013 roku uzyskano dużo danych empirycznych dokumentujących los pozostałości neonikotynoidów w środowisku po ich aplikacji. Do najważniejszych opublikowanych prac przeglądowych należą prace Goulson (2013), Bonmatin i in. (2015) i Morrissey i in. (2015).

2.2.1 Utrzymywanie się neonikotynoidów w glebie

Wprawdzie neonikotynoidy stosowane do zaprawiania nasion mają być w założeniu pobierane przez rośliny docelowe, tylko 1,6–20% substancji czynnej zostaje wchłonięte, a większość pozostaje w glebie. Mały odsetek ulega rozproszeniu z pyłem tworzącym się podczas siewu (patrz punkt 2.1.2). Siła wiązania neonikotynoidów w glebie zależy od wielu różnych czynników. Neonikotynoidy są rozpuszczalne w wodzie (patrz punkt 2.2.2) i w jej obecności mogą być wypłukiwane z gleby. Jeśli gleba zawiera wiele materiału organicznego, wówczas wypłukiwanie jest mniej nasilone niż sorpcja (Selim i in. 2010). Podczas niedawno przeprowadzonego porównania różnych typów gleby zespół Mörtl i in. (2016, Rycina 2) ustalił, że klotianidyna i tiametoksam łatwo wypłukują się z gleb piaszczystych. Z kolei gleby gliniaste wykazywały silniejszą retencję neonikotynoidów, a najwyższe wyniki uzyskano w przypadku gleb ilastych. Tym samym najwyższe stężenia pozostałości neonikotynoidów wykrywano w glebach ilastych.

Wiele badań poświęcono ocenie okresu połowicznego zaniku (DT50) neonikotynoidów w glebie, przy czym znaczna część tych prac została przeprowadzona, zanim zainteresowano się potencjalnie szkodliwym wpływem neonikotynoidów na ogólną bioróżnorodność. Goulson (2013) dokonał przeglądu dostępnych wyników DT50 z badań terenowych i laboratoryjnych przeprowadzonych między 1999 a 2013 rokiem. Zgłaszane wartości DT50 są bardzo zmienne i zwykle wynoszą

od 200 do aż 1000 dni w przypadku imidaklopyrydu, 7–353 dni w przypadku tiametoksamu i 148–6931 dni w przypadku klotianidyny. Wydaje się, że DT50 jest krótszy w przypadku nitro-podstawianych neonikotynoidów, przy czym dla tiaklopyrydu wynosił 3–74 dni a dla acetamiprydu: 31–450 dni. Wartości DT50 przekraczające rok sugerowałyby prawdopodobieństwo bioakumulacji neonikotynoidów w glebie przy założeniu ich stałego stosowania. Jednakże zgłaszane wartości są wysoce zmienne. W momencie przygotowywania raportów EFSA dostępne były wyniki tylko jednego badania oceniającego akumulację neonikotynoidów w glebie na przestrzeni lat przy stałym ich stosowaniu. Bonmatin i in. 2005 przebadał 74 próbki gleby z terenów rolnych we Francji w kierunku imidaklopyrydu. Stężenia imidaklopyrydu były wyższe w glebie, w której stosowano pestycyd przez dwa kolejne lata, niż w glebie, gdzie przeprowadzono zabieg tylko raz. Sugeruje to możliwość akumulacji imidaklopyrydu w glebie. Jednakże to badanie dotyczyło tylko gleby poddawanej zabiegowi maksymalnie przez dwa lata, nie jest więc jasne, czy poziom pozostałości nadal by się zwiększał. Dwa kolejne badania ukończono przed 2013 rokiem, lecz ich wyniki nie zostały szerzej rozpowszechnione. Badania te przeprowadziła firma Bayer. Dotyczyły one poziomu imidaklopyrydu w glebie na przestrzeni sześciu lat w Wielkiej Brytanii, gdzie stosowano zaprawiane nasiona jęczmienia (Placke 1998a), i w Niemczech, gdzie spryskiwano glebę w sadach (Placke 1998b). Goulson (2013) przeanalizował te dane i uznał, że dowodzą one akumulacji neonikotynoidów w glebie z czasem (Rycina 3). Wskazał też na pewne przesłanki, że stężenia mogą osiągać stan pewnej równowagi po mniej więcej pięciu latach. Jako że badania zakończono po sześciu latach, nie jest jasne, czy stężenia badanej substancji nadal by wzrastały.

Od 2013 roku opublikowano szereg badań, w których mierzono stężenia neonikotynoidów w glebie rolnej. Na tej podstawie obliczono rzeczywiste DT50 neonikotynoidów w glebie i określono poziom akumulacji dzięki szeroko zakrojonym testom terenowym i próbkowaniu. Dane z badania pobranych w terenie próbek zawierających neonikotynoidy podsumowano w Tabeli 3. Zespół Jones i in. (2014) mierzył stężenia neonikotynoidów w próbkach gleby ze środka i krawędzi 18 pól z 6 hrabstw w Anglii. Próbki zebrano wiosną 2013 roku przed wysianiem upraw. Wykryto imidaklopyryd (w zakresie <0,09–10,7 ng/g), klotianidynę (w zakresie <0,02–13,6 ng/g) i tiametoksam (w zakresie <0,02–1,5 ng/g).

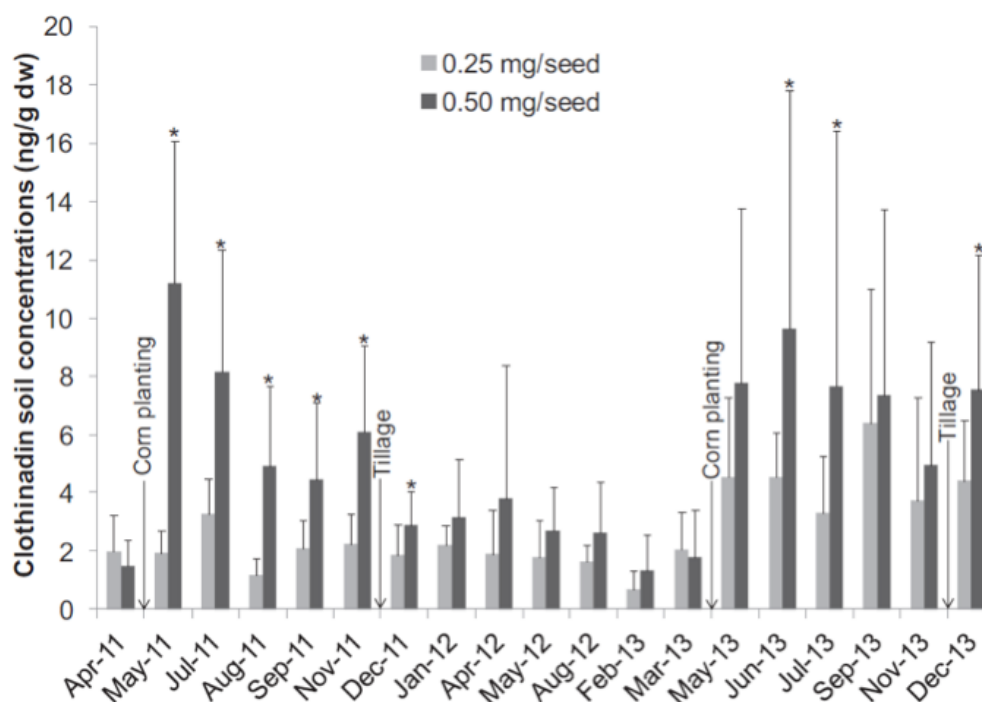
Wielkość próby (pola)	Kraj	Rok/lata badania	Pobrane próbki	Wcześniejsze uprawy	Średnie stężenie neonikotynoidów (ng/g)			Źródło
					Imidaklopyrd	Klotianidyna	Tiametoksam	
28	USA	2012	wiosna, przed obsianiem	różne	4,0	3,4	2,3	Stewart i in. (2014)
18	Wielka Brytania	2013	wiosna	różne	1,62	4,89	0,4	Jones i in. (2014)
25	Kanada	2013 i 2014	wiosna, przed obsianiem	kukurydza		3,45	0,91	Limay-Rios i in. (2015)
7	Wielka Brytania	2013	lato, w obecności upraw (10 miesięcy po obsianiu)	rzepak	3,03	13,28	3,46	Botías i in. (2015)
3	USA	2011 do 2013	regularnie	kukurydza i soja		2,0-11,2		de Perre i in. (2015)
50	USA	2012 i 2013	lato, w obecności upraw	kukurydza		7,0		Xu i in. (2016)
27	Kanada	2012 do 2014	lato, w obecności upraw	rzepak		5,7		Xu i in. (2016)
35	Niemcy	2013	jesień, przed obsianiem	różne		2,1		Heimbach i in. (2016)

Tabela 3. Podsumowanie opublikowanych od 2013 roku badań stężenia neonikotynoidów w glebie rolnej

Stężenie pozostałości w próbkach ze środka pola było wyższe niż w próbkach z krawędzi pola (średnie stężenia wynosiły odpowiednio 1,62 i 0,76 ng/g dla imidaklopyrdy, 4,89 i 0,84 ng/g dla klotianidyny oraz 0,40 i 0,05 ng/g dla tiametoksamu). W próbkach z 14 spośród 18 pól wykryto neonikotynoidy, których nie stosowano przez trzy lata poprzedzające badanie (głównie imidaklopyrd). Zespół Limay-Rios i in. (2015) analizował próbki gleby zebrane wiosną 2013 i 2014 roku z 25 pól uprawnych w Ontario (Kanada) przed obsianiem. Wykryto średnie stężenie klotianidyny wynoszące 3,45 ng/g i tiametoksamu wynoszące 0,91 ng/g. Średnie stężenie łączne neonikotynoidów wynosiło 4,36 ng/g, co jest podobnym wynikiem do uzyskanego przez zespół Jones i in. (2014).

Zespół Botías i in. (2015) analizował próbki gleby z siedmiu obsiewanych zimą pól rzepaku i pięciu obsiewanych zimą pól pszenicy. Próbki zbierano latem 2013 roku, 10 miesięcy po obsianiu pól. Próbki pobrano ze środka pola (tylko rzepak) i z jego krawędzi (rzepak i pszenica ozima). Wykryto następujące zakresy stężeń: $\leq 0,07$ -7,90 ng/g imidaklopyrdy, 0,41-28,6 ng/g klotianidyny, $\leq 0,04$ -9,75 ng/g tiametoksamu i $\leq 0,01$ -0,22 ng/g tiaklopyrdy. Stężenie pozostałości w próbkach ze środka pola rzepaku było wyższe niż w próbkach z krawędzi pola rzepaku (średnie stężenia wynosiły odpowiednio 3,03 i 1,92 ng/g dla imidaklopyrdy, 13,28 i 6,57 ng/g dla klotianidyny, 3,46 i 0,72 ng/g dla tiametoksamu oraz 0,04 i $\leq 0,01$ ng/g dla tiaklopyrdy). Wprawdzie te wartości są wyższe niż wyniki uzyskane przez zespoły Jones i in. (2014) i Limay-Rios i in. (2015), jednak nawet przy największych różnicach mieszczą się one w tym samym rzędzie wielkości.

Hilton i in. (2015) przedstawili wcześniej niedostępne wyniki 18 badań branżowych przeprowadzonych w latach 1995–1998. Dotyczyły one stosowania tiametoksamu na gołej glebie, trawie i różnych uprawach (ziemniakach, groszku, jęczmieniu jarym, jęczmieniu ozimym, soi, pszenicy ozimej i kukurydzy). Wartości DT50 mieściły się w zakresie 7,1 do 92,3 dni, a średnia geometryczna wynosiła 31,2 dnia (średnia arytmetyczna wynosiła 37,2 dnia). W przypadku różnych metod aplikacji i warunków środowiskowych poziom tiametoksamu spadał do <10% stężenia początkowego w ciągu roku. Zespół de Perre i in. (2015) mierzył stężenia klotianidyny w glebie między 2011 a 2013 rokiem na przykładzie zaprawianej tym środkiem kukurydzy, wysiewanej na wiosnę 2011 i 2013 roku. Ilość substancji w zaprawianych nasionach kukurydzy wynosiła 0,25 mg na nasiono lub 0,50 mg na nasiono (Rycina 4). Przy niższych stężeniach w zaprawianych nasionach pozostałości klotianidyny w glebie wynosiły od około 2 ng/g przed obsiewem do 6 ng/g niedługo po obsianiu. Przy wyższych stężeniach zaprawianych nasion średnie pozostałości wynosiły od 2 ng/g przed obsiewem do 11,2 ng/g niedługo po obsianiu. Zespół de Perre i in.



Rycina 4. Średnie stężenie klotianidyny w glebie od 2011 do 2013 roku przy różnych zawartościach klotianidyny na powierzchni nasiona kukurydzy (0,25 mg lub 0,50 mg). Zaznaczono siew kukurydzy, ponieważ stanowiło to metodę wprowadzenia klotianidyny do gleby. Na wykresie zaznaczono również dokonywanie orki. Gwiazdką oznaczono statystycznie istotną różnicę stężeń pomiędzy dwoma rodzajami nasion stwierdzoną podczas danego pobierania próbek (t test, $p \leq 0,05$, $n=13$ i $n=17$ odpowiednio przy 0,25 mg/nasiono i 0,50 mg/nasiono, od kwietnia 2011 do marca 2013; $n=15$ dla obu rodzajów powłok od maja 2013). Źródło: de Perre i in. (2015). Uwaga – w 2012 roku wysiewano niezaprawiane nasiona soi

(2015) wyliczył, że DT50 klotianidyny wynosił 164 dni przy zastosowaniu 0,50 mg na nasiono. W przypadku niższych ilości substancji, wynoszących 0,25 mg na nasiono, zespół wyliczył, że DT50 wynosi 955 dni, chociaż ten model pozwalał w znacznie mniejszym stopniu wyjaśnić uzyskane dane niż model z zastosowaniem 0,5 mg na nasiono.

Schaafsma i in. (2016) obliczyli DT50 klotianidyny na polach kukurydzy w Ontario (Kanada) w 2013 i 2014 roku, uwzględniając dane z publikacji Schaafsma i in. (2015). Próbkę gleby zebrano z 18 pól wiosną przed rozpoczęciem uprawy. Średnie stężenie neonikotynoidów (klotianidyny i tiametoksamu łącznie) wynosiło 4,0 ng/g w 2013 roku i 5,6 ng/g w 2014 roku. Na podstawie zaobserwowanych pozostałości i ilości substancji ponownie aplikowanych poprzez obsianie pola zaprawianymi nasionami kukurydzy oszacowano, że DT50 na polach badanych w 2013 roku wynosił 0,64 roku

(234 dni), a na polach badanych w 2014 roku – 0,57 roku (208 dni). W odniesieniu do pól badanych w obu latach wyliczono, że DT50 wynosił 0,41 roku (150 dni). We wnioskach zespół Schaafsma i in. podaje, że przy aktualnych ilościach stosowanych neonikotynoidów w kukurydzy uprawianej w Kanadzie stężenie pozostałości neonikotynoidów przestanie się zwiększać po osiągnięciu niecałych 6 ng/g.

Stosując tę samą metodę, zespół Schaafsma i in. wyliczył też DT50 imidaklopyrydu na podstawie danych uzyskanych przez zespół Placke (1998a; 1998b; Tabela 4) i uzyskał podobną wartość DT50: 0,57 roku (208 dni). Schaafsma i in. twierdzą, że z badań Placke można wywnioskować zahamowanie wzrostu stężenia neonikotynoidów po powtarzającym się wykorzystaniu nasion zaprawianych neonikotynoidami. Jednakże obserwowane poziomy były wysokie, więc nawet jeśli stężenie przestawało wzrastać po sześciu latach,

Pole	Obserwowane stężenie imidaklopyrydu (ng/g)	Okres połowicznego zaniku (lata)
Jęczmień_66_1	31,4	0,74
Jęczmień_133_1	49,4	0,63
Jęczmień_66_2	17,8	0,53
Jęczmień_133_2	36,3	0,54
Sad_1	23,3	0,48
Sad_2	34,5	0,59
Sad_3	23,1	0,47
Średnia ± błąd standardowy	30,8	0,57 ± 0,04

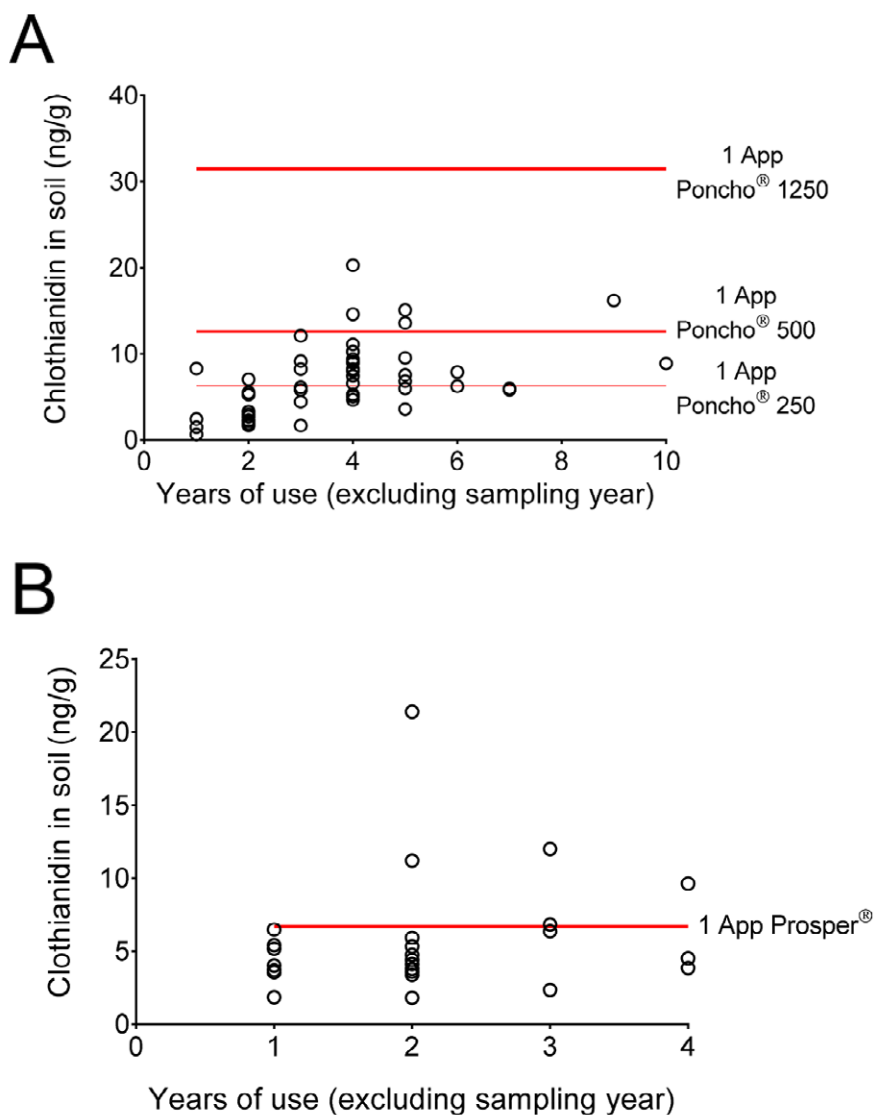
Tabela 4. Obserwowane stężenia imidaklopyrydu i szacowany okres połowicznego zaniku w glebie z sadów w Niemczech i na polach jęczmienia ozimego w Wielkiej Brytanii. Źródło danych: Placke (1998a; 1998b). Okres połowicznego zaniku wyliczono metodą iteracyjno-przyrostową do uzyskania zgodności danych przewidywanych z empirycznymi. Źródło: Schaafsma i in. (2016)

średnie stężenia neonikotynoidów w glebie wynosiłyby 30 ng/g (Tabela 4).

Xu i in. (2016) analizowali próbki gleby z 50 stanowisk uprawy kukurydzy w środkowozachodnich stanach USA w 2012 i 2013 roku oraz z 27 stanowisk uprawy rzepaku w zachodniej Kanadzie w latach 2012, 2013 i 2014. Próbkę pobierano po obsianiu pola, lecz nie wiadomo dokładnie, w jakim odstępie czasu. Średnie stężenie klotianidyny w glebie pobranej ze stanowisk uprawy kukurydzy na Środkowym Zachodzie w okresie 2–11 lat wysiewu zaprawianych klotianidyną nasion wynosiło 7,0 ng/g, przy 90 percentylu wynoszącym 13,5 ng/g. Zespół Xu i in. stwierdził, że ta średnia wartość jest podobna do teoretycznego stężenia w glebie (6,3 ng/g), oczekiwanego po pojedynczym zastosowaniu nasion kukurydzy zaprawianych klotianidyną w ilości po 0,25 mg na nasiono. Wydaje się, że poziom klotianidyny w glebie stabilizuje się po 4 latach (Rycina 5a), lecz w próbie uwzględniono znacznie mniej stanowisk, w których stosowano tę substancję dłużej niż przez cztery lata. W stanowiskach uprawy rzepaku średnie stężenie klotianidyny wynosiło 5,7 ng/g, przy 90 percentylu wynoszącym 10,2 ng/g.

To stężenie również jest podobne do teoretycznego (6,7 ng/g) osiąganego po pojedynczym zastosowaniu nasion rzepaku zaprawianych klotianidyną w ilości 4 g/kg nasion (Rycina 5b). Stanowiska rzepaku różniły się pod względem historii stosowania klotianidyny, lecz poziom aplikacji był przez cztery lata stosowania względnie stabilny. Warto zaznaczyć, że 10 g klotianidyny na 1 kg nasion rzepaku to najbardziej typowe dawkowanie, jakie stosowano w niedawnych badaniach polowych (preparat Elado do zaprawiania nasion, punkt 3.1.2.1).

Aktualnie dostępne dane wskazują, że wykrywalne poziomy neonikotynoidów występują w glebie rolniczej ponad rok po obsianiu jej zaprawionymi nasionami, co wyraźnie dowodzi dłuższego niż roczny cykl upraw utrzymywania się neonikotynoidów. Ponadto neonikotynoidy mogą być obecne w glebie po kilku latach od ostatniego zastosowania. Wprawdzie część całkowitej zastosowanej dawki neonikotynoidów utrzymuje się w glebie z roku na rok, jednak wydaje się, że zachodzi też wystarczający proces degradacji, aby zapobiec nasilającemu się gromadzeniu (bioakumulacji) i uzyskać efekt plateau po 2–6 latach powtarzanej aplikacji.



Rycina 5. (A) Porównanie stężeń klotianidyny w glebie po kolejnych latach stosowania kukurydzy zaprawianej klotianidyną. Czerwone linie oznaczają teoretyczne stężenia po pojedynczym wysianiu nasion zaprawianych klotianidyną w trzech preparatach. (B) Porównanie stężeń klotianidyny w glebie po kolejnych latach stosowania rzepaku zaprawianego klotianidyną. Czerwone linie oznaczają teoretyczne stężenia po pojedynczym wysianiu nasion zaprawianych klotianidyną. Źródło: Xu i in. (2016)

Jednakże te badania wskazują też, że, całościowo, coroczne wysiewanie zaprawianych neonikotynoidami nasion skutkuje przewlekłym skażeniem gleby neonikotynoidami w stężeniach w zakresie 3,5-13,3 ng/g w przypadku klotianidyny i 0,4-4,0 ng/g w przypadku tiametoksamu. Skażenie to stanowi stały powód narażenia na neonikotynoidy dla organizmów bytujących w glebie oraz rozprzestrzeniania się tych substancji w środowisku.

2.2.2 Utrzymywanie się neonikotynoidów w wodzie i mechanizmy rozprzestrzeniania się skażenia do akwenów

Neonikotynoidy są rozpuszczalne w wodzie. Ta właściwość jest niezbędna do ich skutecznego działania jako pestycydu systemicznego, wychwytywanego przez rośliny uprawne. Rozpuszczalność neonikotynoidów zależy od warunków w miejscu aplikacji, takich jak temperatura otoczenia, pH wody i postać preparatu neonikotynoidowego, np. granulki, zaprawy nasienne lub pył wzbijany przez siewniki (Bonmatin i in. 2015). W standardowych warunkach (20°C, pH 7) rozpuszczalność neonikotynoidów waha się od 184 (umiarkowana) do 590 000 (wysoka) mg/l w przypadku – kolejno – tiaklopyrydu i nitenpyramu (PPDB 2012). Wartości dla klotianidyny, imidaklopyrydu i tiametoksamu wynoszą odpowiednio 340 (umiarkowana), 610 (wysoka) i 4 100 (wysoka) mg/l. Natomiast rozpuszczalność fipronilu jest o 2–3 rzędy wielkości mniejsza i wynosi 3,78 mg/l w tych samych warunkach.

Z powodu dużej rozpuszczalności neonikotynoidów w wodzie pojawiły się obawy dotyczące ryzyka przedostania się ich do zbiorników wodnych i do środowiska oraz stwarzania zagrożenia dla organizmów wodnych. Zespoły Bonmatin i in. 2015 i Morrissey i in. 2015 dokonały przeglądu danych na ten temat, dostępnych do 2015 roku. Ogólnie, w warunkach symulacji środowiskowej, neonikotynoidy są łatwo wypłukiwane do wody (Gupta i in. 2008; Tisler i in. 2009). Ustalono, że neonikotynoidy przenikają do cieków wodnych kilkoma różnymi drogami. Należy do nich bezpośrednio wypłukiwanie do wód gruntowych a następnie przenikanie do wód powierzchniowych, rozkład zaprawianych roślin w ciekach wodnych, bezpośredni kontakt z pyłem wzbijanym podczas wysiewu zaprawianych nasion oraz znoszenie oprysków do zbiorników wodnych (Krupke i in. 2012; Nuyttens i in. 2013). Wydaje się, że zanieczyszczenia te w większości spływają z pól po intensywnych opadach deszczu (Hladik i in. 2014; Sánchez-Bayo i Hyne 2014; Main i in. 2016). Zjawisko to jest szczególnie nasilone przy niskiej zawartości substancji organicznych w glebie i dużym nachyleniu terenu (Goulson 2013).

Wprawdzie opady deszczu w sezonie siewnym i niedługo po nim wydają się głównym mechanizmem przenikania neonikotynoidów do zbiorników wodnych, stwierdzono jednak wykrywalne poziomy neonikotynoidów na mokradłach preriowych w Kanadzie wczesną wiosną, przed sezonem siewnym (Main i in. 2014). Zespół Main i in. (2016) analizował śnieg, wody roztopowe, cząstki pyłu zawieszzonego i wody mokradłowe z 16 mokradł sąsiadujących z polami uprawnymi rzepaku (zaprawianego neonikotynoidami) lub owsa (niezaprawianego). Okazało się, że wszystkie próbki wody roztopowej były skażone klotianidyną i tiametoksamem w stężeniach w zakresie 0,014–0,633 µg/l (1 µg/l = 1 ppb). Poziom zanieczyszczenia wody roztopowej był wyższy w sąsiedztwie pól obsianych poprzedniego roku zaprawianym rzepakiem (średnio 0,267 µg/l). Jednakże poziom zanieczyszczenia w sąsiedztwie pól obsianych poprzedniego roku niezaprawianym owsem (średnio 0,181 µg/l) był porównywalny. Zaprawiany rzepak i niezaprawiany owies często są uprawiane naprzemiennie w kolejnych latach (Main i in. 2014), tak więc niewielka różnica w stężeniach neonikotynoidów w wodzie

roztopowej między polami obsianymi zaprawianymi i niezaprawianymi nasionami sugeruje, że neonikotynoidy utrzymują się w glebie przez wiele lat (patrz punkt 2.2.2). Wyniki tego badania można odczytać tak, że substancje czynne neonikotynoidów uprzednio związane z cząstkami gleby ulegają erozji w ramach wiosennych cykli zamarzania i rozmarzania. Wykazanie znaczenia tej drogi rozprzestrzeniania się w połączeniu z opadami deszczu z kolei świadczy o tym, że przenikanie neonikotynoidów do zbiorników wodnych jest procesem przewlekłym zjawiskiem i utrzymuje się również poza głównym okresem siewu.

Wpływ neonikotynoidów na siedliska wodne zależy od czasu ich utrzymywania się w tych siedliskach. Badania terenowe i laboratoryjne dotyczące rozkładu imidaklopyrydu, tiametoksamu i klotianidyny w wodzie wskazują, że okres połowicznego zaniku wynosi od kilku minut do kilku tygodni w zależności od warunków. Niektóre z warunków stworzonych w laboratorium nie odpowiadały jednak realnym warunkom polowym (patrz Anderson i in. 2015; Lu i in. 2015). Nie opracowano przeglądu danych dotyczących degradacji neonikotynoidów w wodzie. Dostępna literatura obejmuje recenzowane publikacje i raporty z badań rządowych, których dostępność jest generalnie ograniczona, między którymi istnieją różnice metodologiczne. Dostępnych jest jednak szereg badań, w których podjęto próbę oceny degradacji neonikotynoidów w warunkach realistycznych. Peña i in. (2011) oceniali degradację tiametoksamu w ściekach w Hiszpanii. Wykryli maksimum absorpcji przy długości fali 250–255 nm, co sugeruje dużą wrażliwość na bezpośrednią fotolizę pod wpływem naturalnego światła. W wodzie kontrolnej czas połowicznego zaniku tiametoksamu wynosił 18,7 godziny (Peña i in. 2011). Pod wpływem naturalnego światła proces połowicznego zaniku imidaklopyrydu w polach ryżowych w Japonii trwał 24,2 godziny (Thuyet i in. 2011). Zgodnie z doniesieniami zespołu von Gunten i in. (2012) w Szwajcarii, pod wpływem naturalnego światła, proces połowicznego zaniku zajęł 2 godziny imidaklopyrydu i 254 godziny dla acetamiprydu. W badaniach laboratoryjnych Lu i in. (2015) mierzyli okres połowicznego zaniku pięciu neonikotynoidów w różnych warunkach, odzwierciedlających zmiany pór roku w Kanadzie (Tabela 5). Wykryli 7–8-krotną zmienność w szybkości fotolizy neonikotynoidów związaną ze zmianami natężenia światła

Związek	Wiosna	Lato	Jesień	Zima
Tiametoksam	0,32	0,20	0,63	1,49
Klotianidyna	0,53	0,35	1,23	3,31
Imidaklopyryd	0,36	0,24	0,83	2,22
Acetamipryd	16,5	9,67	29,7	67,9
Tiaklopyryd	14,3	8,75	26,6	60,3

Tabela 5. Szacowany czas fotolizy i okres połowicznego zaniku (t1/2E) (dni) pestycydów z grupy neonikotynoidów w wodach powierzchniowych w szerokości 50°N wiosną, latem, jesienią i zimą w słońcu, w bezchmurne dni. Źródło: Lu i in. (2015)

w poszczególnych porach roku. Wyniki są ogólnie zbieżne z wcześniejszymi doniesieniami dotyczącymi okresu połowicznego zaniku nitro-podstawianych neonikotynoidów i mieszczą się w zakresie <1–3 dni, zależnie od natężenia światła.

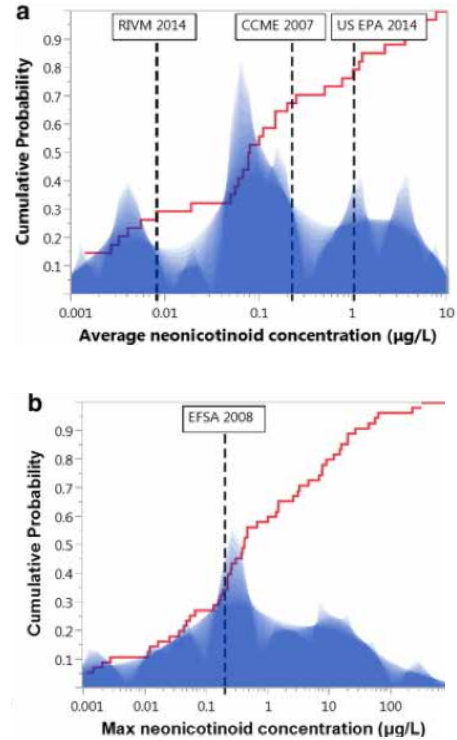
Oprócz tych recenzowanych badań zespół Lu i in. przeprowadził porównanie z wynikami badań przedrejestracyjnych Komisji Europejskiej nad neonikotynoidami (EC 2004a; EC 2004b; EC 2005; EC 2006). Komisja Europejska ustaliła, że okres połowicznego zaniku w wodzie wynosi 3,3 godziny w przypadku klotianidyny, 2,3–3,1 dni w przypadku tiametoksamu, 34 dni w przypadku acetamiprydu i 80 dni w przypadku tiaklopyrydu. Metodologia tych badań jest niejasna i niespójna (patrz dyskusja w badaniu Lu i in. 2015). Mimo to ogólny trend jest zgodny z wynikami uzyskanymi dla cyjano-podstawionych neonikotynoidów (acetamipryd i tiaklopyryd), których degradacja trwa o 1–2 rzędów wielkości dłużej niż w przypadku neonikotynoidów nitro-podstawionych (tiametoksam, klotianidyna i imidaklopyryd). Krótkie okresy połowicznego zaniku tych trzech, najczęściej stosowanych neonikotynoidów sugerują, że w warunkach terenowych wolne neonikotynoidy w wodach powierzchniowych powinny ulegać rozkładowi pod wpływem naturalnego światła w ciągu godzin lub dni. Na ten czas mogą jednak mieć wpływ miejscowe warunki środowiskowe, np. może go wydłużać zmętnienie wody. Ponadto, podczas doświadczeń w mezosystemie stwierdzono, że fotoliza tiametoksamu na głębokości większej niż 8 cm jest pomijalna (Lu i in. 2015). Tak znacząca atenuacja światła w kolumnie wody sugeruje, że nawet w płytkich akwenach neonikotynoidy mogą być chronione przed fotolizą. W zbiornikach wodnych, które w ogóle nie są

wystawione na światło, jak wody gruntowe, fotoliza nie zachodzi. W takich warunkach klotianidyna może długo się utrzymywać i może dochodzić do jej akumulacji w czasie (Anderson i in. 2015), jednak brakuje danych empirycznych potwierdzających to zjawisko.

2.2.3 Poziom zanieczyszczenia zbiorników wodnych neonikotynoidami

Najobszerniejszą pracę przeglądową dotyczącą skażenia wód neonikotynoidami wykonał zespół Morrissey i in. (2015), chociaż warta uwagi jest też praca Anderson i in. (2015). Morrissey przeanalizowała doniesienia dotyczące średnich i najwyższych wartości skażenia neonikotynoidami pochodzące z 29 badań z 9 krajów, przeprowadzonych pomiędzy 1998, a 2013 rokiem. Badano następujące zbiorniki wodne: strumienie, rzeki, wody drenażowe, rowy, wody gruntowe, mokradła, stawy, jeziora, wody powierzchniowe w postaci kałuż i wody spływające z pól. Badane układy sąsiadowały z gruntami rolnymi lub spływały na nie wody z tych obszarów. Średnia geometryczna stężenia neonikotynoidów wyliczona na podstawie tego zestawu danych (Rycina 6) wynosiła 0,13 µg/l (=0,13 ppb, n=19 badań) w przeciętnych wodach powierzchniowych i 0,63 µg/l (=0,63 ppb, n=27 badań) w wodach o najwyższych wartościach stężenia. Większość programów monitoringowych opiera się na próbkach pobieranych jednorazowo, co prawdopodobnie skutkuje niedoszacowaniem prawdziwego stężenia maksymalnego występującego bezpośrednio po okresie najbardziej nasilonego napływu neonikotynoidów (Xing i in. 2013). Jako że wartości najwyższego stężenia często występują po gwałtownych zdarzeniach, takich jak ulewy, możliwość określenia rzeczywistych wartości średnich i maksymalnych stężenia w zbiornikach wodnych jest ograniczona.

Od opublikowania artykułu Morrissey i in. (2015) pojawiło się wiele badań, wskazujących na w przybliżeniu podobne poziomy skażenia neonikotynoidami w różnych środowiskach wodnych. Zespół Schaafsma i in. (2015) wykonywał w regionach rolniczych pomiary na małą skalę (w kałużach i rowach) na 18 polach kukurydzy w Ontario (Kanada). Uzyskano średnie arytmetyczne stężenia pozostałości wynoszące 0,002 µg/l dla klotianidyny (wartość maksymalna = 0,043 µg/l) i 0,001 µg/l dla tiametoksamu (wartość maksymalna = 0,017 µg/l). W Iowa, USA, Smalling i in. (2015) oceniali sześć mokradel otoczonych przez obszary rolnicze i ustalili, że



Rycina 6. Histogram cieniowany a) średniego i b) maksymalnego stężenia poszczególnych neonikotynoidów (skala logarytmiczna, µg/l), uzyskany na podstawie wyników monitorowania wód. Na histogram nałożono wykres kumulatywnego rozkładu prawdopodobieństwa (czerwona, unosząca się linia) dla wszystkich dostępnych danych z monitorowania wód powierzchniowych, ukazujący proporcję danych poniżej określonego stężenia neonikotynoidów. Pionowe linie przerywane oznaczają różne wartości referencyjne jakości środowiska określone dla średnich stężeń imidaklopyrydu w wodzie (RIVM 2014: 0,0083 µg/l, CCME 2007: 0,23 µg/l i US EPA 2014: 1,05 µg/l) lub maksymalnych stężeń imidaklopyrydu w wodzie (EFSA, 2008: 0,2 µg/l). Źródło: Morrissey i in. 2015

średnia arytmetyczna stężenia neonikotynoidów wynosiła tam 0,007 µg/l (maksymalnie 0,070 µg/l). Benton i in. (2016) mierzyli stężenia w strumieniach górskich w południowych Appalachach (USA). Są one oddalone od obszarów rolniczych, lecz tamtejsze lasy choiny kanadyjskiej są opryskiwane imidaklopydem w celu zwalczania szkodników. Średnia stężeń imidaklopyrydu w 7 na 10 badanych strumieni wyniosła 0,067 µg/l (wartość maksymalna = 0,379 µg/l). Zespół de Perre i in. (2015) mierzył stężenia klotianidyny w wodach gruntowych pod powierzchnią pól uprawnych zaprawianej kukurydzy. Dane na temat średnich stężeń są niedostępne, natomiast stężenie maksymalne, uzyskane niedługo po obsianiu pola, wynosiło 0,060 µg/l.

Badania na większą skalę prowadzili Qi i in. (2015) i Sadaria i in. (2016), którzy mierzyli stężenia w wodzie z oczyszczalni ścieków. Qi i in. (2015) donoszą,

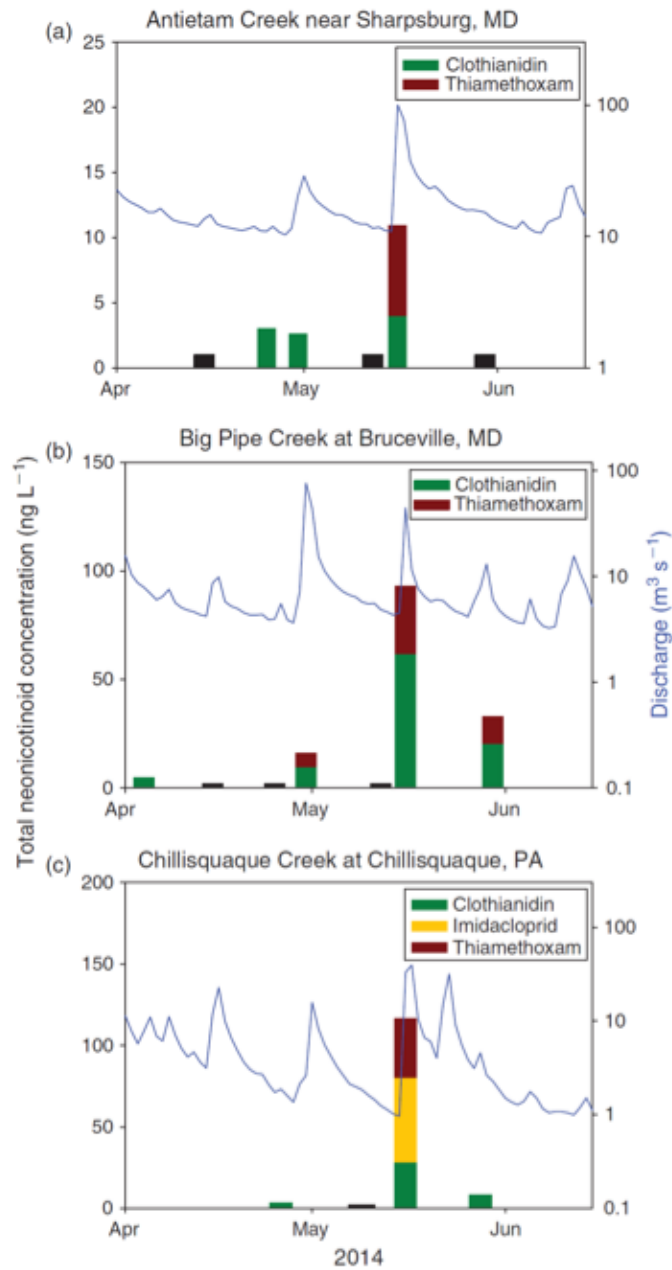
że stężenia imidaklopyrydu zawierały się pomiędzy 0,045-0,100 µg/l w dopływie i 0,045-0,106 µg/l w odpływie w pięciu oczyszczalniach ścieków w Pekinie, w Chinach. Średnie arytmetyczne stężeń są jednak niedostępne. Sadaria i in. (2016) oceniali ścieki dopływające i odpływające w 13 konwencjonalnych oczyszczalniach ścieków w całych USA. Średnia arytmetyczna stężeń w dopływie wynosiła 0,061 µg/l dla imidaklopyrydu, 0,003 µg/l dla acetamiprydu i 0,149 µg/l dla klotianidyny. W odpływie imidaklopyryd występował w stężeniu 0,059 µg/l, acetamipryd – 0,002 µg/l a klotianidyna – 0,070 µg/l.

Opublikowano też wyniki dwóch ogólnokrajowych badań neonikotynoidów. Hladik i Kolpin (2016) mierzyli stężenia neonikotynoidów w 38 strumieniach w 24 stanach USA i w Portoryko. Badano pięć neonikotynoidów (acetamipryd, klotianidynę, dinotefuran, imidaklopyryd, tiametoksam) i w 53% próbek ze strumieni wykryto przynajmniej jedną spośród badanych substancji. Średnia arytmetyczna stężenia zanieczyszczenia wynosiła 0,030 µg/l, a mediana wyniosła 0,031 µg/l. Badania nie objęły tiaklopyrydu. Székács i in. (2015) przeprowadzili ogólnokrajowe badanie cieków wodnych na Węgrzech. Wykryli klotianidynę w stężeniach 0,017-0,040 µg/l i tiametoksam w stężeniach 0,004-0,030 µg/l.

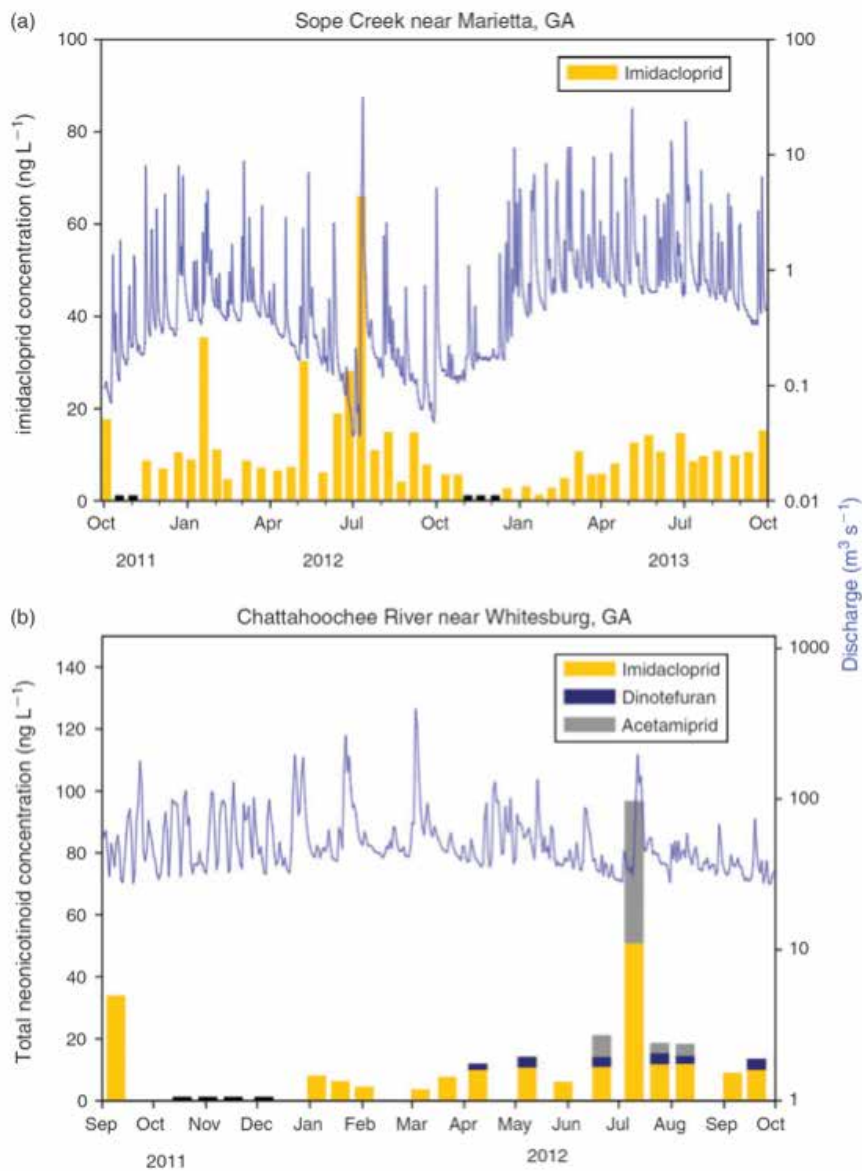
Podczas wszystkich tych badań najwyższe poziomy zanieczyszczenia neonikotynoidami wykrywano na terenach rolniczych. Podczas najbardziej obszernego, ogólnokrajowego badania strumieni w USA, przeprowadzonego w latach 2012–2014, poziomy zanieczyszczenia klotianidyną i tiametoksamem (neonikotynoidami obecnie dominującymi w rolnictwie) były istotnie dodatnio skorelowane z udziałem terenów uprawnych w otaczającym krajobrazie (Hladik i Kolpin 2016). Najwyższy poziom zanieczyszczenia neonikotynoidami na terenach rolniczych występował w wodach powierzchniowych, w bezpośrednim sąsiedztwie upraw. W Quebecu (Kanada) wykazano, że kałuże sąsiadujące z polami kukurydzy obsianymi zaprawianymi nasionami zawierały klotianidynę w stężeniu maksymalnym równym 55,7 µg/l, a tiametoksam w stężeniu maksymalnym 63,4 µg/l (Samson-Robert i in. 2014). Stężenia imidaklopyrydu w wodach powierzchniowych w Holandii wynosiły do 320 µg/l (van Dijk i in. 2013), natomiast stężenia tiametoksamu i acetamiprydu na

obszarach intensywnego rolnictwa w Teksasie wynosiły 225 µg/l (Anderson i in. 2013). Na Węgrzech najwyższe stężenia neonikotynoidów, wynoszące 10-41 µg/l, stwierdzono w tymczasowych, płytkich zbiornikach wodnych, powstających po ulewach wczesnym latem (Székács i in. 2015). Ogólnie, ciek wodny spływający z pól uprawnych zawierają wysokie stężenia neonikotynoidów po opadach deszczu w Kanadzie, USA i Australii (Hladik i in. 2014, Sánchez-Bayo i Hyne 2014). Jeśli powtarzano pobieranie próbek na tym samym stanowisku, stwierdzano najwyższe stężenia neonikotynoidów wczesnym latem, co ma związek z deszczami w okresie obsiewania (Main i in. 2014; Hladik i in. 2014). Hladik i Kolpin (2016) mierzyli stężenia neonikotynoidów w trzech strumieniach na terenach rolniczych w Maryland i Pensylwanii. Stwierdzili, że najwyższe poziomy występują po deszczach padających na początku uprawy w maju, lecz nie przeprowadzono formalnej analizy statystycznej z powodu małej wielkości próby (Rycina 7).

Zanieczyszczenie zbiorników wodnych neonikotynoidami jest spowodowane nie tylko spływem z pól uprawnych. Przyczyniają się do niego również tereny miejskie. Wprawdzie użycie imidaklopyrydu jako pestycydu zmalało w rolnictwie, jednak nadal jest on obecny w różnych produktach stosowanych w domach i w preparatach weterynaryjnych podawanych zwierzętom towarzyszącym (Goulson i in. 2013). Hladik i Kolpin (2016) prowadzili stały monitoring poziomu neonikotynoidów w strumieniu Slope Creek, którego zlewnię stanowią w dużej mierze tereny zurbanizowane (39%), oraz w rzece Chattahoochee, której zlewnia obejmuje Slope Creek, lecz która jest znacznie mniej zurbanizowana (9%). Imidaklopyryd był najczęściej wykrywanym neonikotynoidem. Stwierdzono go w 87% próbek, których łącznie pobrano 67 (Rycina 8). Dinotefuran i acetamipryd wykrywano rzadziej. W odróżnieniu od cieków wodnych zbierających wodę z gruntów rolnych, nie stwierdzono znaczącej zależności zanieczyszczenia od natężenia przepływu w Sope Creek lub w rzece Chattahoochee. Hladik i Kolpin sugerują, że może być to spowodowane różnicami między obszarami rolnymi, gdzie występuje wyodrębniony okres wysiewu, i zurbanizowanymi, gdzie nie ma okresowych różnic w stosowaniu imidaklopyrydu w domach. Nie wykryto klotianidyny ani tiametoksamu, prawdopodobnie dlatego, że zlewnie obu tych cieków wodnych nie obejmują terenów uprawnych.



Rycina 7. Stężenia klotianidyny, imidakloprydu i tiametoksamu oraz odpowiadające im natężenie przepływu strumienia w trzech stacjach w okolicy Chesapeake Bay. Próbkę pobierano w 2014 roku. Czarne słupki odpowiadają próbkom, w których nie wykryto neonikotynoidów. Źródło: Hladik i Kolpin (2016)



Rycina 8. (a) Stężenia imidakloprydu i odpowiadające im natężenie przepływu od października 2011 roku do października 2013 roku w Sope Creek (zlewnia w większości zurbanizowana) (b) Stężenia imidakloprydu, dinotefuranu i acetamiprydu oraz odpowiadające im natężenie przepływu od września 2011 roku do września 2012 roku w rzece Chattahoochee. Czarne słupki odpowiadają próbkom, w których nie wykryto neonikotynoidów. Źródło: Hladik i Kolpin (2016).



2.2.4 Ryzyko narażenia spowodowane pobieraniem neonikotynoidów przez rośliny nieuprawne

Jako że neonikotynoidy są rozpuszczalne w wodzie oraz mogą utrzymywać się w zbiornikach wodnych i w glebie, istnieje ryzyko, że mogą je pobierać dzikie rośliny rosnące w otoczeniu upraw. W kwietniu 2013 roku dostępne wyniki badań empirycznych na temat skażenia dzikich roślin neonikotynoidami były nieliczne. Raporty EFSA wskazywały, że wchłanianie neonikotynoidów przez dzikie chwasty i skutkujące tym narażenie ich na działanie neonikotynoidów jest pomijalne, ponieważ chwasty nie powinny występować na polu w czasie obsiewania go rośliną uprawną. Jako że substancje czynne pestycydów występują głównie wokół zaprawianych nasion, pobieranie tych substancji przez korzenie chwastów uznano za mało prawdopodobne. Nie skomentowano ryzyka wchłaniania neonikotynoidów przez inne dzikie rośliny w środowisku rolniczym. W jedynym badaniu tego zagadnienia dostępnym w 2013 roku Krupke i in. (2012) ustalili, że mniszki *Taraxacum agg.* rosnące przy polach obsianych zaprawianą neonikotynoidami kukurydzą zawierają od 1,1 do 9,4 ng/g klotianidyny i od <1,0 (LOD) do 2,9 ng/g tiametoksamu. Nie podano, czy pestycyd znajdował się w pyłku czy nektarze. Nie jest jasne, czy zanieczyszczenie neonikotynoidami wynikało z osiadanania pyłu na zewnętrznych powierzchniach roślin, czy też neonikotynoidy były bezpośrednio wychwytywane przez ich korzenie. W tym drugim przypadku można się spodziewać, że pestycydy występowałyby we wszystkich tkankach roślin, pyłku i nektarze. Od kwietnia 2013 roku pojawiło się wiele publikacji potwierdzających częsty wychwyt neonikotynoidów przez dzikie rośliny otaczająca pola uprawne (Tabela 6).

Botías i in. (2015) pobierali pyłek i nektar dzikich kwiatów rosnących na miedzach pól uprawnych obsianych zaprawianym neonikotynoidami rzepakiem i pszenicą. Zebrano próbki pyłku od 54 gatunków dzikich kwiatów. Wykryto tiametoksam, imidaklopryd i tiaklopryd. Tiametoksam był najczęściej wykrywanym neonikotynoidem. Jego stężenia wykazywały znaczącą zmienność, przy czym najwyższe poziomy wykrywano w *Heracleum sphondylium* (86 ng/g) i *Papaver rhoeas* (64 ng/g). Między różnymi stanowiskami stwierdzano istotną zmienność poziomu zanieczyszczeń w obrębie

tego samego gatunku dzikich kwiatów porastających miedze. Średnie poziomy całkowitego zanieczyszczenia neonikotynoidami w pyłku dzikich kwiatów były znacząco wyższe w przypadku miedz sąsiadujących z zaprawianym rzepakiem (~15 ng/g) niż zaprawianą pszenicą (~0,3 ng/g). W nektarze dzikich roślin poziomy neonikotynoidów były znacząco niższe. Sam tiametoksam wykrywano w dzikich kwiatach na średnim poziomie 0,1 ng/g obok pól rzepaku i <0,1 ng/g obok pól pszenicy.

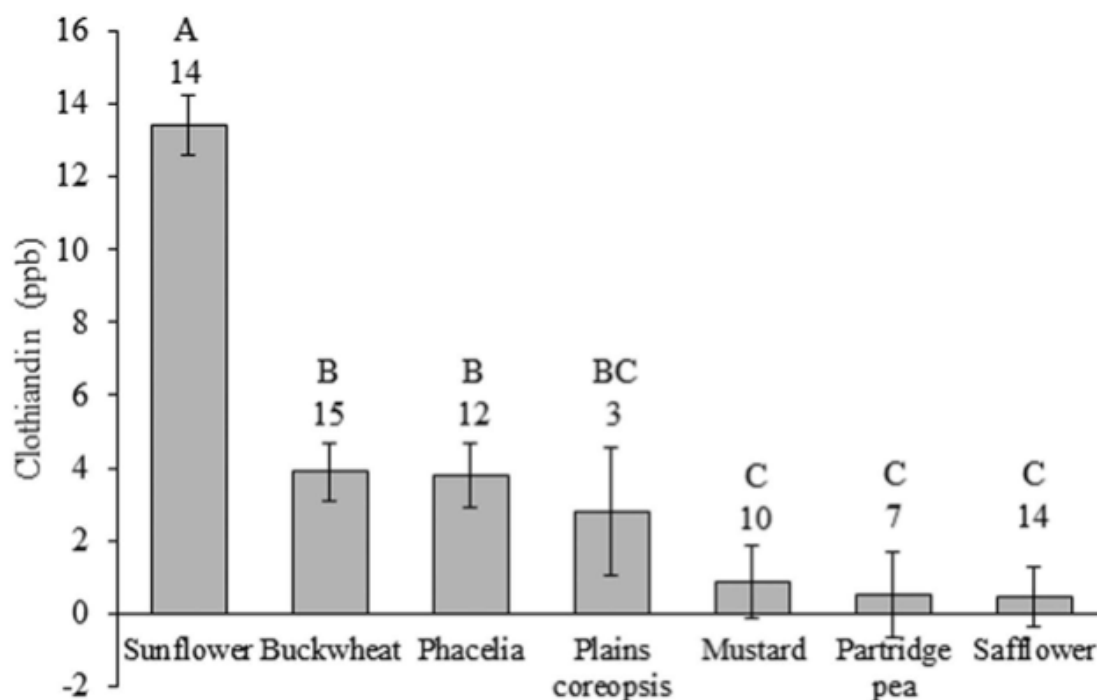
Botías i in. (2015) jest jedynym dostępnym badaniem, w którym skupiono się na pomiarze stężenia neonikotynoidów w pyłku i nektarze bezpośrednio pozyskanym z dzikich roślin sąsiadujących z uprawami zaprawianymi neonikotynoidami. Mogren i Lundgren (2016) oceniali stężenia neonikotynoidów w nektarze pięciu gatunków dzikich kwiatów, wysiewanych w ramach programu ochrony zapylaczy obok zaprawianej kukurydzy. Pomiar prowadzono, zbierając pszczoły miodne, które odwiedzały te kwiaty i pozyskiwały z nich nektar, oraz pobierając ten nektar do analizy pozostałości neonikotynoidów. Pszczoły miodne ogólnie odwiedzają te same gatunki kwiatów z dużą powtarzalnością podczas pojedynczego lotu, dlatego autorzy wyszli z założenia, że nektar był reprezentatywny dla badanych gatunków. Średnie stężenie klotianidyny w uzyskanym nektarze zawierało się pomiędzy 0,2 a 1,5 ng/g, a pomiędzy poszczególnymi gatunkami dzikich roślin stwierdzono znaczące różnice. Mogren i Lundgren (2016) oznaczyli stężenia pozostałości neonikotynoidów w liściach siedmiu gatunków dzikich kwiatów. Stwierdzono dużą zmienność wychwyty klotianidyny pomiędzy gatunkami i w ich obrębie (Rycina 9). Słonecznik *Helianthus annuus* gromadził najwyższe stężenia, wynoszące 0–81 ng/g, natomiast gryka *Fagopyrum esculentum* i facelia *Phacelia tanacetifolia* gromadziły niższe stężenia, odpowiednio 0–52 ng/g i 0–33 ng/g. Podobnie wysoki poziom zmienności wykryli Botías i in. (2016), którzy pobrali próbki liści 45 gatunków dzikich roślin porastających miedze obok pól zaprawianego rzepaku. Średni poziom całkowitego zanieczyszczenia neonikotynoidami wynosił 10 ng/g, a najwyższe wyniki uzyskano w oznaczeniach tiametoksamu w ostrożniu polnym *Cirsium arvense* tj. 106 ng/g.

Tabela 6. Podsumowanie prac opublikowanych od 2013 roku, dotyczących średnich stężeń pozostałości neonikotynoidów w tkankach, pyłku i nektarze dzikich roślin żyjących blisko upraw poddanych zabiegowi z użyciem neonikotynoidów. Wyniki zespołu Krupke i in. (2012) dołączono jako punkt odniesienia

Wielkość próby	Sąsiadująca uprawa	Pobieranie próbek	Rodzaj próbki	Średnie stężenie neonikotynoidów (ng/g)				Źródło
				Tiametoksam	Klotianidyna	Imidaklopyrd	Tiaklopyrd	
43	rzepak	maj–czerwiec 2013	pyłek	14,81		0,56	<0,04	Botías i in. (2015)
55	pszenica	maj–czerwiec 2013	pyłek	0,14		<0,16	<0,04	Botías i in. (2015)
24	rzepak	maj–czerwiec 2013	nektar	0,10				Botías i in. (2015)
8	pszenica	maj–czerwiec 2013	nektar	<0,10				Botías i in. (2015)
33	kukurydza	lato 2014 i 2015	nektar *		0,2-1,5			Mogren i Lundgren (2016)
40	kukurydza	czerwiec 2014	liście		0,4			Pecenka i Lundgren (2015)
50	kukurydza	czerwiec 2014 (1 miesiąc po obsianiu)	liście		0,69			Pecenka i Lundgren (2015)
100	rzepak	maj–czerwiec 2013	liście	8,71	0,51	1,19		Botías i in. (2016)
375	kukurydza	lato 2014 i 2015	liście		0,5-13,5**			Mogren i Lundgren (2016)
6	kukurydza	lato 2011	cały kwiat	1,15	3,75			Krupke i in. (2012)
78	różne	lato 2012	cały kwiat	7,2	1,4	1,1		Stewart i in. (2014)
7	rzepak	kwiecień–maj 2013 (2 dni po obsianiu)	całe kwiaty i liście		1,2			Rundlöf i in. (2015)
8	rzepak	kwiecień–czerwiec 2013 (2 tygodnie po obsianiu)	całe kwiaty i liście		1,0			Rundlöf i in. (2015)

* Mogren i Lundgren (2016) pozyskiwali próbki pszczół miodnych korzystających z dzikich roślinach i pobierali nektar bezpośrednio z tych pszczół. Szczegółowe omówienie w tekście

** Zakres stężeń; średnie wartości stężeń niedostępne



Rycina 9. Stężenie klotianidyny w tkankach liści (średnia ± błąd standardowy). Litery nad słupkami wskazują znaczące różnice między gatunkami roślin, a liczby oznaczają liczbę stanowisk/lat, w których prowadzono analizę określonego gatunku. Źródło: Mogren i Lundgren (2016)

Podsumowując wszystkie publikacje na temat dzikich roślin od 2013 roku, wykryto średni poziom neonikotynoidów wynoszący 1,0–7,2 ng/g w próbkach całych kwiatów, 0,4–13,5 ng/g w próbkach liści, <0,1–1,5 ng/g w próbkach nektaru i <0,04 do 14,8 ng/g w próbkach pyłku. Z racji ograniczonej liczby dostępnych badań trudno dokonać porównania ze stężeniami w roślinach poddanych zabiegom. Jednakże wyniki te wskazują, że stężenia w obu grupach roślin są porównywalne (patrz punkt 2.1.1).

W 2013 roku wiadomo było, że pszczoły miodne zbierają skażony neonikotynoidami pyłek z roślin uprawnych, lecz nie można było określić, w jakim stopniu ten pyłek był rozcieńczony pyłkiem nieskażonym. Krupke i in. (2012) oznaczali poziom klotianidyny i tiametoksamu w pyłku zbieranym przez pszczoły miodne. Uzyskali wartości w zakresie od 0 do 88 ng/g, w tym odsetek pyłku kukurydzy (główniej uprawy chronionej neonikotynoidami w okolicy) był wyraźnie zmienny i wahał się od 2,6% do 82,7%. Nie stwierdzono korelacji między odsetkiem zebranego pyłku kukurydzy

a całkowitym stężeniem neonikotynoidów. Wobec braku jednoznacznych danych na temat skażenia dzikich roślin, nie dało się określić długoterminowego, przewlekłego narażenia na neonikotynoidy z pyłku i nektaru w ciągu całego sezonu. Szereg badań poświęcono próbie ilościowej oceny poziomu neonikotynoidów w pyłku zbieranym przez pszczoły i identyfikacji mikroskopowej gatunków ziaren pyłku, aby ustalić główne źródło skażenia neonikotynoidami w całym sezonie. Większość z tych badań przyjęła jako model pyłek zbierany przez pszczoły miodne, jako że poławiaczki pyłku łatwo jest mocować na wylotkach uli, które z kolei można transportować do określonych stanowisk.

Badania podsumowano w Tabeli 7. Większość tych badań prowadzono na pszczołach miodnych, umieszczając pasieki blisko upraw, wobec których stosowano neonikotynoidy, i upraw kontrolnych. Jak podsumowano w punkcie 2.1.1, stwierdzano wyższe stężenia neonikotynoidów w pyłku zebranym blisko upraw poddanych zabiegowi z użyciem tych pestycydów (Cutler i in. 2014; Rundlöf i in. 2015; Long i Krupke 2016; Rolke

i in. 2016). Najwyższe poziomy skażenia stwierdzano, gdy duży odsetek zebranego pyłku pochodził z upraw. Pohorecka i in. (2013) wykrywali średnie stężenia klotianidyny w próbkach pyłku wynoszące 27,0 ng/g (73,7% pyłku dzikich kwiatów), po umieszczeniu pasieki blisko pól zaprawianej kukurydzy. Rundlöf i in. (2015) wykrywali średnie stężenia klotianidyny w próbkach pyłku wynoszące 13,9 ng/g (37,9% pyłku dzikich kwiatów), po umieszczeniu pasieki blisko pól zaprawianego rzepaku. Natomiast po umieszczeniu pasieki blisko pól niezaprawianego rzepaku pszczoły zbierały w 47,4% pyłek dzikich kwiatów niezawierający wykrywalnych stężeń neonikotynoidów (<0,5 ng/g).

Pozyskiwanie większego odsetka pyłku dzikich kwiatów wiąże się z niższym stężeniem neonikotynoidów. Botías i in. (2015) oznaczali stężenia neonikotynoidów w pyłku podczas szczytowego okresu kwitnienia rzepaku i dwa miesiące po tym okresie. Podczas szczytowego kwitnienia pszczoły miodne pozyskiwały pyłek w 91,1% z dzikich kwiatów i w 8,9% z rzepaku, a łączne stężenie neonikotynoidów wyniosło 3,09 ng/g. W późniejszym okresie pszczoły miodne pozyskiwały pyłek w 100% z dzikich kwiatów, a łączne stężenie neonikotynoidów wyniosło 0,20 ng/g. Cutler i in. (2014) również pobierali próbki pyłku z rodzin pszczelego z pasiek sąsiadujących z zaprawianym lub kontrolnym rzepakiem przez dwa tygodnie szczytowego kwitnienia w lipcu. Pszczoły miodne zebrały mały odsetek pyłku roślin uprawnych. Ponadto wykryto wyższe poziomy skażenia neonikotynoidami w okolicy pól z zaprawianymi uprawami (9,0% pyłku dzikich kwiatów w tygodniu 1 i 45,2% w tygodniu 2, 0,84 ng/g) niż pól z niezaprawianymi uprawami (15,1% pyłku dzikich kwiatów w tygodniu 1 i 62,5% w tygodniu 2, 0,24 ng/g). Long i Krupke (2016) zbierali dane przez dłuższy czas, od maja do września, czyli przez cały okres kwitnienia kukurydzy, której dotyczyło to badanie. Na wszystkich stanowiskach duży odsetek pyłku pochodził od dzikich kwiatów. Średnie stężenie neonikotynoidów było najniższe na stanowiskach nierolniczych (93,9% pyłku dzikich kwiatów, 0,047 ng/g), wyższe na stanowiskach rolniczych, gdzie nie prowadzono zabiegów (95,8% pyłku dzikich kwiatów, 0,078 ng/g) i najwyższe na stanowiskach rolniczych, gdzie prowadzono zabiegi (95,3% pyłku dzikich kwiatów, 0,176 ng/g). Alburaki i in. (2015 i 2016) stwierdzali niskie poziomy neonikotynoidów w pyłku, jeśli pszczoły miodne zbierały głównie pyłek dzikich kwiatów, lub brak neonikotynoidów przy 99%

udziale pyłku dzikich kwiatów oraz średnie stężenia neonikotynoidów wynoszące 0,04 ng/g przy 93,5% pyłku dzikich kwiatów.

Dostępne są tylko dwa badania stężenia neonikotynoidów w pyłku zbieranym przez trzmiele, w trakcie których dokonywano jednoczesnej oceny udziału pyłku pochodzącego od dzikich kwiatów. Cutler i Scott-Dupree (2014) umieścili gniazda *Bombus impatiens* obok zaprawianych i niezaprawianych upraw kukurydzy. Trzmiele zebrały bardzo małą część pyłku z kukurydzy, mniej niż 1%, w odróżnieniu od pszczoły miodnej, która może zebrać duże ilości pyłku kukurydzy w okresie jej kwitnienia (Krupke i in. 2012; Pohorecka i in. 2013, por. Alburaki i in. 2015; 2016; Long i Krupke 2016). Poziomy pozostałości neonikotynoidów były niskie: <0,1 ng/g przy niezaprawianych uprawach i 0,4 ng/g przy zaprawianych uprawach. Natomiast David i in. (2016) umieścili pięć gniazd *B. terrestris* obok pól zaprawianego rzepaku, który jest rośliną przywabiającą trzmiele. Próbki pyłku pobrano z gniazda pod koniec czerwca. Trzmiele zebrały średnio 68,1% pyłku dzikich kwiatów i 31,9% pyłku rzepaku.

Tiametoksam wykrywano w tym pyłku w średnim stężeniu 18 ng/g, podczas gdy tiaklopryd w średnim stężeniu 2,9 ng/g. Te poziomy są znacznie wyższe niż poziomy wykryte w pyłku zebranym przez pszczoły miodne na tym samym obszarze badania i w tym samym roku, tj. łączne stężenie neonikotynoidów równe 3,09 ng/g, pomimo że stwierdzono znacznie większy odsetek (91,9%) pyłku zebranego z dzikich kwiatów (Botías i in. 2015). Trudno jest dokonać porównania, ponieważ nie przeprowadzono wielu badań oceniających stężenie neonikotynoidów w pyłku zebranym przez trzmiele przy uwzględnieniu pochodzenia pyłku. Rolke i in. (2016) umieścili rodziny *B. terrestris* obok pól zaprawianego rzepaku. Uzyskano znacznie niższe stężenia klotianidyny w pyłku pozyskanym bezpośrednio od powracających trzmieli, wynoszące 0,88 ng/g, lecz pochodzenie tego pyłku jest nieznanne. Stężenia wykryte przez David i in. są jednak niższe niż w doniesieniach zespołu Pohorecka i in. (2013) oraz różnią się jedno – lub dwukrotnie od doniesień Rundlöf i in. (2015). Zespoły te wykryły stężenia neonikotynoidów wynoszące – kolejno – 27,0 ng/g i 13,9 ng/g w pyłku zebranym przez pszczoły miodne. Próbki te zawierały duży odsetek pyłku upraw.

Tabela 7. Podsumowanie prac opublikowanych od 2013 roku dotyczących średnich stężeń pozostałości neonikotynoidów w pyłku zebrany przez wolno żyjące pszczołowate. Wyniki zespołu Krupke i in. (2012) i badań opisanych w punkcie 2.1.1 dołączono jako punkt odniesienia. SW = wysiewane na wiosnę, SZ = wysiewane na zimę, SN = data wysiewu nieznaną.

Gatunek	Rodzaj próbek	Pobieranie próbek	Położenie gniazda	Odsetek pyłku zebranego z dzikich kwiatów	Średnie łączne stężenie neonikotynoidów (ng/g)	Źródło
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	lato 2011	w sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	55,5	9,71	Krupke i in, (2012)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	lipiec do sierpnia 2011 i lipiec 2012	w sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	73,7	27,0	Pohorecka i in, (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	kwiecień do maja i czerwiec do września 2012	w sąsiedztwie upraw poddanych zabiegowi (różne uprawy, średnia odległość: 180 m)	brak danych	<1,0 (granica wykrywalności)	Stewart i in, (2014)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	pierwsze dwa tygodnie lipca 2012	na polu rzepaku SW niepoddanego zabiegowi	15,1 (1, tydzień) do 62,5 (2, tydzień)	0,24	Cutler i in, (2014)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	pierwsze dwa tygodnie lipca 2012	na polu rzepaku SW poddanego zabiegowi	9,0 (1, tydzień) do 45,2 (2, tydzień)	0,84	Cutler i in, (2014)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	sierpień do wczesnego września 2012	w sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi i kontrolnej	c,99	Nie wykryto	Alburaki i in, (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	w sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	91,1	3,09	Botías i in, (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	sierpień 2013	w sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	100,0	0,20	Botías i in, (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	w sąsiedztwie pól rzepaku SW niepoddanego zabiegowi	47,4	<0,5 (granica wykrywalności)	Rundlöf i in, (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	w sąsiedztwie pól rzepaku SW poddanego zabiegowi	37,9	13,9	Rundlöf i in, (2015)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	późny lipiec do września 2013	w sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi i kontrolnej	93,5	0,04	Alburaki i in, (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pyłek	maj do września 2011	tereny nierolnicze	93,9	0,047	Long i Krupke (2016)

<i>Apis mellifera</i>	pytek	maj do września 2011	W sąsiedztwie pól kukurydzy niepoddanej zabiegowi	95,8	0,078	Long i Krupke (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	maj do września 2011	W sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	95,3	0,176	Long i Krupke (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól kukurydzy niepoddanej zabiegowi	brak danych	<1 (granica oznaczalności)	Pilling i in. (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	brak danych	1-7 (wartości medialny)	Pilling i in. (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól rzepaku SN niepoddanego zabiegowi	brak danych	<1 (granica oznaczalności)	Pilling i in. (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	2005-2009 (daty nieznane)	W sąsiedztwie pól rzepaku SN poddanego zabiegowi	brak danych	<1-3,5 (wartości mediany)	Pilling i in. (2013)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	6 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ niepoddanego zabiegowi	brak danych	<0,3 (granica wykrywalności)	Rolke i in. (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	6 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	brak danych	0,50	Rolke i in. (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	10-14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ niepoddanego zabiegowi	brak danych	<0,3 (granica wykrywalności)	Rolke i in. (2016)
<i>Apis mellifera</i>	pytek	10-14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	brak danych	0,97	Rolke i in. (2016)
<i>Bombus terrestris</i>	pytek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ niepoddanego zabiegowi	brak danych	6,5	David i in. (2016)
<i>Bombus terrestris</i>	pytek	czerwiec 2013 (najintensywniejsze kwitnienie rzepaku)	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	68,1	21,2	David i in. (2016)
<i>Bombus impatiens</i>	pytek	lipiec-sierpień 2013	W sąsiedztwie pól kukurydzy niepoddanej zabiegowi	99,35	<0,1 (granica wykrywalności)	Cutler i Scott-Dupree (2014)
<i>Bombus impatiens</i>	pytek	lipiec-sierpień 2013	W sąsiedztwie pól kukurydzy poddanej zabiegowi	99,35	0,4	Cutler i Scott-Dupree (2014)
<i>Bombus terrestris</i>	pytek	10 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ niepoddanego zabiegowi	brak danych	<0,3 (granica wykrywalności)	Rolke i in. (2016)
<i>Bombus terrestris</i>	pytek	10 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	brak danych	0,88	Rolke i in. (2016)
<i>Osmia bicornis</i>	pytek	14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ niepoddanego zabiegowi	brak danych	<0,3 (granica wykrywalności)	Rolke i in. (2016)
<i>Osmia bicornis</i>	pytek	14 maja 2014	W sąsiedztwie pól rzepaku SZ poddanego zabiegowi	brak danych	0,88	Rolke i in. (2016)

Ogółem badania te wskazują, że do największego narażenia ostrego (0,84-27,0 ng/g) dochodzi podczas kwitnienia przywabiających owady i poddanych działaniu neonikotynoidów roślin uprawnych, gdyż pochodzi od nich ponad jedna czwarta całkowitego zbioru pyłku. Opisane wartości różnią się nawet o dwa rzędy wielkości, zależnie od typu upraw, daty pobrania próbki, początkowego stężenia neonikotynoidów w powłoce nasion i odsetka pyłku pochodzącego od dzikich kwiatów. Jako że tylko jedno badanie było wyraźnie poświęcone pomiarom stężenia neonikotynoidów w pyłku dzikich kwiatów, trudno ocenić, czy pyłek dzikich kwiatów zawiera co do zasady wyższe czy niższe stężenia neonikotynoidów niż pyłek roślin uprawnych. Jednakże analizując dietę pszczoły miodnej na obszarach rolniczych, gdzie stosowane są neonikotynoidy, poza okresem najintensywniejszego kwitnienia przywabiających pszczoły upraw lub przy uprawach, które nie przywabiają danego gatunku pszczoły, stężenia neonikotynoidów są ogólnie niskie. Mieszczą się one w zakresie 0,04-0,40 ng/g w przypadku diety składającej się w 95,3-100% z pyłku dzikich kwiatów (Cutler i Scott-Dupree 2014; Botías i in. 2015; Long i Krupke 2016; Alburaki i in. 2016). Największe zagrożenie kontaktem z neonikotynoidami wynika z diety składającej się w większej części z pyłku roślin uprawnych. Ponieważ pszczoły miodne zbierają pyłek przez cały sezon, ich narażenie na neonikotynoidy może być uwarunkowane przede wszystkim przez stężenia tych substancji w dzikich kwiatkach. Botías i in. (2015) wyliczyli na podstawie pyłku zebranego w czerwcu i sierpniu, że 97% całkowitego stężenia neonikotynoidów w pyłku pochodziło z dzikich kwiatów. Rośliny nieuprawne otaczające tereny rolnicze stanowią dodatkowe długotrwałe źródło neonikotynoidów.

2.2.5 Ryzyko narażenia na kontakt z neonikotynoidami ze strony kolejnych upraw

Ryzyko narażenia na neonikotynoidy ze strony kolejnych upraw uznano w raporcie EFSA za najważniejszą lukę w wiedzy. Zgodnie z dostępnymi wówczas badaniami, pozostałości w kolejnych uprawach powinny być poniżej LOQ, lecz dane na ten temat były ograniczone. Od 2013 roku nie przeprowadzono wielu badań wprost dotyczących stężeń neonikotynoidów w uprawach niepoddanych zabiegom, wzrastających

w glebie, w której wcześniej uprawiano rośliny poddane zabiegowi z użyciem neonikotynoidów, jako że większość upraw otrzymuje nowe dawki neonikotynoidów każdego roku. Taka analiza jest jednak możliwa, gdy z roku na rok zmienia się zastosowany preparat neonikotynoidowy. Botías i in. (2015; 2106) analizowali stężenia neonikotynoidów w rzepaku zaprawianym tiametoksamem. Na danym polu uprawiano zaprawiane klotianidyną zboża przez przynajmniej dwa poprzednie lata. Natomiast przez poprzednie trzy lata nie stosowano tam imidaklopyrydu. Stwierdzono, że w pyłku i liściach występują kolejno następujące stężenia neonikotynoidów: 3,15 ng/g i 1,04 ng/g tiametoksamu, 1,90 ng/g i 2,91 ng/g klotianidyny oraz 0 ng/g i 0,23 ng/g imidaklopyrydu. Jako że klotianidyna może powstać w wyniku metabolizmu tiametoksamu, nie da się ustalić pochodzenia pozostałości tego neonikotynoidu. Imidaklopyryd nie był wykrywany w próbkach pyłku, co jest wynikiem upływu dłuższego czasu od ostatniego znanego zastosowania tej substancji na badanym polu. Jako że te związki mogą utrzymywać się w glebie przez wiele lat, ryzyko narażenia na ich działanie ze strony kolejnych upraw w dużej mierze zależy od daty poprzedniej aplikacji oraz innych czynników warunkujących trwałość neonikotynoidów w glebie (punkt 2.2.1). Jednakże obecność imidaklopyrydu w próbkach liści dowodzi, że kolejne uprawy mogą wychwytywać pozostałości neonikotynoidów zastosowanych przynajmniej dwa lata wcześniej. Zważywszy na obecność neonikotynoidów w jednorocznej, wieloletniej i drzewnej roślinności otaczającej obszary rolnicze (punkt 2.2.4) oraz średnioterminowe utrzymywanie się neonikotynoidów w glebie i wodzie (punkty 2.2.2 i 2.2.3), ryzyko narażenia na działanie tych substancji ze strony kolejnych upraw jest prawdopodobnie zgodne z doniesieniami na temat poziomu neonikotynoidów w ogólnej roślinności środowisk rolniczych. Wymagane są jednak bardziej nakierowane badania tego zagadnienia.

03.

Dane dotyczące wpływu neonikotynoidów na zdrowie zwierząt

3.1 Wrażliwość trzmieli i pszczół samotnic na neonikotynoidy

3.1.1 Śmiertelność dorosłych dzikich pszczół w skutek bezpośredniego działania neonikotynoidów

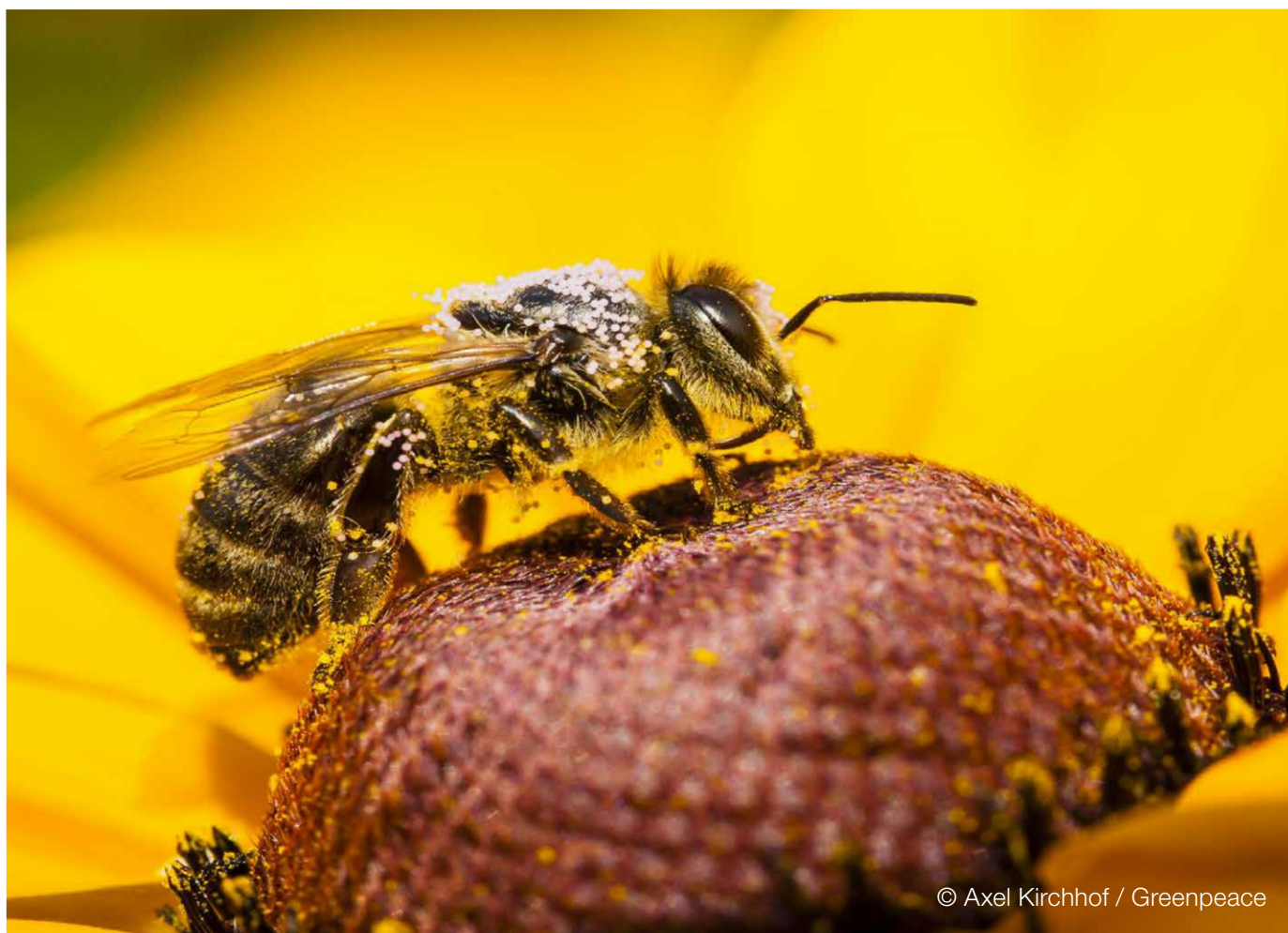
Niemal wszystkie badania toksyczności neonikotynoidów wobec pszczół przeprowadzono na pszczołach miodnej, *Apis mellifera*. Cresswell (2011) przeprowadził metaanalizę 14 badań sprzed 2010 roku i doszedł do wniosku, że 48-godzinna toksyczność ostro po narażeniu drogą pokarmową na imidaklopyryd ma wartość $LD_{50}=4,5$ ng/pszczołę. Badania EFSA (2013a; 2013b; 2013c) stanowiły analizę wyników badań toksyczności ostrej po narażeniu drogą pokarmową przeprowadzonych do 2013 roku, w tym badań recenzowanych i prywatnych, niedostępnych w domenie publicznej (podsumowanie: Godfray i in. 2014). Wywnioskowano z tych analiz, że wartości LD_{50} wynoszą 3,7 ng/pszczołę dla imidaklopyrydu, 3,8 ng/pszczołę dla klotianidyny i 5,0 ng/pszczołę dla tiametoksamu. EFSA (2013a; 2013b; 2013c) obliczył też odpowiednie wartości mediany dawki śmiertelnej LD_{50} wynikające z kontaktu z omawianymi substancjami. Wynoszą one 81 ng/pszczołę dla imidaklopyrydu, 44 ng/pszczołę dla klotianidyny i 24 ng/pszczołę dla tiametoksamu.

Jednakże raporty EFSA podkreślają też istnienie luki w wiedzy na temat działania neonikotynoidów na pszczoły inne niż pszczoła miodna. Arena i Sgolastra (2014) przeprowadzili metaanalizę wrażliwości różnych pszczół na pestycydy w porównaniu

do pszczoły miodnej. Ta analiza objęła dane z 47 badań nad 53 pestycydami z sześciu grup związków chemicznych. Łącznie było to 150 analiz przypadków dotyczących 18 gatunków pszczół (plus *A. mellifera*). Arena i Sgolastra obliczyli wskaźnik wrażliwości R porównujący dawkę letalną dla gatunku a (*A. mellifera*) i gatunku odniesienia s (innego niż *A. mellifera*), $R = LD_{50a}/LD_{50s}$. Stosunek powyżej 1 oznacza, że dany gatunek pszczół jest wrażliwszy na wybrane pestycydy niż *A. mellifera* i odwrotnie. Istnieje duża zmienność we względnej wrażliwości, wahająca się od 0,001 do 2085,7. Wyliczono jednak medianę wrażliwości na wszystkie pestycydy wynoszącą 0,57, co sugeruje, że *A. mellifera* okazują się generalnie bardziej wrażliwa na pestycydy niż inne gatunki pszczół. W większości przypadków (95%) współczynnik wrażliwości wynosił poniżej 10.

Łącząc dane dla wszystkich neonikotynoidów (acetamiprydu, imidaklopyrydu, tiaklopyrydu oraz tiametoksamu) oraz dane na temat toksyczności ostrej po narażeniu drogą kontaktową i drogą pokarmową, przeprowadzono dziewięć badań dla dziewięciu gatunków pszczół (oraz *A. mellifera*). Badania te wykazały medianę współczynnika wrażliwości równą 1,045, co stanowi najwyższą wartość mediany ze wszystkich przeanalizowanych grup pestycydów. Względnie najbardziej toksycznymi neonikotynoidami dla innych pszczół okazały się cyjano-podstawione neonikotynoidy acetamipryd oraz tiaklopyryd – są one mniej toksyczne dla pszczół miodnych niż nitro-podstawione neonikotynoidy: imidaklopyryd oraz tiametoksam.

Wybierając pestycydy objęte przez moratorium



(wyłączając acetamipryd i tiaklopryd, lecz uwzględniając dodatkowo fipronil) oraz uwzględniając zarówno toksyczność ostrą po narażeniu drogą kontaktową jak i toksyczność ostrą po narażeniu drogą pokarmową, przeprowadzono 12 badań 10 gatunków pszczół (oraz *A. mellifera*). Badania te wykazały medianę współczynnika wrażliwości równą 0,957, co jest zbliżone do współczynnika wrażliwości obliczonego dla wszystkich neonikotynoidów. Największa rozbieżność między pszczołami miodnymi a innymi gatunkami wystąpiła w przypadku pszczół bezżądłowych (*Apidae: Meliponini*). Efekty toksyczności ostrej kontaktowej fipronilu w przypadku *Scaptotrigona postica* (24 razy większy), toksyczności ostrej kontaktowej fipronilu w przypadku *Melipona scutellaris* (14 razy większy) oraz toksyczności ostrej kontaktowej tiakloprydu w przypadku *Nannotrigona perilampoides* (2086-krotny), to jedyne przypadki z współczynnikiem wrażliwości powyżej 10. Pszczoły bezżądłowe przeważnie występują na

obszarach okołorównikowych, a ich największa różnorodność notowana jest w neotropikach. Nie występują za to w Europie (Niето i in. 2014). W przeciwieństwie do powyższych, badania nad trzmielami ziemnymi (*B. terrestris*) konsekwentnie wykazują niższe współczynniki wrażliwości, znajdujące się w przedziale od 0,005 do 0,914, z medianą równą 0,264. Trzmiel ziemny jest gatunkiem szeroko rozpowszechnionym w Europie i jest organizmem modelowym spoza rodzaju *Apis* najpowszechniej wykorzystywanym do oceny wpływu neonikotynoidów na dzikie pszczoły (patrz punkt 3.1.2). Zaproponowano wyjaśnienie tych różnic różnicami w masie ciała pszczół, z wrażliwością na pestycydy odwrotnie proporcjonalną do wielkości ciała (Devilliers i in. 2003). Jednakże nie zostało to w pełni udowodnione, zasugerowano inne mechanizmy, takie jak poziom przystosowania gatunku do żywienia się nektarem bogatym w alkaloidy (Cresswell i in. 2012) oraz zróżnicowanymi umiejętnościami oczyszczania organizmu

z pozostałości neonikotynoidów (Cresswell i in. 2014). Biorąc pod uwagę ograniczoną ilość dostępnych danych, Arena i Sgolastra nie mogli wyciągnąć wniosków na temat prawdziwości tych tez.

Spurgeon i in. (2016) obliczyli różne miary toksyczności klotianidyny względem pszczoł miodnych, trzmiela *B. terrestris* oraz pszczoł samotnic - murarki rudej (*O. bicornis*). Toksyczność ostra po narażeniu drogą pokarmową, wyrażona jako 48-, 96 – oraz 240-godzinne LD50 po wyniosła dla pszczoł miodnych kolejno 14,6 ng/pszczołę, 15,4 ng/pszczołę oraz 11,7 ng/pszczołę. W przypadku *B. terrestris* uzyskano następujące wartości: 26,6 ng/trzmiela, 35 ng/trzmiela i 57,4 ng/trzmiela. W przypadku *O. bicornis* wartości te wyniosły: 8,4 ng/pszczołę, 12,4 ng/pszczołę i 28,0 ng/pszczołę. Odkrycia niniejsze są generalnie zgodne z odkryciami zespołu Arena i Sgolastra, mianowicie *B. terrestris* są mniej wrażliwe niż *A. mellifera* cały czas i *O. bicornis* mniej wrażliwe po 240 godzinach.

Sgolastra i in. (2016) obliczyli względną wrażliwość tych samych trzech gatunków na klotianidynę w przedziale 24–96 godzin. Najwyższe wartości LD50 uzyskano po 24 godzinach dla *A. mellifera* oraz *B. terrestris*, a także po 72 godzinach dla *O. bicornis*. W tym czasie *O. bicornis* okazały się najwrażliwsze z tych trzech gatunków. Wartości LD50 wyniosły u nich 1,17 ng/pszczołę oraz 9,47 ng/g, w porównaniu do 1,68 ng/pszczołę oraz 19,08 ng/g w przypadku *A. mellifera*, i 3,12 ng/pszczołę oraz 11,90 ng/g w przypadku *B. terrestris*. Wyniki te są zgodne z wartościami obliczonymi przez Spurgeon i in. (oprócz wartości dla 240 godzin), ze zmniejszającą się wrażliwością w następującym porządku: *O. bicornis* > *A. mellifera* > *B. terrestris*. Reasumując, badania te dowodzą, że gatunki o małych rozmiarach wykazują większą wrażliwość na neonikotynoidy.

W Europie znanych jest około 2000 gatunków pszczoł. Biologia, behavior i ekologia każdego z nich różni się od tych u pszczoły miodnej. W rezultacie, biorąc pod uwagę szeroki zakres względnej wrażliwości, ekstrapolowanie ograniczonych danych toksykologicznych, dostępnych dla 19 gatunków pszczoł, na wpływ neonikotynoidów na pozostałe gatunki Europy, jest utrudnione. **Uzyskane do tej pory dane sugerują, że – biorąc pod uwagę bezpośrednią śmiertelność – pszczoły dzikie są porównywalnie lub nieznacznie bardziej wrażliwe na neonikotynoidy od pszczoł miodnych.** Jednakże trzeba podchodzić z ostrożnością

do rozważań nad indywidualnymi gatunkami, rodzajami i rodzinami pszczoł, jako że różne grupy taksonomiczne mogą wykazywać odmienny indywidualny poziom wrażliwości. Większość europejskich dzikich pszczoł jest mniejsza niż pszczoły miodne i w związku z tym mogą mieć większą wrażliwość wyrażoną w ng/pszczołę. Ogólnie rzecz ujmując, metryki wrażliwości pszczoły miodnej na neonikotynoidy są prawdopodobnie racjonalnym wskaźnikiem pomocniczym w ocenie bezpośredniej wrażliwości dzikich społeczności pszczoł (Arena i Sgolastra 2014), lecz potrzeba dalszych badań, aby objąć szeroki zakres gatunków pszczoł występujących w środowiskach rolniczych.

3.1.2 Subletalne działanie neonikotynoidów na dzikie pszczoły

W roku 2013 dostępne były liczne badania na temat subletalnego wpływu neonikotynoidów, bazujące głównie na pszczołach miodnych jako organizmie modelowym w warunkach laboratoryjnych. Blacquièrre i in. (2012) przeanalizowali badania dotyczące efektów ubocznych neonikotynoidów u pszczoł, które opublikowano między rokiem 1995 a 2011, ze szczególnym uwzględnieniem efektów subletalnych. Autorzy odkryli, że podczas gdy badania laboratoryjne opisywały letalne i subletalne działania neonikotynoidów na zachowania żywieniowe oraz zdolności uczenia i pamięć pszczoł, nie zaobserwowano takiego wpływu w badaniach polowych z użyciem realnie występujących dawek. Dwa główne badania, które znacząco wpłynęły na przyjęcie i utrzymanie unijnego moratorium na neonikotynoidy, opublikowano dopiero w roku 2012, już po tym przeglądzie.

Henry i in. (2012) podali robotnicom ostrą dawkę 1,34 ng tiametoksamu w 20 µl roztworu sacharozy, odpowiadającą 27% LD50 (patrz punkt 3.1.1), a następnie uwolnili je 1 km od gniazda i zmierzili ich współczynnik powrotu. Narażone pszczoły wracały z dużo mniejszym prawdopodobieństwem niż te z grupy kontrolnej. Whitehorn i in. (2012) narażali rodziny *B. terrestris* na skażony neonikotynoidami na dwóch poziomach stężeń pyłek (6 oraz 12 ng/g plus kontrola) i nektar (0,7 oraz 1,4 ng/g plus kontrola) w laboratorium przez dwa tygodnie. Następnie przenieśli je na zewnątrz, aby korzystały z pożytków samodzielnie przez sześć tygodni, co miało naśladować czasowe narażenie, spodziewane u pszczoł korzystających z pożytku na rzepaku zaprawionym neonikotynoidami. Trzmiela narażone na

dwa poziomy neonikotynoidów cechowały się znaczącym spowolnieniem wzrostu i 85% zmniejszeniem liczby nowych matek w porównaniu z rodzinami kontrolnymi.

Oba te badania krytykowano za zastosowanie stężeń neonikotynoidów wyższych niż prawdopodobne narażenie dzikich pszczół w środowisku (patrz Godfray i in. 2014, Carreck i Ratnieks 2014). Henry i in. wykorzystali roztwór o stężeniu 67 ng/g, tj. 1,34 ng tiametoksamu w 20 µl roztworu sacharozy. Przyjmując, że maksymalne stężenie tiametoksamu w nektarze rzepaku wynosi 2,72 ng/g (patrz punkt 2.1.1), pszczoła miodna musi pobrać 0,49 g nektaru, aby osiągnąć tę dawkę. Typowo pszczoły miodne przenoszą 25-40 mg nektaru w czasie jednego lotu, co stanowi ekwiwalent 0,025-0,040 g, około 10% objętości koniecznej do uzyskania dawki tak wysokiej, jak ta użyta przez Henry i in. Ponadto, jako że robotnice pszczoły miodnej pozostawiają ten nektar w ulu, całkowita pobrana dawka jest najprawdopodobniej tylko częścią przeniesionej ilości. W rezultacie odkrycia Henry i in. najpewniej nie odpowiadają rzeczywistości.

Stężenia w pyłku i nektarze wykorzystane przez Whitehorn i in. są dużo bliższe poziomom występującym w warunkach polowych. Niższa dawka mieści się w granicach maksymalnie oszacowanego stężenia imidaklopyrydu w pyłku i nektarze rzepaku (patrz punkt 2.1.1). Jako nierealistyczne skrytykowano jednakże założenia eksperymentalne, w których pszczoły nie miały wyboru i musiały pobierać zaprawiany pyłek i nektar. W rzeczywistości byłyby dostępne alternatywne, nieskażone źródła pokarmu. W ramach badań oznaczono pozostałości neonikotynoidów zarówno w pyłku roślin uprawnych, jak i dzikich, a następnie oceniono pochodzenie zbieranego przez pszczoły pyłku (patrz punkt 2.2.4). W pyłku zebranym przez pszczoły dzikie wykazano stężenia neonikotynoidów w zakresie 0,84–27,0 ng/g, a jego większość pochodziła z roślin uprawnych w okresie szczytu kwitnienia. Pyłek uzyskany z gniazd trzmieli zawierał stężenia neonikotynoidu rzędu 6,5 ng/g na obszarach miejskich oraz 21,2 ng/g na obszarach wiejskich podczas szczytowego kwitnienia rzepaku, jednakże przebadano małą liczbę gniazd (trzy i pięć). Inne badania miały na celu zmierzenie stężeń neonikotynoidu w pyłku pobranym bezpośrednio od trzmieli. Wykryto stężenia <1 ng/g, w związku z czym

nadal niejasna pozostaje kwestia prawdziwych poziomów narażenia dzikich trzmieli. Na podstawie opisanych stężeń można wnioskować, że wyniki uzyskane przez zespół Whitehorn i in. są bliższe rzeczywistym warunkom niż odkrycia Henry i in.

Po kwietniu 2013 roku badano głównie subletalny wpływ neonikotynoidów na pszczoły. Korzystano z pomiarów kondycji pojedynczych osobników i całych rodzin pszczoły miodnej. Brano pod uwagę takie czynniki, jak wzrost rodzin, zimowanie oraz produkcja osobników zdolnych do rozmnażania. Prace te wykraczają poza zakres niniejszego opracowania, lecz niedawne ważne publikacje badania Pilling i in. (2013), Cutler i in. (2014a), Rundlöf i in. (2015) oraz Dively i in. (2015). Odkryli oni, że wpływ neonikotynoidów na poziomie rodziny jest pomijalny. Z kolei Cresswell (2011) przeprowadził metaanalizę 13 badań laboratoryjnych i półpolowych przeprowadzonych przed 2011 rokiem. Różni autorzy podkreślają, że odnoszenie badań nad pszczołami miodnymi do pszczół dzikich jest obciążone trudnościami. Wynika to z różnic w rozmiarach poszczególnych pszczół oraz zachowań społecznych pszczoły miodnej, które tworzą rodziny składające się z wielu tysięcy robotnic.

3.1.2.1 Wpływ na rozwój rodzin i sukces reprodukcyjny

Kilka zespołów badało wpływ neonikotynoidów na trzmiele przy wykorzystaniu mikrorodzin. Są to małe grupy robotnic trzmieli, pozyskane z rodziny i odizolowane od matki w obrębie nowego gniazda. Nieposiadające matki robotnice rozpoczynają wychowywanie własnego męskiego potomstwa. Mikrorodzinki pomagają uzyskać duże próby do badania wpływu pestycydów na śmiertelność pszczół, opiekę nad larwami i sukces reprodukcyjny.

Elston i in. (2013) karmili mikrorodzinki trzech robotnic *B. terrestris* realistyczną polowo dawką 1 ng/g tiametoksamu oraz maksymalną polową dawką 10 ng/g w paście pyłkowej lub roztworze cukru przez 28 dni. Obie mikrorodzinki narażone na tiametoksam spożyły wyraźnie mniej roztworu cukru niż rodziny kontrolne. Nie miało to wpływu na śmiertelność robotnic, lecz rodziny spożywające pokarm o zawartości 10 ng/g tiametoksamu zmniejszyły aktywność związaną z budową gniazda i wytworzyły wyraźnie mniej jaj i larw. W tej



grupie, jako jedynej, odnotowano osobniki, które przez 28 dni eksperymentu wcale nie wytworzyły larw.

Laycock i in. (2014) karmili mikrorodzinki czterech robotnic *B. terrestris* roztworem cukru skażonym tiametoksamem, a zakres stężeń tej substancji obejmował dawki aż do 98 ng/g. Pyłek nie został skażony tiametoksamem. Spożycie roztworu cukru było wyraźnie niższe przy stężeniu 39 oraz 98 ng/g. Śmiertelność robotnic wzrosła tylko przy najwyższej dawce 98 ng/g. Niemożność składania przez robotnice jaj wzrosła znacząco jedynie przy dawkach 39 oraz 98 ng/g. Natomiast nie zaobserwowano wyraźnych różnic między niższymi stężeniami z przedziału od 0 do 16 ng/g.

Odkrycia poczynione w ramach tych dwóch badań były w większości zgodne z wiedzą sprzed 2013 roku. Mommaerts i in. (2010) karmili mikrorodzinki *B. terrestris* roztworem cukru ze stężeniem tiametoksamu aż do 100 ng/g. Przy stężeniu na poziomie 100 ng/g zmniejszeniu uległa produkcja potomstwa, a stężenie 10 ng/g nie wywarło obserwowalnego wpływu. Różnice między odkryciami zespołów Elston i in. i Laycock i in. po części wyjaśnia fakt, że Elston i in. skażali tiametoksamem zarówno pyłek, jak i roztwór cukru. Laycock i in. potwierdzili, że stężenie na poziomie 98 ng/g zwiększa śmiertelność robotnic, lecz jako że takie stężenia nie występują zazwyczaj w terenie, jest to obserwacja mało znacząca.

Scholer i Krischik (2014) wystawiali szklarniowe rodziny z matką gatunku *B. impatiens* na działanie imidaklopyrydu i klotianidyny w syropie cukrowym, przy stężeniu 0, 10, 20, 50 oraz 100 ng/g przez 11 tygodni. Śmiertelność matek była wyraźnie zwiększona po sześciu tygodniach, przy stężeniach 50 oraz 100 ng/g, a także po 11 tygodniach przy stężeniu 20 ng/g, zarówno w przypadku klotianidyny, jak i imidaklopyrydu. Co zaskakujące, nie zaobserwowano wyraźnego wpływu na liczbę robotnic lub produkcję nowych matek, co po części wynika z produkcji bardzo niskiej liczby nowych matek w przypadku wszystkich badań (średnio cztery na rodzinę). Rodziny, dla których z zastosowano stężenia powyżej 10 ng/g imidaklopyrydu oraz 20 ng/g klotianidyny, miały do końca badania zdecydowanie mniejszy przyrost masy. Stężenie neonikotynoidów ponad 20 ng/g jest już bardzo wysokie i istnieje małe prawdopodobieństwo ciągłego narażenia na nie pszczoł przez dłuższy czas w warunkach realnych. Dlatego też

śmiertelność matek w rzeczywistości raczej nie będzie zwiększać się w takim stopniu jak ta pod wpływem stężeń z przeprowadzonych eksperymentów.

Od 2013 roku opublikowano również wyniki kilku badań polowych dotyczących wpływu zaprawianych neonikotynoidami masowych upraw roślin kwitnących na wzrost i sukces reprodukcyjny dzikich rodzin trzmielich. Cutler i Scott-Dupree (2014) umieścili rodziny *B. impatiens* w sąsiedztwie pól kukurydzy podczas pylenia w Ontario (Kanada). Użyto czterech pól z konwencjonalnym wykorzystaniem neonikotynoidów oraz czterech pól upraw organicznych, na których nie stosowano neonikotynoidów. Rodziny umieszczono w sąsiedztwie każdego z pól pierwszego dnia największego pylenia. Pozostawiono je na 5–6 dni, a następnie przenieśli na obszar półnaturalnego środowiska, gdzie pozostały przez 30–35 dni. Następnie je zamrożono. Rodziny umiejscowione w pobliżu zaprawianej kukurydzy miały wyraźnie mniej robotnic niż te z pobliza gospodarstw prowadzących uprawy ekologiczne. Wszystkie inne parametry (masa rodziny, koszycki pyłkowe, komórki lęgowe, masa robotnic, liczba oraz masa trutni i matek) nie różniły się w sposób wyraźny. Trzmielie zbierały mniej niż 1% swojego pyłku z kukurydzy (punkt 2.2.4) i pozostałości neonikotynoidów w zebranym pyłku były niewielkie, wynosiły one 0,4 ng/g dla trzmieli korzystających z pożytków w pobliżu zaprawianych pól i poniżej LOD w przypadku trzmieli sąsiadujących z gospodarstwami ekologicznymi. Wiadomo, że trzmielie zbierają bardzo małe ilości pyłku z kukurydzy, więc znaczenie tego badania pozostaje niejasne.

Rundlöf i in. (2015) przeprowadzili szeroko zakrojone badania polowe wpływu zaprawianego klotianidyną rzepaku na dzikie pszczoły. W południowej Szwecji wybrano 16 pól rzepaku oddzielonych od siebie o co najmniej 4 km i sparowano je na podstawie podobieństw składu krajobrazu. W każdej parze wybierano losowo jedno z pól do obsiania rzepakiem zaprawionym 10 g klotianidyny/kg ziarna, a drugie pole obsiewano ziarnem niezaprawianym tym neonikotynoidem. Wzdłuż każdego z pól umieszczono 27 kokonów pszczoły samotnicy *O. bicornis* (15 samców, 12 samic) na tydzień przed rozpoczęciem kwitnienia rzepaku, a sześć rodzin *B. terrestris* umieszczono analogicznie w dniu rozpoczęcia kwitnienia. Pszczoły z gatunku *O. bicornis* w pobliżu upraw zaprawianego rzepaku nie wykazywały zachowań związanych z budową gniazda i nie inicjowały

konstruowania komór lęgowych. *O. bicornis* sąsiadujące z uprawami ekologicznymi wykazywały zachowania związane z budową gniazda w sześciu na osiem przypadków. Przyczyny tych różnic w inicjacji budowy gniazda nie są jasne i trudno wyciągnąć jednoznaczne wnioski z powodu małej liczby przebadanych przypadków. U trzmieli umieszczonych w pobliżu zaprawianych upraw rzepaku stwierdzono spowolniony wzrost rodzin oraz gorsze wyniki rozmnażania. Następnie, gdy zaczęły się pojawiać nowe matki, rodziny trzmieli zebrano i zamrożono. Miało to miejsce między 7 lipca a 5 sierpnia w zależności od danej rodziny. Policzone liczbę kokonów zawierających matki i robotnice/samce. Po zamrożeniu okazało się, że rodziny umieszczone w pobliżu zaprawianych upraw rzepaku mają wyraźnie mniej kokonów matek i robotnic/samców.

Sterk i in. (2016) przeprowadził podobny eksperyment połowy jak Rundlöf i in. Wybrano dwa obszary o powierzchni 65 km² w północnych Niemczech. Jedyłą kwitnącą tam rośliną był zasiany zimą rzepak. Na jednym z obszarów rzepak zaprawiono 10 g klotianidyny/kg nasion, tak jak w badaniu zespołu Rundlöf i in. Drugi z obszarów pozostawiono jako kontrolny. Na obu obszarach umieszczono dziesięć rodzin *B. terrestris* w sześciu lokalizacjach. Rodziny pozostawiono w sąsiedztwie rzepaku między kwietniem a czerwcem, co pokrywa się z jego głównym okresem kwitnienia. Po tym okresie rodziny przeniesiono do naturalnego środowiska. Nie zaobserwowano różnic w przyroście masy rodzin, liczbie wyprodukowanych robotnic ani rozrodczości, mierzonej liczbą nowych matek.

Co ciekawe, te dwa badania terenowe, wykorzystujące te same zaprawy neonikotynoidowe nasion, osiągnęły zupełnie inne wyniki. Główna różnica polega na tym, że podczas gdy Rundlöf i in. wykorzystał wiosenny siew rzepaku, Sterk i in. użył siewu zimowego. Okres między siewem a maksimum kwitnienia jest dużo dłuższy w przypadku rzepaku sianego zimą (środek sierpnia do maja) niż sianego wiosną (kwiecień/maj do połowy czerwca). W przypadku siewu zimowego jest więcej czasu na wymycie neonikotynoidów do gleby i wody, co zmniejsza ilość składnika czynnego dostępnego do pobrania przez rośliny. Może to stanowić wyjaśnienie różnicy rzędu wielkości stężeń neonikotynoidów w pyłku zebranym z tych dwóch upraw (punkt 2.2.4) oraz różnice w obserwowanym wzroście rodzin oraz liczbie wytworzonych reproduktorek. Dodatkowa różnica polegała na tym, że w badaniu Sterk i in.

rodziny po okresie kwitnienia rzepaku przeniesiono do naturalnego środowiska, które składało się z lasów, jezior i wrzosowisk. Dostępne tam źródła pokarmu najprawdopodobniej są zarówno wyższej jakości, jak i bardziej obfite ilościowo niż te dostępne w ramach konwencjonalnego krajobrazu rolniczego. Kolonie trzmieli żyjących w krajobrazie rolniczym musiałyby typowo kontynuować tam korzystanie z pożytków również po przekwitnięciu upraw. Ponadto poważnym problemem w projekcie doświadczenia Sterk i in. było użycie tylko jednego pola zaprawionego i jednego kontrolnego. Nie można więc było uzyskać odpowiedniej powtarzalności, w przeciwieństwie do badania Rundlöf i in., gdzie wykorzystano osiem pól zaprawionych i tyle samo kontrolnych. Tę odmienność w planowaniu eksperymentu powinno się wziąć pod uwagę, rozważając, dlaczego badania dały tak różne rezultaty.

W odpowiedzi na wyniki Henry i in. (2012) oraz Whitehorn i in. (2013) kolejne badanie przeprowadziła FERA (2013). Obejmowało ono badania połowe rodzin trzmieli umieszczonych w sąsiedztwie pól rzepaku zaprawianego klotianidyną albo imidaklopydem, albo koło pól niezaprawianego rzepaku kontrolnego. Rodziny mogły swobodnie korzystać przez 6–7 tygodni z pożytku na kwiatkach rzepaku, a następnie były przenoszone na tereny nierolnicze, aby dalej się rozwijać. Początkowym celem było porównanie wzrostu i rozwoju tych trzech grup rodzin, jak również porównanie stężeń neonikotynoidów w pożywieniu gromadzonym w gniazdach, lecz badanie to zostało skrytykowane z powodu licznych problemów metodologicznych, np. zmienności w datach umieszczenia i początkowej wielkości rodzin, braku powtarzalności między stanowiskami i skażenia rodzin kontrolnych pozostałościami neonikotynoidów podczas doświadczenia. W rezultacie wyniki badania nie zostały opublikowane w recenzowanym czasopiśmie naukowym. Wyciągnięto wniosek, że nie ma czytelnej zależności między pomyślnym rozwojem rodziny, a stężeniem neonikotynoidów. Goulson (2015) ponownie przeanalizował dane FERA, korzystając z modeli liniowych. Zachował też wyniki dla dwóch rodzin, wykluczone, które wykluczono z pierwotnego badania jako znacząco odbiegające od pozostałych, pomimo że nie spełniały kryteriów statystycznych dla wyników odbiegających. Zgodnie z tą ponowną analizą, stężenia klotianidyny w nektarze i stężenia

tiametoksamu w pyłku były istotnym czynnikiem predykcynym zarówno słabszego przyrostu masy rodziny, jak i wytwarzania nowych matek.

Dostępne jest tylko jedno badanie poświęcone wpływowi neonikotynoidów na sukces reprodukcyjny pszczół samotnic w warunkach kontrolowanych. Sandrock i in. (2014) uzyskali populacje laboratoryjne murarki *O. bicornis*. Pszczoły karmiono roztworem wody z cukrem oraz 2,87 ng/g tiametoksamu i 0,45 ng/g klotianidyny, jak również pyłkiem niezawierającym neonikotynoidów. Nie stwierdzono wpływu neonikotynoidów na długość życia dorosłej samicy ani na masę ciała. Jednakże narażone pszczoły ukończyły o 22% mniej gniazd w czasie trwania doświadczenia. Gniazda ukończone przez narażone pszczoły zawierały o 43,7% mniej komórek, a względna śmiertelność czerwiu była znacząco wyższa. Dla porównania, wynosiła ona – kolejno – 15% i 8,5% w grupie badanej i kontrolnej. Ogółem, przewlekłe narażenie na neonikotynoidy skutkowało znaczącym

ograniczeniem liczby pszczół opuszczających gniazdo: narażone pszczoły miały o 47,7% mniej potomstwa. Te wyniki sugerują, że narażenie na te niskie, realistyczne w warunkach terenowych dawki neonikotynoidów (<3,5 ng/g) nie zwiększa śmiertelności dorosłych, lecz znacząco ogranicza ich zdolność do budowania gniazd i opieki nad potomstwem.

Podsumowując, wyniki badań przeprowadzonych po 2013 roku są ogólnie zbieżne z wcześniejszym stanem wiedzy, lecz wzbogaciły go w kilku istotnych kwestiach. Kolejne badania laboratoryjne wykazały negatywny wpływ neonikotynoidów w ogólnie wysokich stężeniach na rozrodczość trzmieli, przy czym najłagodniejsze działanie subletalne na układ rozrodczy wykryto przy stężeniu 10 ng/g. **Badania polowe z wykorzystaniem trzmieli wykazały, że narażenie na zaprawiane neonikotynoidami uprawy może znacząco wpływać na wzrost i rozrodczość rodzin zależnie od intensywności kontaktu z badanymi substancjami.**



© Axel Kirchof / Greenpeace

Wyjaśnieniem zmiennych poziomów pozostałości wykrywanych w dostępnych badaniach mogą być różnice w datach kwitnienia upraw względem okresu ich wysiewu, oraz różnice dostępności nieskażonych roślin, stanowiących pożytek dla trzmieli. Naszą wiedzę na temat wpływu neonikotynoidów na pszczoły samotnice znacznie poszerzyły badania zespołu Sandrock i in. (2014). Sugerują oni znaczący wpływ stężeń realnych dla warunków polowych, tj. 3,5 ng/g, na rozrodczość pszczoł. Badania polowe, wykazujące ten wpływ w warunkach rzeczywistych, ograniczają się do pracy zespołu Rundlöf i in. (2015), gdzie kontakt z neonikotynoidami skutkowałam zahamowaniem aktywności związanej z budowaniem gniazd.

3.1.2.2 Wpływ na efektywność korzystania z pożytków

W 2013 roku wiedza na temat wpływu neonikotynoidów na zachowania związane z korzystaniem z pożytków u poszczególnych pszczoł i w rezultacie sprawność całej rodziny były ograniczone. Gill i in. (2012) badali wpływ narażenia rodziny *B. terrestris* na 10 ng/g imidaklopyrydu w roztworze wody z cukrem w okresie budowy gniazda, przez cztery tygodnie. Rodziny znajdowały się w pomieszczeniu, lecz rury dostępne umożliwiały owadom swobodne korzystanie z pożytków na wolnej przestrzeni. Rodziny narażone na imidaklopyryd wrosły wolniej, a zachowanie zbieraczek było znacząco zaburzone. Inicjowały one więcej wylotów na pożytki, przynosiły mniejsze objętości pyłku z udanego wylotu, a udane wyloty zajmowały znacząco więcej czasu niż w rodzinie kontrolnej. Narażone trzmielki zbierały pyłek rzadziej: zaledwie 59% rund wylotu na pożytki skutkowałam zebraniem pyłku, w porównaniu z 82% w grupie kontrolnej. Obserwowano spadek o nawet o 28%. Autorzy podsumowali, że narażenie na imidaklopyryd w tych stężeniach znacząco ogranicza zdolność robotnic trzmielki do zbierania pyłku w terenie. Ograniczona zdolność zbierania pyłku skutkowałam mniejszą jego dostępnością w narażonych rodzinach niż w rodzinach kontrolnych, co przekładało się na spowolniony wzrost z powodu ograniczenia ilości pyłku. Od czasu upublicznienia tych przeprowadzono szereg nowych badań i opublikowano wiele artykułów na temat wpływu neonikotynoidów na zachowanie trzmieli podczas korzystania z pożytków.

Feltham i in. (2014) badali wpływ narażenia rodzin *B. terrestris* na roztwór cukru z 0,7 ng/g i pyłek z 6 ng/g

imidaklopyrydu przez dwa tygodnie. Stężenia roztworu cukru były o rząd wielkości niższe niż stężenie 10 ng/g zastosowane przez zespół Gill i in. (2012). Następnie umieszczono rodziny na zurbanizowanym obszarze w Szkocji. Korzystające z pożytków robotnice z każdego z gniazd obserwowano przez kolejne cztery tygodnie. Nie stwierdzono różnicy w czasie spędzonym na zbieraniu nektaru ani objętości zebranego nektaru między robotnicami z narażonych i kontrolnych rodzin. Jednakże narażone robotnice zbierały znacząco mniej pyłku i przynosiły go 31% mniej na jednostkę czasu do swoich rodzin. Ponadto narażone trzmielki zbierały pyłek rzadziej: zaledwie 41% rund wylotów na pożytki skutkowałam zebraniem pyłku, w porównaniu z 65% w grupie kontrolnej. Obserwowano spadek o 23%.

Gill i Raine (2014) przeprowadzili podobne doświadczenia do Gill i in. (2012), narażając rodziny *B. terrestris* na roztwór cukru z 10 ng/g imidaklopyrydu, lecz dając jednocześnie owadom możliwość swobodnego korzystania z pożytków na wolnej przestrzeni. Rodziny i poszczególne robotnice analizowano przez okres czterech tygodni. Zgodnie z wcześniejszymi wynikami (Gill i in. 2012) ustalono, że robotnice narażone na imidaklopyryd wykonywały znacząco więcej lotów na pożytki w ciągu czterech tygodni prowadzenia doświadczenia. Autorzy stwierdzili, że może to wynikać z ostrej odpowiedzi poszczególnych osobników w pierwszych tygodniach (neonikotynoidy działają jako częściowy agonista pracy neuronów, nasilając wyloty na pożytki) oraz przewlekłej odpowiedzi na poziomie rodziny w dalszej części doświadczenia, kiedy większa część robotnic w rodzinie wyznaczana jest do zbioru pyłku. Efektywność zbioru pyłku narażonych robotnic spada w czasie doświadczenia, przy czym najmniejsze porcje zebranego pyłku zarejestrowano w czwartym tygodniu. Sugeruje to przewlekły wpływ imidaklopyrydu na zdolność do korzystania z pożytków pyłkowych. Pozostaje niejasne, czy wynika to z pogorszenia sprawności pojedynczych owadów, czy też z większego narażenia młodych robotnic po upływie dłuższego czasu.

Stanley i in. (2015) badali wpływ narażenia rodzin *B. terrestris* na 2,4 ng/g lub 10 ng/g tiametoksamu w roztworze z cukrem przez 13 dni. Następnie przeniesiono rodziny do klatek: owady miały możliwość swobodnego korzystania z pożytków na dwóch odmianach jabłoni. Trzmielki z rodzin narażonych na stężenie 10 ng/g spędzały więcej czasu na korzystaniu



z pożytku, odwiedzały mniej kwiatów i przynosiły do gniazda pyłek, wykonując mniej lotów w porównaniu z owadami kontrolnymi. Stanley i Raine (2016) narażali rodziny *B. terrestris* na 10 ng/g tiametoksamu w roztworze z cukrem przez 9-10 dni. Następnie rodziny przenoszono do zamkniętego obszaru z dwiema pospolitymi koniczami zwyczajnymi *Lotus corniculatus* i jedną koniczyną białą *Trifolium repens*. Robotnice uwalniano pojedynczo i rejestrowano ich zachowanie wobec kwiatów. Znacząco więcej narażonych robotnic wykazywało zachowania nakierowane na korzystanie z pyłku w porównaniu z kontrolą. Jednakże robotnice kontrolne nauczyły się wydajnie korzystać z kwiatów znacznie szybciej, bo po zaledwie kilku wizytach szkoleniowych.

Arce i in. (2016) umieszczali gniazda *B. terrestris* na terenach parkowych na pięć tygodni, jednocześnie dostarczając owadom roztwór cukru z 5 ng/g klotianidyny. Objętość dostarczonego roztworu cukru wynosiła około połowy typowej ilości pokarmu, jaką szacuje się, że rodzina spożyłaby w czasie trwania doświadczenia. Nie dostarczono pyłku, tak więc robotnice musiały go pozyskiwać, jak również nadrabiać niedobory nektaru. W odróżnieniu od poprzednio omawianych badań stwierdzono tylko subtelne zmiany wzorców aktywności podczas korzystania z pożytków i zbierania pyłku. Nie było wyraźnej różnicy w przyroście masy rodziny lub liczebności pokoleń w grupie narażonej. Jednakże pod koniec doświadczenia narażone rodziny zawierały mniej robotnic, trutni i przyszłych matek w porównaniu z rodzinami kontrolnymi.

Switzer i Combes (2016) badali wpływ ostrego narażenia drogą pokarmową na imidaklopyrd na zachowania związane z wibracjami u *B. impatiens*. Trzmielę posługują się wibracjami, aby strząsnąć pyłek z pręcików kwiatów, na które lądują. Robotnice trzmieli karmiono imidaklopyrdem w dawce 0, 0,0515, 0,515 lub 5,15 ng na 10 µl roztworu cukru. Stężenia były więc następujące: 0; 5,15; 51,5 i 515 ng/g. Spożycie maksymalnej objętości odpowiadało 139% LD50 pszczoły miodnej. Należy jednak pamiętać, że trzmielę są ogólnie mniej wrażliwe (punkt 3.1.1), więc jest to przybliżenie umiarkowanego narażenia. Następnie pozwolono owadom korzystać z pożytku na pomidorze *Solanum lysopersicum* i obserwowano zachowania związane z wibracjami. Przy najniższej dawce imidaklopyrdu, wynoszącej 0,0515 ng, nie stwierdzono wpływu na częstotliwość uderzeń skrzydeł, częstość wibracji lub ich długość. Nie

przeprowadzono analizy wyższych dawek imidaklopyrdu, ponieważ po ich przyjęciu owady rzadko wznawiały korzystanie z pożytku. Zważywszy na stężenia neonikotynoidów w tym badaniu i problemy z dobraniem wielkości próby, trudno wyciągnąć jakieś dodatkowe wnioski poza tym, że narażenie na duże poziomy upośledza umiejętność zbierania pyłku przez trzmielę.

Ogółem, badania te sugerują, że narażenie na neonikotynoidy w nektarze w stężeniach między 0,7-10 ng/g może mieć działanie subletalne na zdolność trzmieli do zbierania pyłku, zarówno na poziomie osobniczym, jak i w całej rodzinie. Niedobór pyłku, skutkujący presją braku zapasów, jest prawdopodobnym mechanizmem ograniczonego wzrostu rodzin i wytwarzania form rozrodczych bez bezpośredniego zwiększenia śmiertelności robotnic. Zważywszy że stężenia na poziomie 10 ng/g mieszczą się w górnych granicach prawdopodobnego narażenia trzmieli w przyrodzie (punkty 2.1.1 i 2.2.4), **istnieje prawdopodobieństwo, że u trzmieli narażonych na neonikotynoidy we współczesnym środowisku rolniczym dochodzi do obniżenia zdolności do zbierania pyłku, co następnie ogranicza ich rozrodczość.**

3.1.2.3 Wpływ na układ odpornościowy pszczoł

Choroby pszczoł (wywołane zarówno przez pasożyty, jak i inne patogeny) uznano za jeden z głównych czynników zmniejszających przeżywalność rodzin hodowlanej pszczoły miodnej w ostatnich latach (van Engelsdorp i in. 2010). Choć dowody na negatywne skutki chorób pochodzą przeważnie z badań na pszczole miodnej, to jednak większość z tych chorób może dotyczyć wiele różnych gatunków pszczoł. Na przykład pasożyt z rodzaju *Microsporidia*, *Nosema ceranae*, pochodzący z Azji, rozprzestrzenił się na pszczoły miodne na całym świecie w wyniku handlu pszczołami. *N. ceranae* wykrywa się obecnie w czterech różnych rodzajach dzikich pszczołowatych (*Bombus*, *Osmia*, *Andrena*, *Heriades*) w całej Europie i obu Amerykach (patrz Goulson i in. 2015). Do przenoszenia chorób pomiędzy pszczołami dzikimi i hodowlanymi może dochodzić w przypadku wspólnego korzystania z kwiatów (Graystock i in. 2015).

Sánchez-Bayo i in. (2016) przeanalizowali dowody na związek między stosowaniem neonikotynoidów a zachorowalnością i przebiegiem chorób u pszczoł. Przed 2013 rokiem przeprowadzono szereg badań

wykazujących związek między narażeniem na neonikotynoidy, a zwiększoną podatnością na choroby u pszczoły miodnej (Vidau i in. 2011; Pettis i in. 2012). Narażenie pszczół miodnych zarażonych *N. ceranae* na imidaklopyryd ograniczało ich zdolność do oczyszczania gniazda, co zwiększało rozprzestrzenianie się *N. ceranae* w obrębie rodziny (Alaux i in. 2010). Dodatkowo narażenie na subletalne dawki imidaklopyrydu lub fipronilu zwiększało śmiertelność robotnic pszczoły miodnej z powodu supresji genów odporności (Aufauvre i in. 2014). Di Prisco i in. (2013) stwierdzili, że subletalne dawki klotianidyny mają negatywny wpływ na odporność przeciwwirusową pszczoły miodnej. Nasilając transkrypcję genów kodujących białka hamujące aktywację immunologicznych szlaków sygnałowych, pestycydy z grupy neonikotynoidów upośledzają odporność i promują namnażanie wirusa zdeformowanych skrzydeł zutajoną infekcją. W badaniach polowych wykryto również korelację dodatnią między narażeniem na neonikotynoidy, a inwazją roztocza *Varroa* i wiramią w rodzinach pszczoły miodnej (Divley i in. 2015; Alburaki i in. 2015). Brak jest dostępnych danych określających wpływ neonikotynoidów na układ odpornościowy dzikich pszczół lub ich zapadalność na choroby w zależności od ilości użytej substancji. **Zważywszy jednak na podobieństwo układu nerwowego i odpornościowego dzikich pszczół do układów pszczoły miodnej, neonikotynoidy najprawdopodobniej mają na nie taki sam wpływ, a więc zwiększają ich podatność na inwazje pasożytów i innych patogenów.**

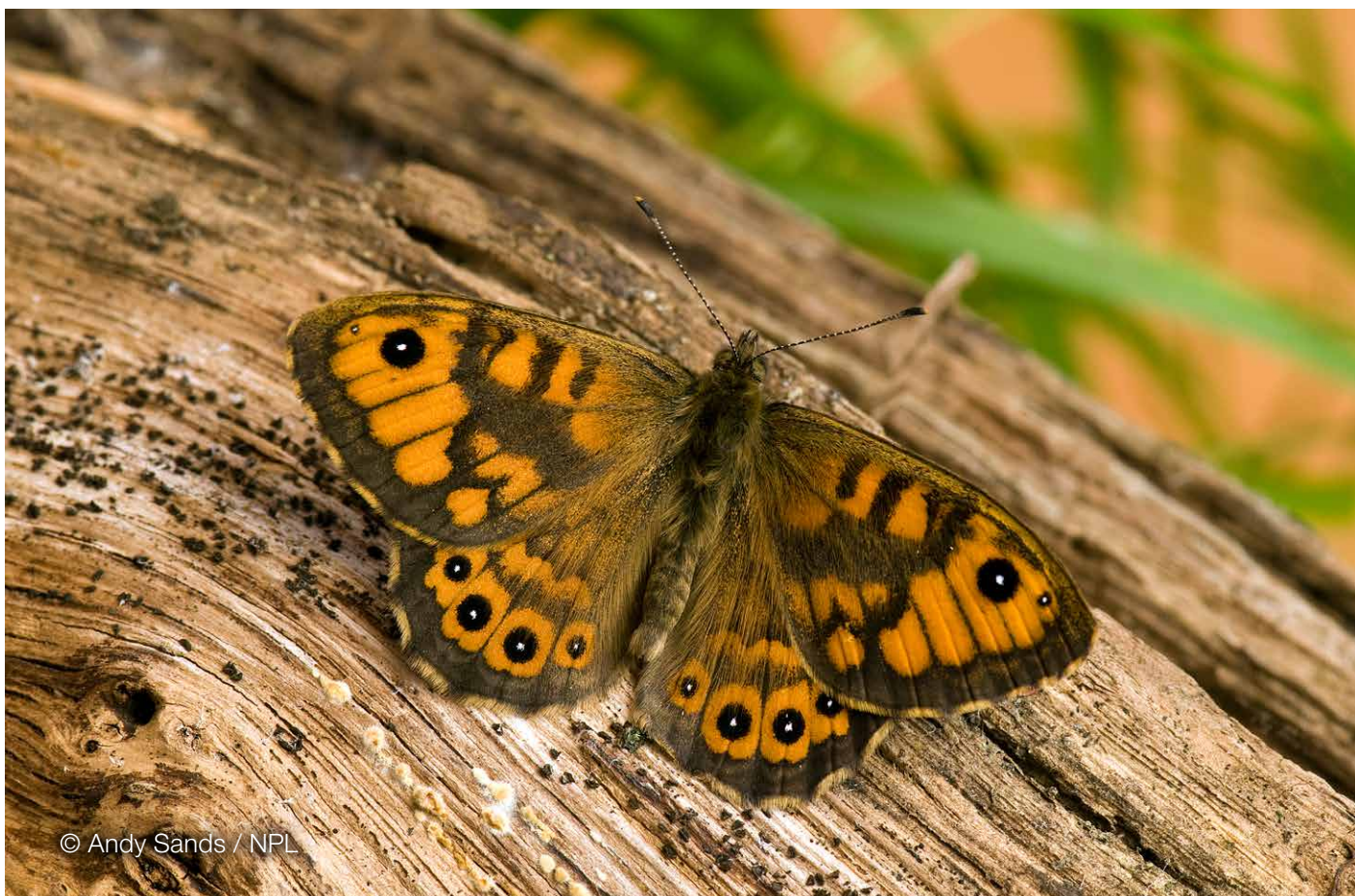
3.1.3 Działanie neonikotynoidów na populację dzikich pszczół

W 2013 roku nie dysponowano wynikami badań na temat działania neonikotynoidów na populację dzikich pszczół. Znane były jedynie trendy w populacji pszczoły miodnej, jako że jest ona gatunkiem hodowlanym. Przeprowadzono jedno badanie, w którym próbowano określić wpływ neonikotynoidów na trendy w populacjach dzikich pszczół. Woodcock i in. (2016) korzystali z zestawu danych dotyczących obecności dzikich pszczół na obszarach o powierzchni 10×10 km w różnych lokalizacjach Wielkiej Brytanii. Zestaw danych opierał się na obserwacji pszczół prowadzonych

przez amatorów i zawodowych entomologów. Jest to prawdopodobnie najpełniejsza baza danych na temat rozmieszczenia pszczół w tym kraju. Wybrano 62 gatunki dzikich pszczół, obliczono odległości między obszarami ich występowania i oceniono ich utrzymywanie się na tych obszarach w ciągu 18 lat – od 1994 do 2011 roku. Zaprawiane neonikotynoidami nasiona rzepaku użyto w Wielkiej Brytanii po raz pierwszy w 2002 roku. Naukowcy przeanalizowali dostępne dane na temat upraw rzepaku i zastosowania w nich neonikotynoidów. Podzielono wybrane 62 gatunki dzikich pszczół na dwie grupy: gatunki korzystające z pożytku na rzepaku (n=34) i pozostałe (n=28). Następnie porównano utrzymywanie się tych gatunków w badanym okresie na terenach, gdzie oczekiwano, że będą narażone na neonikotynoidy. W ciągu 18 lat utrzymywanie się gatunków dzikich pszczół na danym terenie było silnie ujemnie skorelowane z narażeniem na neonikotynoidy w obu grupach gatunków, korzystających i niekorzystających z pożytku na rzepaku, lecz w tej pierwszej efekt był trzy razy silniejszy.

Podział pszczół na korzystające i niekorzystające z pożytku na rzepaku był jednak problematyczny. Wiele gatunków pszczół jest pasożytami obligatoryjnymi innych pszczół i nie zbiera samodzielnie pyłku. Niektóre pasożytnicze pszczoły włączono do grupy korzystających z pożytku na rzepaku (n=2), a inne (n=12) do drugiej grupy na podstawie zaobserwowanego w poprzednim badaniu zbierania nektaru. Niektóre pasożytnicze pszczoły w grupie niekorzystających z pożytków pasożytują na pszczołach włączonych do grupy korzystających z pożytku na rzepaku (n=10/28). Jako że ich liczebność jest w znacznym stopniu uzależniona od liczebności żywiciela, ta klasyfikacja nie ma sensu z perspektywy ekologii. Nie da się określić, czy spadek liczebności był związany ze zwiększoną śmiertelnością, czy też ze spadkiem liczebności żywiciela, co jest bardzo mylące podczas analizy. Dodatkowo, zważywszy na występowanie neonikotynoidów w dzikich roślinach obok gruntów rolnych (punkt 2.2.4), potencjalnie narażenie na neonikotynoidy ze strony rzepaku niekoniecznie odzwierciedla rzeczywiste narażenie na nie dzikich pszczół.

Podsumowując, badanie sugeruje, że gatunki pszczół z większym prawdopodobieństwem zanikają na



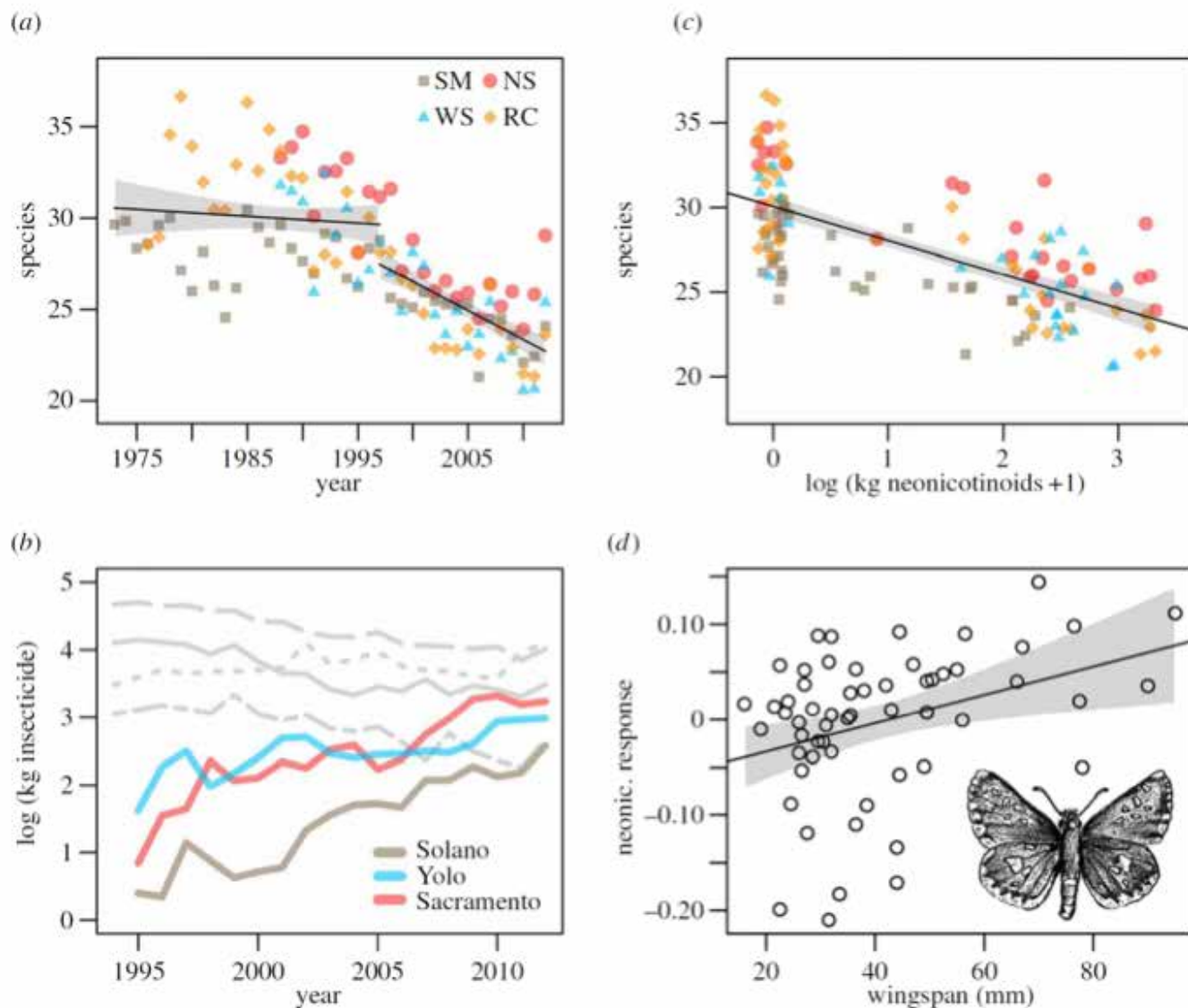
obszarach, gdzie są bardzo narażone na kontakt z neonikotynoidami. Poziom zagrożenia zależy od dawki stosowanej podczas zaprawiania nasion rzepaku. Trzeba też wziąć pod uwagę fakt, że trend ten jest bardziej wyrazisty u gatunków korzystających z pożytku na rzepaku. Choć istnieje zapotrzebowanie na dodatkowe badania, to jednak już dziś **badania korelacyjne sugerują związek między poziomem narażenia na neonikotynoidy a utrzymaniem się pszczół na terenie danego kraju.**

3.2 Wrażliwość motyli dziennych i nocnych na neonikotynoidy

Pisa i in. (2015) dokonali przeglądu dostępnej literatury na temat wpływu neonikotynoidów na *Lepidoptera*, tj. motyle dzienne i nocne (ćmy). W odróżnieniu od badań nad toksycznością tych substancji dla pszczół, bardzo niewiele badań porównawczych poświęcono motyloom.

W większości dotychczasowych badań porównywano liczebność i różnorodność motyli w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych. W gospodarstwach organicznych stwierdzano większą różnorodność gatunków, lecz trudno wyodrębnić konkretne przyczyny takiej obserwacji. Na przykład nieznana jest względna istotność stosowania herbicydów, które ograniczają zasoby pożywienia dla larw oraz osobników dorosłych żywiących się nektarem, wobec bezpośredniej śmiertelności lub działania subletalnego z powodu stosowania pestycydów.

Większość dostępnych badań toksykologicznych dotyczących wrażliwości *Lepidoptera* na neonikotynoidy i fipronil dotyczyła 32 gatunków ciem z 9 rodzin, będących szkodnikami upraw (Pisa i in. 2015). Wyniki badań dotyczących wrażliwości poszczególnych gatunków nie są jednolite. Na przykład wrażliwość dwóch szkodników bawełny na acetamipryd różni się w doniesieniach



Rycina 10. (a) Liczba obserwowanych gatunków motyli na czterech stanowiskach. Zmienność odpowiedzi (w (a) i (c)) jest wykładnikiem różnorodności Shannona, tj. efektywnej liczby gatunków; węzeł splajnu w (a) to 1997 (95% przedział ufności: 1990–2001). (b) Użycie pestycydów z grupy neonikotynoidów w badanych hrabstwach (linie kolorowe) i czterech najczęściej stosowanych klas pestycydów niebędących neonikotynoidami (linie szare). Te ostatnie to, patrząc od góry na poziomie 1995 roku: insektycydy fosforoorganiczne, karbaminiany, pyretroidy i insektycydy chloroorganiczne (linie oznaczają średnie wartości w danym hrabstwie). Należy zwrócić uwagę na różne zakresy lat w pierwszych dwóch wykresach, jako że (b) rozpoczyna się w roku, gdy rozpoczęto stosowanie neonikotynoidów. (c) Związek między gatunkami motyli a neonikotynoidami (wartości w punkcie zerowym rozproszone dla lepszego uwidocznienia). (d) Odpowiedź poszczególnych gatunków na neonikotynoidy zgodnie z przewidywaniami według rozpiętości skrzydeł. Bardziej ujemne wartości na osi y oznaczają gatunki bardziej ujemnie skorelowane z neonikotynoidami. Szare obszary na wykresach (a), (c) i (d) oznaczają 95% przedziały ufności. Źródło: Forister i in. 2016

niemal trzykrotnie ($LC_{50}=11\ 049$ lub $3\ 798$ ppm). Występują też różnice między różnymi etapami rozwoju larwalnego, mianowicie gąsienice na pierwszym etapie rozwoju są 100 razy bardziej wrażliwe niż na piątym etapie rozwoju. Ich LC_{50}/LC_{90} wynoszą kolejno 0,84/1,83 i 114,78/462,11 ppm. Botías i in. (2016) podają wartości LC_{50} dla trzech gatunków ciem będących szkodnikami upraw, przy czym 24-godzinne wartości LC_{50} dla klotianidyny mieszczą się w zakresie od 2400 do 186 000 ppb. Są to ogólnie bardzo wysokie poziomy i istnieje wiele przykładów oporności na neonikotynoidy w populacjach dzikich zwierząt (patrz Pisa i in. 2015). Jako że wiele badanych gatunków ciem to szkodniki ważnych upraw, są one narażone na różne pestycydy od wielu pokoleń i od wielu dziesięcioleci. Dlatego też ich wrażliwość na neonikotynoidy niekoniecznie odzwierciedla wrażliwość dzikich gatunków *Lepidoptera* niebędących szkodnikami.

Od 2013 roku przeprowadzono niewiele badań wrażliwości dzikich *Lepidoptera* na neonikotynoidy. Pecenka i Lundgren (2015) oceniali letalne działanie klotianidyny na gąsienice motyla monarchy, *Danaus plexippus*. Gąsienice na pierwszym etapie rozwoju karmiono zaprawianymi liśćmi przez 36 godzin. Obliczono LC_{50} na poziomie 15,63 ng/g. Dodatkowo mierzono efekty subletalnego działania na rozwój gąsienic już przy 0,5 ng/g. Polegało ono na wydłużeniu pierwszego etapu rozwoju larw oraz zmniejszeniu długości i masy ciała. Te różnice nie utrzymywały się na drugim etapie rozwoju. Yu i in. (2015) karmili gąsienice jedwabnika *Bombyx mori* liśćmi zaprawianymi imidaklopydem i tiametoksamem przez 96 godzin. Uzyskali wartości LC_{50} na poziomie 1270 ng/g dla imidaklopydu i 2380 ng/g dla tiametoksamu. Tak duże rozbieżności w wynikach badań na temat tolerowania neonikotynoidów przez niewielką liczbę gatunków różniących się ekologią sprawiają, że wnikliwa ocena wrażliwości motyli i ciem na neonikotynoidy jest utrudniona. To zagadnienie wymaga wielu dalszych badań.

Wobec małej ilości danych toksykologicznych na temat dzikich motyli i ciem, w dwóch badaniach korzystano ze zbieranych przed dłuższy czas zestawów danych na temat populacji motyli, aby ocenić względny wpływ stosowania neonikotynoidów na terenach rolniczych. Gilburn i in. (2015) korzystali z danych z brytyjskiego programu monitorowania motyli. Dane te dotyczą liczebności motyli w różnych siedliskach w latach 1984–2012. Jest to dłuższy okres niż uwzględniony przez zespół Woodcock i in. w badaniach brytyjskich pszczół (2016, punkt 3.1.3). Naukowcy chcieli uwzględnić 10 lat poprzedzających wprowadzenie neonikotynoidów do brytyjskiego rolnictwa. Wybrano 17 gatunków brytyjskich motyli, w tym głównie generalistów występujących w różnych siedliskach, w tym w siedliskach rolniczych. Model uwzględniał obszar Wielkiej Brytanii, na którym stosuje się neonikotynoidy, oraz zmiany temperatury i warunków pogodowych, jako że są one bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na populację motyli. Zgodnie z oczekiwaniami, temperatury w lecie były silnie dodatnio, a opady deszczu wiosną silnie ujemnie skorelowane ze wskaźnikami populacji motyli. Stosowanie neonikotynoidów również miało znacząco negatywny wpływ na populację motyli, nawet jeśli wyniki zrewiduje się, biorąc pod uwagę wpływ pogody. Wpływ zależał od gatunku motyla, w większości przypadków (14 na 17) był to wpływ negatywny. W ostatnim okresie, w latach 2000–2009, kiedy użycie neonikotynoidów było najintensywniejsze, u 15 na 17 badanych gatunków stwierdzono negatywne trendy w populacji.

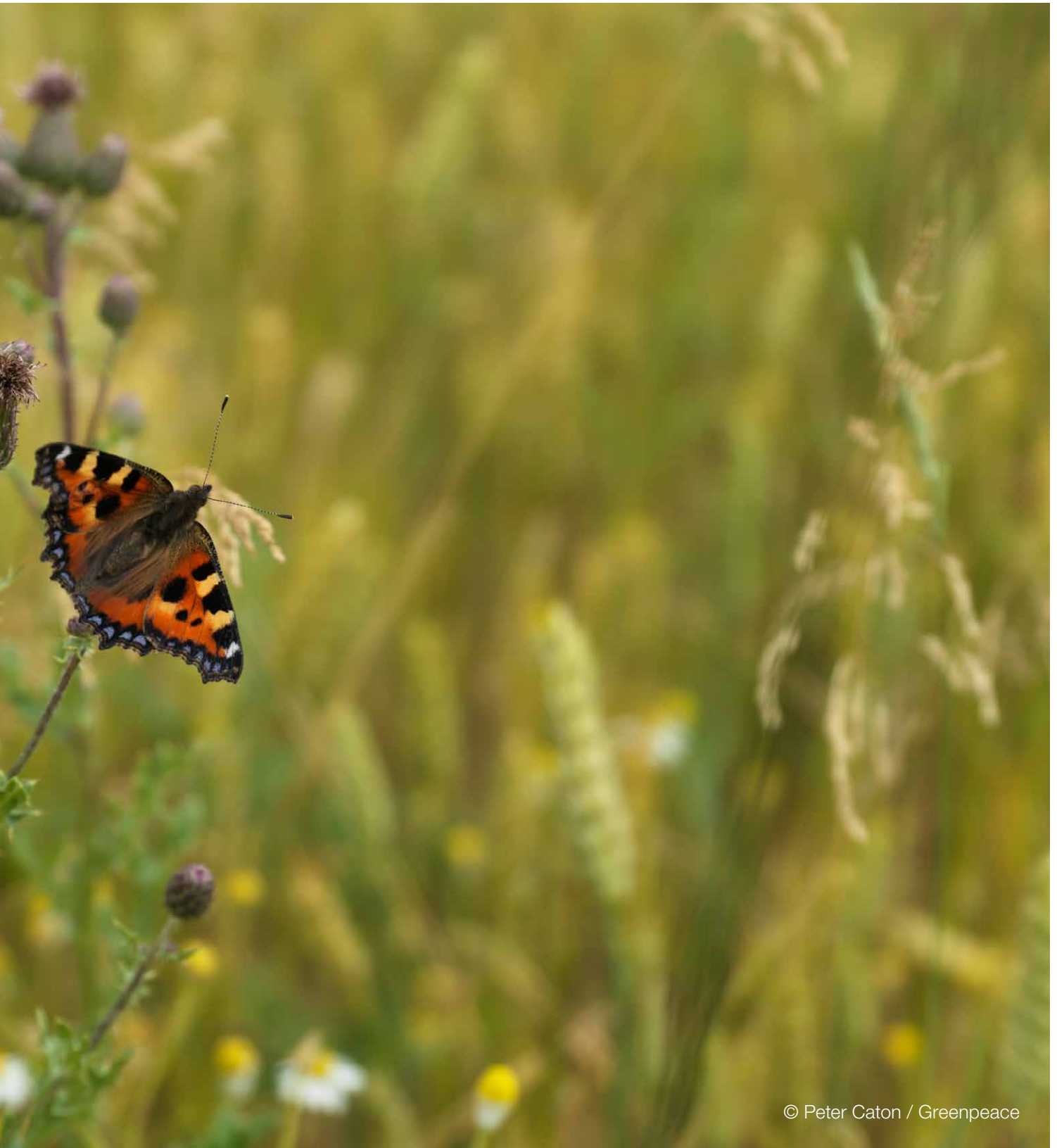
Forister i in. (2016) przeprowadzili podobną analizę wśród nizinnych populacji motyli w Kalifornii. W czterech stanowiskach północnej Kalifornii prowadzono regularny monitoring motyli, polegający na obserwacji ich co dwa tygodnie. Obserwacje te trwały od roku 1972, 1975 lub 1988 roku, zależnie od stanowiska. Stanowiska te znajdowały się na różnych, nachodzących na siebie obszarach, w tym na gruntach rolnych, w siedliskach półnaturalnych i na obszarach zurbanizowanych. Dane wykorzystano do zbadania wpływu corocznej aplikacji neonikotynoidów i innych czynników, takich jak temperatury w lecie i zmiany wykorzystania terenów.

Znaczący spadek liczby gatunków motyli obserwuje się od roku 1997 (Rycina 10a, 1997 rok stanowi punkt przełomowy, wykryty w modelach statystycznych). Neonikotynoidów zaczęto w regionie używać w 1995 roku i od tego momentu ich użycie stale się zwiększało (Rycina 10b). Stwierdzono znaczące, ujemne korelacje między bogactwem gatunków motyli a stosowaniem neonikotynoidów (Rycina 10c), przy czym w największym stopniu negatywny wpływ miały na mniejsze gatunki (Rycina 10d).

Obie te analizy są ściśle skorelowane. Stosowanie neonikotynoidów można połączyć wprost z czynnikiem stanowiącym bezpośrednią przyczynę zmniejszania się populacji motyli. Gilburn i in. zauważają, że jeśli główną przyczyną spadku populacji jest pogorszenie się jakości siedlisk i dostępności roślin stanowiących podstawowe źródło pokarmu, w czym dużą rolę odgrywa intensyfikacja rolnictwa, to poziom zastosowania neonikotynoidów może być właśnie wskaźnikiem, w jakim stopniu rolnictwo zostało zintensyfikowane na danym obszarze, co prowadzi wprost do pogorszenia się jakości siedlisk. Tym samym zastosowanie neonikotynoidów może być przyczyną spadku populacji motyli samo w sobie, ale można też potraktować je jako wymierny wskaźnik intensyfikacji rolnictwa, która ma związek z trendami w populacji motyli. Jako że większość brytyjskich programów monitoringu jest prowadzonych na terenach nierolniczych, Gilburn i in. podejrzewają, że neonikotynoidy rozprzestrzeniają się w środowisku (punkt 2.2.4), a tereny rolnicze działają jak pułapka ekologiczna, w której łatwo o spadek populacji motyli. Badacze nie przychyliili się do hipotezy, jakoby neonikotynoidy były tylko miarą intensyfikacji rolnictwa. Nie przeprowadzono jednak badań pozwalających tę hipotezę zweryfikować.

Podsumowując, niedawne badania wykazały, że *Lepidoptera* mają bardzo zróżnicowaną tolerancję na spożycie neonikotynoidów na etapie larwalnym. Nie ma danych na temat wrażliwości osobników dorosłych na spożycie neonikotynoidów, np. w nektarze roślin uprawnych. **Dwa badania korelacyjne, korzystające z długoterminowych zestawów danych, wykazały silny związek między stosowaniem neonikotynoidów a zmniejszeniem się liczebności i różnorodności gatunków motyli, lecz wymagane są dalsze badania laboratoryjne i terenowe, aby ustalić mechanizm tego zjawiska.**





© Peter Caton / Greenpeace

3.3 Wrażliwość innych bezkręgowców lądowych na neonikotynoidy

Większość przeprowadzonych dotychczas badań wrażliwości owadów na neonikotynoidy koncentrowała się na gatunkach szkodników istotnych gospodarczo upraw. Pisa i in. (2015) przeanalizowali dostępną literaturę na temat wpływu neonikotynoidów na inne bezkręgowce lądowe, a Botías i in. (2016) przedstawili podsumowanie doniesień dotyczących wartości LC50 dla 24 gatunków owadów z czterech rzędów (*Hymenoptera*, *Lepidoptera*, *Hemiptera* i *Coleoptera*), uzyskanych w badaniach prowadzonych w latach 1996–2015. Przegląd zespołu Pisa i in. (2015) nie objął badań przeprowadzonych po 2013 roku, dotyczących wpływu neonikotynoidów na *Neuroptera* (sieciarki), *Hemiptera* (pluskwiaki) i *Syrphidae* (bzygowate).

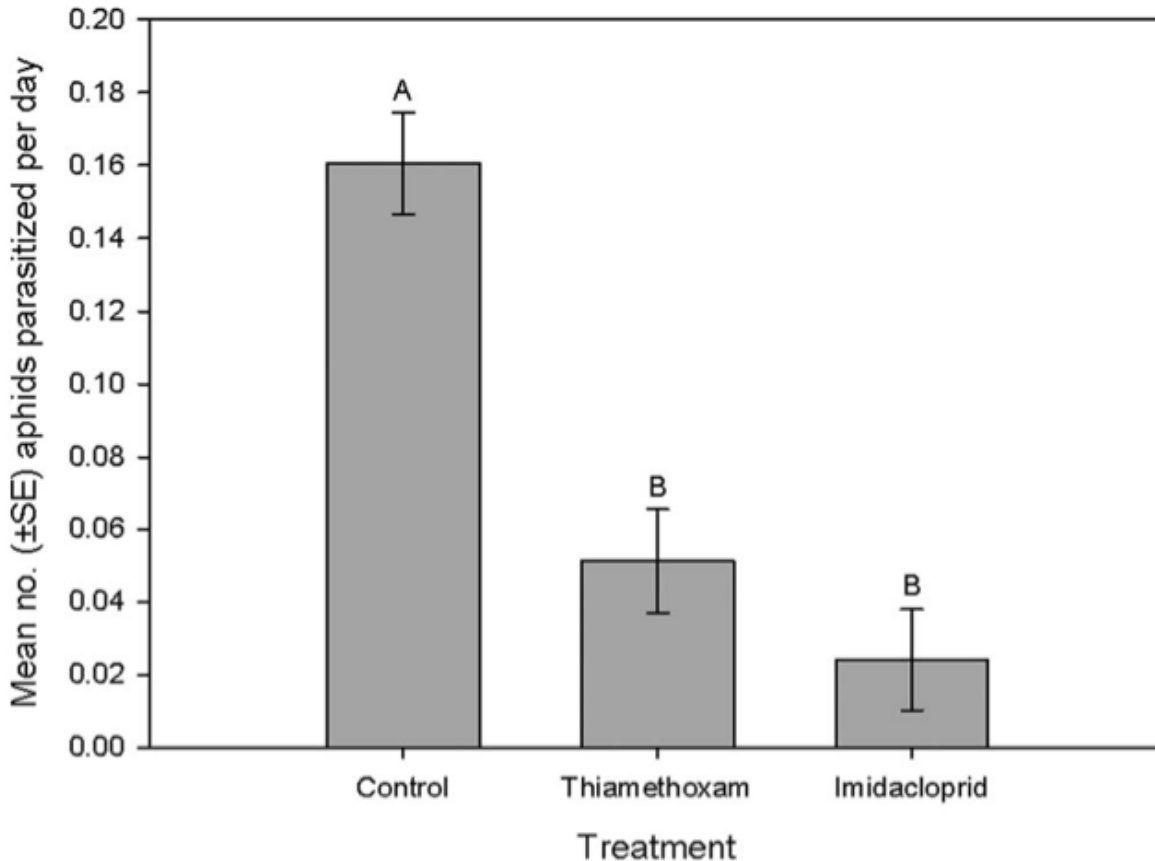
3.3.1 Wrażliwość naturalnych wrogów szkodników

Douglas i in. (2015) badali wpływ soi zaprawianej tiametoksamem na będącego szkodnikiem upraw ślimaka *Deroceras reticulatum* i jednego z żywiących się nim w przyrodzie drapieżników chrząszcza *Chlaenius tricolor*. Prowadzono badania laboratoryjne i polowe. Ślimaki zebrane z pól, gdzie swobodnie żerowały na siewkach soi, zawierały stężenia neonikotynoidów sięgające 500 ng/g, przy średnim stężeniu przekraczającym 100 ng/g po 12 dniach żerowania. W badaniach laboratoryjnych ślimaki żywione siewkami soi miały niską śmiertelność, wynoszącą 6–15% w zależności od natężenia zabiegu przeprowadzonego na nasionach. W warunkach laboratoryjnych 61,5% (n=16/26) chrząszczy *C. tricolor*, które spożyły ślimaki zawierające neonikotynoidy, wykazywało oznaki zaburzeń, podczas gdy w grupie kontrolnej takich chrząszczy nie stwierdzono (n=0/28). Siedem z 16 chrząszczy z zaburzeniami w rezultacie zdechło. W badaniach polowych zaprawiana soja zmniejszała potencjalne zagęszczenie drapieżników żywiących się ślimakami o 31% i ograniczała drapieżnictwo o 33%, skutkując zwiększeniem zagęszczenia ślimaków o 67%.

Douglas i in. stwierdzili, że wprowadzenie neonikotynoidów do upraw soi powoduje zaburzenie łańcucha pokarmowego. Jako że drapieżniki ślimaków są znacznie bardziej narażone niż same ślimaki,

mniejsza presja z ich strony powoduje zwiększenie populacji ślimaków. Zaburzeniem łańcucha pokarmowego można też wyjaśnić wyniki zespołu Szczepaniec i in. (2011). Odkrył on, że opryski wiązów imidaklopydem zwiększają populację przedziorków *Tetranychus schoenei*. Było to spowodowane zmniejszeniem zagęszczenia polujących na nie drapieżników, których śmiertelność zwiększyła się na skutek spożycia zawierających imidaklopyd organizmów. Wiele pożytecznych, drapieżnych bezkręgowców żywi się szkodnikami upraw, na których stosuje się neonikotynoidy, lecz do tej pory nie przeprowadzono innych badań oceniających przenoszenie neonikotynoidów na te drapieżniki poprzez bezpośrednie spożycie przez nich szkodników upraw w ramach ekosystemów rolniczych.

Frewin i in. (2014) badali wpływ zaprawiania soi imidaklopydem i tiametoksamem na osę *Aphelinus certus* będącą parazytoide m szyc. Samice po kopulacji umieszczano na 24 godziny na szalkach Petriego, zawierających liście soi z populacją mszyc *Aphis glycines*. Następnie monitorowano szalki przez osiem dni i rejestrowano liczbę żywych, martwych i młodocianych mszyc. Stwierdzono wyraźny wpływ pestycydów na proporcję mszyc zarażonych parazytoide, niezależnie od preparatu neonikotynoidów zastosowanego w powłoce nasion (Rycina 11). Frewin i in. podają dwie możliwe przyczyny tego zjawiska. Po pierwsze, narażenie na pozostałości neonikotynoidów w mszycy będącej żywicielem może zwiększać śmiertelność niedojrzałych parazytoidów lub połączony wpływ tych pozostałości i obecności parazytoidów może zwiększać śmiertelność mszyc. Po drugie, *A. certus* może unikać zatrutych pestycydami mszyc jako żywicieli. Wiadomo, że gatunki z rodzaju *Aphelinus* mają wbudowane mechanizmy oceny odpowiedniości żywiciela. Możliwe, że wykorzystują w tym celu hormony mszyc związane ze stresem lub odpowiedzią immunologiczną. Jako że zwalczanie szkodliwych owadów metodami biologicznymi wymaga zwiększenia liczebności os będących parazytoidami we wczesnych etapach sezonu, powlekanie nasion neonikotynoidami i ograniczanie relacji pasożytniczych może potencjalnie utrudnić osom *A. certus* zmniejszanie populacji mszyc żywiących się soją. Nie wiadomo, czy pochodzenie ze skażonych organizmów żywicieli wywiera na *A. certus* wpływ letalny lub subletalny, ograniczający sprawność owada.



Rycina 11. Nasilenie pasożytnictwa (\pm błąd standardowy) *Aphelinus certus* na *Aphis glycines* żerujących na soi wyhodowanej z nasion niezaprawianych środkiem owadobójczym (kontrola) albo soi wyhodowanej z nasion zaprawianych imidakloprydem lub tiametoksamem. Słupki oznaczone tą samą literą nie różnią się między sobą istotnie (test Tukeya rozsądnej istotnej różnicy, $\alpha = 0,05$), $n=35$ dla każdego preparatu. Źródło: Frewin i in. 2014.

Podsumowując, jeśli gatunki drapieżne są wrażliwsze na neonikotynoidy od gatunków szkodników, jak na przykład owady będące drapieżnikami grup niebędących owadami (np. mięczaków lub pajęczaków o odmiennych neuroreceptorach, a tym samym niższej wrażliwości na neonikotynoidy) istnieje ryzyko niezamierzonego, negatywnego oddziaływania na populacje pożytecznych, naturalnych wrogów szkodników.

3.3.2 Wrażliwość mrówek na neonikotynoidy

Dysponujemy wynikami czterech badań wpływu neonikotynoidów na mrówki. Galvanho i in. (2013) narazili mrówki parasolowe *Acromyrmex subterraneus*

na działanie imidakloprydu i badali wpływ na czyszczenie się. Jest to ważne zachowanie, ograniczające rozprzestrzenianie się patogenów grzybiczych. Stosowano dawki 10, 20 lub 40 ng imidakloprydu na owada. Wybrano tylko robotnice o szerokości głowy wynoszącej 1,6–2,0 mm. To duży rozmiar względem większości gatunków mrówek na świecie. Przy tej wielkości głowy masa pojedynczej mrówki wynosi około 10–20 mg. Stosując 10–40 ng substancji czynnej na 0,015 g mrówki uzyskano więc stężenia 666,7–666,7 ng/g. Najniższa dawka wystarczyła, aby znacząco zaburzyć czyszczenie się mrówek. Śmiertelności nie oceniano, lecz we wcześniejszym badaniu ustalono, że osobniki innego gatunku mrówki parasolowej, *Atta sexdens*, wykazywały znacząco zwiększoną śmiertelność po

narażeniu ich na patogen grzybiczy i imidaklopyrd w stężeniu 10 ng/owada w porównaniu do mrówek narażonych tylko na patogen grzybiczy (Santos i in. 2007).

Barbieri i in. (2013) narażali kolonie południowej mrówki *Monomorium antarcticum* (rdzennej w Nowej Zelandii, gdzie prowadzono badanie) i inwazyjnej, argentyńskiej mrówki *Linepithema humile* na imidaklopyrd w wodzie z cukrem w stężeniu 1,0 µg/ml, tj. 1000 ng/g. Narażenie na neonikotynoid wpływało na względną agresywność, przy czym rdzenne mrówki stawały się mniej agresywne od mrówek inwazyjnych, co narażało je na agresję tych drugich i zmniejszało szansę na przeżycie. W przypadku mrówki południowej nie stwierdzono ograniczenia rozrodu. Narażenie na działanie neonikotynoidów mrówki argentyńskiej ograniczało jej rozrodczość o 50% w porównaniu z koloniami kontrolnymi. Nie stwierdzono wpływu neonikotynoidów na zdolność do żerowania.

Wang i in. (2015a) żywili kolonie mrówek ognistych *Solenopsis invicta* wodą z cukrem w stężeniu 0,01, 0,05, 0,25, 0,50 lub 1,00 µg/ml, czyli w zakresie 10–1000 ng/g. Oceniano ilościowo wpływ na żerowanie, kopanie i odżywienie. Mrówki narażone na stężenie 10 ng/g spożywały znacząco więcej wody z cukrem i wykazywały większą aktywność podczas kopania. Stężenia większe lub równe 250 ng/g znacząco obniżały spożycie wody z cukrem oraz aktywność podczas kopania i żerowania.

Wang i in. (2015b) karmili wodą zawierającą imidaklopyrd w stężeniu 10 lub 250 ng/g królowe *Solenopsis invicta* po kopulacji. Żadne ze stężeń nie zwiększało śmiertelności królowych, lecz oba znacząco wpływały na ich zdolność do opieki nad lęgami i czas reakcji na światło, co stanowi informację o poważnych nieprawidłowościach i zagrożeniu kolonii. U mrówek z rodzaju *Solenopsis* jaja są czyszczone i powlekane lepłą substancją, która utrzymuje właściwy poziom wilgoci i umożliwia szybki transport pakietów jaj. Przy stężeniu 250 ng/g liczba pakietów jaj była znacząco większa (co wskazuje na pogorszenie opieki nad jajami i konieczność większych nakładów pracy podczas transportu lęgu). To sugeruje zmniejszoną zdolność królowych do czyszczenia jaj. Zaniedbane jaja są narażone na pleśnienie, co spowalnia wzrost kolonii. Kolonie narażone na 10 ng/g nie wykazywały różnic w liczebności pakietów jaj w porównaniu z kontrolą.

Podczas powyższych badań na mrówkach wykazano ogólnie bardzo wysokie stężenia neonikotynoidów, w większości przypadków znacznie większe od oczekiwanego w warunkach terenowych (punkty 2.1 i 2.2). Nie stwierdzono znaczącego działania subletalnego dawki 10 ng/g, która może występować w warunkach terenowych. Wymagane są dalsze badania laboratoryjne i terenowe z użyciem niższych stężeń, aby uzyskać wiedzę o prawdopodobnym oddziaływaniu neonikotynoidów na mrówki.

3.3.3 Wrażliwość dżdżownic na neonikotynoidy

Pisa i in. (2015) dokonali przeglądu dostępnej literatury na temat wpływu neonikotynoidów na dżdżownice. Dżdżownice mają podobne szlaki neuronalne do owadów, dlatego istnieje bardzo wysokie ryzyko ich narażenia na działanie neonikotynoidów poprzez bezpośredni kontakt z glebą, spożycie materiału organicznego lub roślinnego (Wang i in. 2012, punkt 2.2.1). Zgodnie z doniesieniami z 13 badań, LC50 neonikotynoidów u dżdżownic wynosi od 1,500 do 25,500 ppb, średnia wynosi 5,800 ppb a mediana: 3,700 ppb (patrz Pisa i in. 2015). Mało jest dostępnych badań wpływu subletalnego na rozmnażanie. Negatywny wpływ na tworzenie kokonów stwierdzano przy 300–7000 ppb zależnie od gatunku dżdżownicy i typu neonikotynoidu.

Dysponujemy niewieloma danymi na temat realnego narażenia dżdżownic na neonikotynoidy w warunkach polowych. Stężenia neonikotynoidów w glebie mieszczą się w zakresie 2–50 ng/g, zależnie od składu materiału organicznego, dawki i innych czynników, chociaż mogą być znacznie wyższe w bezpośrednim otoczeniu zaprawionych nasion (punkt 2.2.1). Douglas i in. (2015) wykryli neonikotynoidy w dżdżownicach występujących na polach soi zaprawianej tiametoksamem. Dwie dżdżownice pobrano przypadkowo podczas pozyskiwania próbek gleby. Stwierdzono, że te dwie próbki zawierają całkowite stężenia neonikotynoidów na poziomie 54 i 279 ppb, co odpowiada ~16 i ~126 ng na dżdżownicę. W obu próbkach dżdżownic stwierdzono oprócz tiametoksamu i jego metabolitów imidaklopyrd na poziomie 25 i 23 ppb. Na polach, z których pozyskano próbki, nie stosowano imidaklopyrd przez przynajmniej rok, co stanowi dodatkowy dowód na utrzymywanie się neonikotynoidów w glebie przez

ponad rok (punkt 2.2.1). Jako że pozyskano tylko żywe dżdżownice, a próba była niewielka, nie jest jasne, czy może być ona traktowana jako odzwierciedlenie typowych stężeń, czy też zazwyczaj są one większe. Jeśli na przykład dżdżownice zostaną narażone na wyższe, zwiększające śmiertelność poziomy pestycydów, nie ma możliwości pozyskania ich próbek do analizy pozostałości. Niezbędne są dalsze badania tego zagadnienia.

Badania pozwalają lepiej wyjaśnić negatywny wpływ neonikotynoidów na organizmy niedocołowe. Większość badanych grup cechuje się niższą od pszczoł wrażliwością na neonikotynoidy. Różnica ta wynosi czasem kilka rzędów wielkości. Istotne mogą być poziomy troficzne badanych organizmów, przy czym owady z niskich poziomów troficznych mają lepszą zdolność oczyszczania organizmu z neonikotynoidów jako obligatoryjni roślinożercy, często stykający się ze szkodliwymi metabolitami roślin. Ustalono, że pestycydy najsilniej uderzają w drapieżne owady.

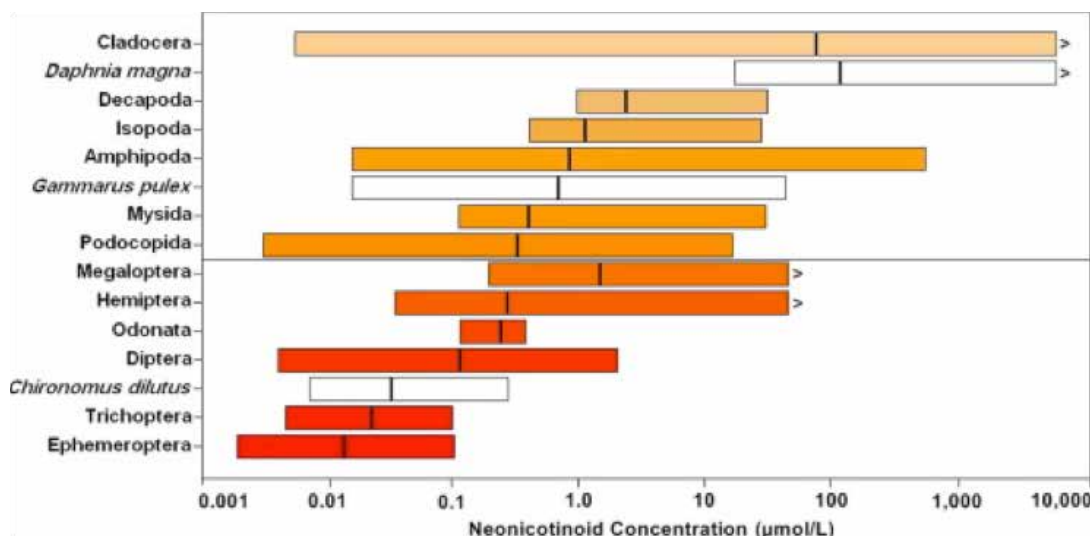
3.4 Wrażliwość wodnych bezkręgowców na neonikotynoidy

Najbardziej wszechstronny przegląd intensywnego i długotrwałego działania neonikotynoidów na bezkręgowce wodne przeprowadził zespół Morrissey i in. (2015). Praca ta stanowi kontynuację i aktualizację przeglądów dokonanych przez zespoły Goulson (2013), Mineau i Palmer (2013) oraz Vijver i van den Brink (2014). Morrissey i in. analizowali 214 testów toksyczności ostrej i przewlekłej po narażeniu na imidaklopyrd, acetamipryd, klotianidynę, dinotefuran, tiaklopyrd i tiametoksam u 48 gatunków bezkręgowców wodnych z 12 rzędów (*Crustacea: Amphipoda* (11,7% testów), *Cladocera* (21,0%), *Decapoda* (1,9%), *Isopoda* (4,2%), *Mysida* (7,9%), *Podocopida* (12,6%), *Insecta: Diptera* (22,9%), *Ephemeroptera* (6,5%), *Hemiptera* (3,7%), *Megaloptera* (1,9%), *Odonata* (1,9%), *Trichoptera* (3,3%)) na podstawie recenzowanych i rządowych badań. Uwzględniano wartości LC50 i ED50. Neonikotynoidy były w różnym stopniu toksyczne dla bezkręgowców wodnych. Obserwowane różnice sięgały sześciu rzędów wielkości (Rycina 12). Ogólnie stwierdzono większą wrażliwość owadów niż skorupiaków, szczególnie wrażliwe okazały się *Ephemeroptera* (jętki), *Trichoptera* (chruściki) i *Diptera* (muchówki, w szczególności ochotkowate, *Chironomidae*).

Wioślarki *D. magna* z grupy *Cladoceran* są najczęściej stosowanym organizmem modelowym. Użyto ich w 34 na 214 testów toksyczności (16%). Powszechnie stosowanie tego gatunku wynika z włączenia go do światowych norm oceny większości (82%) dostępnych w handlu chemikaliów (Sánchez-Bayo 2006). Jej wrażliwość na neonikotynoidy jest zmienna, lecz średnia krótkoterminowa wartość L[E]C50 jest przynajmniej dwa lub trzy rzędy wielkości większa niż w przypadku wszystkich innych badanych grup bezkręgowców (Rycina 12). Ten fakt podkreśliło kilku autorów (np. Beketov i Liess 2008), którzy uważają, że wobec niskiej wrażliwości *D. magna* na neonikotynoidy należy wybrać inny organizm modelowy, np. muchówkę, do badań tej klasy pestycydów. Odzwierciedla to najnowsze badanie, w którym wyliczono LC50 szeregu bezkręgowców wodnych, nieuwzględnionych w przeglądzie zespołu Morrissey i in. De Perre i in. (2015) nie stwierdzili letalnego ani subletalnego działania klotianidyny na *D. magna* w stężeniach przekraczających 500 µg/l. Natomiast *C. dilutus* wykazał działanie EC50 przy stężeniach 1,85 µg/l i LC50 przy stężeniach 2,32 µg/l, co jest zgodne z wcześniejszymi wynikami (Rycina 12).

Kunce i in. (2015) badali wpływ neonikotynoidów na podobny gatunek, *C. riparius*. Larwy owadów na pierwszym etapie rozwoju narażono na tiaklopyrd i imidaklopyrd na poziomie 50% 96-godzinnej wartości LC50 podanej w literaturze, tj. 2,3 µg/l tiaklopyrdy i 2,7 µg/l imidaklopyrdy. Trzydniowe larwy narażano pulsacyjnie na trzy stężenia przez godzinę, a następnie przenoszono do czystej wody i umożliwiano normalny rozwój. Godzina narażenia na działanie tiaklopyrdy znacząco zmniejszyła odsetek przeżywających do dorosłości larw z 94% w grupie kontrolnej do 68%. Jednakże sam imidaklopyrd lub imidaklopyrd w połączeniu z tiaklopyrdem nie miały obserwowalnego oddziaływania. Nie stwierdzono różnicy w poziomie wytwarzania jaj przez osobniki dorosłe.

Te niedawne badania w połączeniu z pracą przeglądową zespołu Morrissey i in. potwierdzają tezę, że larwy owadów są najbardziej wrażliwe na neonikotynoidy w środowisku wodnym. Morrissey i in. stwierdzają we wnioskach, że przewlekłe narażenie na stężenia neonikotynoidów przekraczające 0,035 µg/l lub narażenie ostre na stężenia powyżej 0,200 µg/l mogą być szkodliwe dla wrażliwych bezkręgowców wodnych. Te wyniki są zgodne z wartościami sugerowanymi przez



Rycina 12. Zakresy toksyczności neonikotynoidów (L[E]C50: 24–96 h w µmol/l; uwzględniono wartości letalne i subletalne) we wszystkich rzędach bezkręgowców wodnych. Jako odniesienie ukazano trzy najczęściej stosowane w testach gatunki (białe słupki) z rzędów: Cladocera (*Daphnia magna*), Amphipoda (*Gammarus pulex*) i Diptera (*Chironomus dilutus*), aby zilustrować różnice we wrażliwości gatunków. Linie pionowe w obrębie słupków oznaczają średnie geometryczne wyników testów. Stężenia podano w molach (µmol/l), aby ujednocilić dane dla neonikotynoidów o różnych masach molekularnych. Można przeliczyć te jednostki na µg/l (ppb), mnożąc stężenie molowe przez masę molową danego neonikotynoidu. Źródło: Morrissey i in. 2015

zespół Vijver i van der Brink (2014) dla imidaklopyrydu, wynoszącymi 0,013–0,067 µg/l. Opublikowano szereg wartości referencyjnych jakości wody, które wyznaczono na podstawie badań organów rządowych i niezależnych naukowców w Europie i Ameryce Północnej (Tabela 8). Większość tych badań dotyczyła oceny samego imidaklopyrydu. Wartości dopuszczalnych długoterminowych stężeń różnią się nawet o trzy rzędy wielkości, od 0,0083 µg/l w Holandii (RIVM 2014; Smit i in. 2014) do 1,05 µg/l w USA. Istnieją znaczące różnice w przyjętych metodach obliczania tych wartości referencyjnych, przy czym wartość EPA w USA jest prawdopodobnie oparta o wyniki badań na *D. magna*, czyli gatunku, o którym wiadomo, że jest stosunkowo mało wrażliwy na neonikotynoidy (Morrissey i in. 2015).

Obecne poziomy neonikotynoidów w siedliskach wodnych notorycznie przekraczają ten próg. Morrissey

i in. dokonali przeglądu 29 badań z 9 krajów i stwierdzili, że średnia geometryczna stężenie w wodach powierzchniowych wynosi 0,130 µg/l (73,6%, w 14/19 badań powyżej progu 0,035 µg/l) a średnia geometryczna szczytowych stężeń w wodach powierzchniowych wynosi 0,630 µg/L (81,4%, w 22/27 badań powyżej 0,200 µg/l). Również po 2015 roku pojawiły się doniesienia, nieuwzględnione w przeglądzie zespołu Morrissey i in., zgodnie z którymi stężenia neonikotynoidów przekraczają ten próg (patrz punkt 2.2.2). Qi i in. (2015) i Sadaria i in. (2016) wykryli poziomy neonikotynoidów powyżej tego progu w ściekach na dopływie i odpływie z oczyszczalni ścieków w Chinach i USA. Benton i in. (2015) stwierdzili, że średnie i szczytowe stężenia imidaklopyrydu przekraczają wartości progowe w strumieniach górskich w Appalachach (USA). Natomiast stwierdzono niskie średnie stężenia neonikotynoidów w wodach stojących i rowach przy



© Ingo Arndt / NPL

gruntach rolnych w Ontario, w Kanadzie (Schaafsma i in. 2015) i mokradłach w Iowa, USA (Smalling i in. 2015). De Perre i in. (2016) wykryli szczytowe stężenia klotianidyny wynoszące 0,060 µg/l w wodach gruntowych pod polami kukurydzy niedługo po obsianiu. W badaniach ogólnokrajowych zespół Hladik i Kolpin (2016) stwierdził, że średnia arytmetyczna stężeń w strumieniach w USA jest niewiele niższa niż próg przewlekłego narażenia, wynoszący 0,030 µg/l. Natomiast szczytowe stężenia wynosiły 0,425 µg/l. Székács i in. (2015) również przeprowadzili ogólnokrajowe badania cieków wodnych na Węgrzech. Wykryli stężenia klotianidyny na poziomie 0,017-0,040 µg/l, a tiametoksamu na poziomie 0,004-0,030 µg/l. Najwyższe stężenia, wynoszące 10-41 µg/l, wykrywano tylko w tymczasowych, płytkich zbiornikach wodnych, powstających po ulewach wczesnym latem.

Spśród tych niedawnych badań i badań zawartych w przeglądzie zespołu Morrissey i in. 2015, 65,3% (17/26) wskazuje na średnie stężenia neonikotynoidów przekraczające próg narażenia przewlekłego, 0,035 µg/l, a 73,5% (25/34) wskazuje na szczytowe stężenia neonikotynoidów przekraczające próg narażenia ostrego, 0,200 µg/l. Liczba krajów, w których prowadzono badania oraz ich rozmieszczenie (Australia, Brazylia, Chiny, Holandia, Japonia, Kanada, Stany Zjednoczone, Szwajcaria, Szwecja, Węgry i Wietnam) oznacza ogólnoswiatowe zanieczyszczenie neonikotynoidami cieków wodnych wszelkiego typu w stężeniach o znanej szkodliwości dla wrażliwych bezkręgowców wodnych. Jest to obecnie ogólnoswiatowy problem, który prawdopodobnie znacząco wpłynie na liczebność owadów wodnych oraz dostępność pokarmu dla żywiących się nimi drapieżników, w tym ryb, ptaków i płazów.

Tabela 8. Podsumowanie publikacji dotyczących środowiskowych wartości referencyjnych stężeń neonikotynoidów (oprócz imidakloprydu) w środowisku słodkowodnym w porównaniu ze średnimi (przewlekłymi lub długoterminowymi) lub maksymalnymi (ostrymi lub szczytowymi) stężeniami narażenia. Wartości referencyjne umieszczono w porządku malejącym. Źródło: Morrissey i in. (2015)

Źródło	Średnie stężenie (µg/l)	Maksymalne stężenie (µg/l)	Uzasadnienie
EPA (2014) USA	1,05	35,0	Poziom odniesienia dla organizmów wodnych – metody przeprowadzania badania niepewne
CCME (2007) Kanada	0,23		EC15 najbardziej wrażliwego z dwóch gatunków słodkowodnych testowanych ze wskaźnikiem oceny 10
EFSA (2008) Unia Europejska		0,2	Stężenie, przy którym nie obserwuje się szkodliwego wpływu (NOEC) (0,6 µg/l) z niemieckiego badania mikroukładu 21 d, gdzie zastosowano wskaźniki oceny 1–3 na podstawie rozważań ekspertów
RIVM (2008) Holandia	0,067		Maksymalnie dozwolone stężenie (MPC) przy długoterminowym narażeniu, określone na podstawie najniższej wartości NOEC uzyskanej w badaniach toksyczności przewlekłej ze wskaźnikiem oceny 10
Morrissey i in. (2015)	0,035	0,2	Dolny przedział ufności HC5 z SSD uzyskanych z 137 badań toksyczności ostrej (LC50) i 36 badań toksyczności przewlekłej (L[E]C50) wszystkich neonikotynoidów; dane ważone i znormalizowane według imidakloprydu i dotyczące wszystkich dostępnych gatunków badanych
RIVM (2014) Holandia (zobacz Smit i in. 2014)	0,0083		Zaktualizowane MPC dla długoterminowego narażenia uzyskane na podstawie badań przewlekłego narażenia metodą rozkładu wrażliwości gatunków (SSD) i stężenia ryzyka (HC5) zastosowane do wartości NOEC/LC10/EC10 ze wskaźnikiem oceny 3
Mineau i Palmer (2013)	0,0086 lub 0,029		Wyższy z dwóch określonych empirycznie stosunków ostrego do przewlekłego narażenia zastosowany do najbardziej wrażliwego spośród 8 badanych do tej pory organizmów wodnych; lub HC5 z SSD na podstawie NOEC z badań przewlekłego narażenia 7 pojedynczych gatunków i 1 zbiorowiska gatunków

3.5 Wrażliwość ptaków i nietoperzy na neonikotynoidy

Gibbons i in. (2015) dokonali przeglądu bezpośrednich i pośrednich efektów oddziaływania neonikotynoidów i fipronilu na kręgowce, w tym ssaki, ryby, ptaki, płazy i gady. Wartości LD₅₀ imidaklopyrydu, klotianidyny i fipronilu są dostępne dla 11 gatunków ptaków (Tabela 9). Występuje znacząca zmienność w dawce śmiertelnej tych związków wobec ptaków, zarówno dotycząca gatunków ptaków, jak i typu pestycydu. Korzystając z klasyfikacji toksyczności US EPA (2012) (patrz legenda Tabeli 9), ustalono, że toksyczność imidaklopyrydu jest umiarkowana do silnej, klotianidyna jest praktycznie nietoksyczna do umiarkowanie toksycznej, a fipronil jest praktycznie nietoksyczny do silnie toksycznego.

Tabela 9. Pojedyncza (ostra) dawka LD₅₀ dla poszczególnych gatunków ptaków (mg/kg, jednostka równoważna ppm) dla imidaklopyrydu, klotianidyny i fipronilu. Klasyfikacja toksyczności wg. US EPA (2012): PNT praktycznie nietoksyczny, ST lekko toksyczny, MT umiarkowanie toksyczny, HT silnie toksyczny, VHT bardzo silnie toksyczny. Wobec ptaków: PNT >2 000, ST 501–2 000, MT 51–500, HT 10–50, VHT <10. Źródło: Gibbons i in. (2015)

Gatunek	Pestycyd	LD ₅₀	Źródło
Krzyżówka, <i>Anas platyrhynchos</i>	Imidaklopyryd	283 (MT)	Fossen (2006)
Kuropatwa zwyczajna, <i>Perdix perdix</i>	Imidaklopyryd	13,9 (HT)	Anon (2012)
Przepiór wirginijski, <i>Colinus virginianus</i>	Imidaklopyryd	152 (MT)	SERA (2005)
Przepiórka japońska, <i>Coturnix japonica</i>	Imidaklopyryd	31 (HT)	SERA (2005)
Gołąb miejski, <i>Columba livia</i>	Imidaklopyryd	25-50 (HT)	SERA (2005)
Wróbel domowy, <i>Passer domesticus</i>	Imidaklopyryd	41 (HT)	SERA (2005)
Kanarek, <i>Serinus canaria</i>	Imidaklopyryd	25-50 (HT)	SERA (2005)
Krzyżówka, <i>Anas platyrhynchos</i>	Klotianidyna	>752 (ST)	Komisja Europejska (2005)
Przepiór wirginijski, <i>Colinus virginianus</i>	Klotianidyna	>2 000 (PNT)	Mineau i Palmer (2013)
Przepiórka japońska, <i>Coturnix japonica</i>	Klotianidyna	423 (MT)	Mineau i Palmer (2013)
Krzyżówka, <i>Anas platyrhynchos</i>	Fipronil	2 150 (PNT)	Tingle i in. (2003)
Bażant zwyczajny, <i>Phasianus colchicus</i>	Fipronil	31 (HT)	Tingle i in. (2003)
Kuropatwa czerwona, <i>Alectoris rufa</i>	Fipronil	34 (HT)	Tingle i in. (2003)
Przepiór wirginijski, <i>Colinus virginianus</i>	Fipronil	11,3 (HT)	Tingle i in. (2003)
Gołąb miejski, <i>Columba livia</i>	Fipronil	>2 000 (PNT)	Tingle i in. (2003)
Spizela polna, <i>Spizella pusilla</i>	Fipronil	1 120 (ST)	Tingle i in. (2003)
Zeberka timorska, <i>Taeniopygia guttata</i>	Fipronil	310 (MT)	Kitulagodage i in. (2008)



Wiele z tych badanych gatunków żywi się ziarnem i można oczekiwać, że będą żerować na nasionach krótko po wysianiu. Zależnie od gatunku rośliny uprawnej, a tym samym od wielkości nasion, na zaprawiane neonikotynoidami nasiono przypada 0,2-1 mg substancji czynnej. Goulson (2013) wyliczył, że wystarczy, aby żywiąca się ziarnem, ważąca 390 g kuropatwa zjadła mniej więcej pięć nasion kukurydzy, sześć nasion buraka cukrowego lub 32 nasion rzepaku, aby przyjąć nominalną dawkę LD50. Zgodnie z danymi szacunkowymi Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska, przy zalecanej gęstości wysiewu, mniej więcej 1% wysiewanych nasion jest dostępnych dla żerujących kręgowców. Goulson wyliczył na tej podstawie, że zaprawiane nasiona są dostępne w ilości pozwalającej dostarczyć LD50 około 100 kuropatwom na hektar kukurydzy lub rzepaku. Jako że kuropatwa zwyczajna zwykle spożywa około 25 g nasion dziennie, występuje wyraźne ryzyko spożycia neonikotynoidów przez żywiące się ziarnem ptaki. Nie dysponujemy wynikami badań, które dowodziłyby spożycia takich nasion przez ptaki z obszarów wiejskich w warunkach polowych lub oceniały ilościowo spożycie takich nasion w porównaniu z nasionami niezaprawianymi. Niezbędne jest dalsze badanie tego zagadnienia,

aby określić całkowite narażenie na kontakt z neonikotynoidami tą drogą.

Oprócz badania działania letalnego przeprowadzono szereg badań działania subletalnego neonikotynoidów spożywanych przez ptaki (Tabela 10). Stwierdzono, że wróbel domowy może z ich powodu mieć zaburzoną koordynację ruchów i tracić zdolność do lotu, a u przepiórki japońskiej i kuropatwy czerwonej wykryto – kolejno – uszkodzenie DNA i obniżenie odpowiedzi immunologicznej. Przy stężeniach niższych od dawki śmiertelnej występuje wiele takich działań subletalnych. Pojedyncza dawka 41 mg/kg imidakloprydu przy podaniu drogą pokarmową jest dla wróbla domowego śmiertelna, natomiast znacząco niższa dawka (6 mg/kg) może zaburzać koordynację i powodować niezdolność do lotu (Cox 2001). Imidaklopryd jest silnie toksyczny dla przepiórki japońskiej przy wartości LD50 wynoszącej 31 mg/kg. Z kolei przewlekłe, codzienne dawki wynoszące zaledwie 1 mg/kg mogą powodować zaburzenia czynności jąder, uszkodzenia DNA u samców i ograniczenie wielkości zarodka po kopulacji narażonego na kontakt z neonikotynoidami samca z samicą kontrolną (Tokumoto i in. 2013).

Oprócz badań przeanalizowanych przez zespół Gibbons i in. dostępne jest jedno dodatkowe badanie oceniające wpływ spożycia neonikotynoidów na ptaki. Lopez-Antia i in. (2015) karmiły kuropatwy czerwone *Alectoris rufa* zaprawianym imidaklopyrydem ziarnem pszenicy przez 25 dni na jesieni i dodatkowo przez 10 dni na wiosnę, co odpowiada zbiorom zbóż w Hiszpanii. Jedna grupa otrzymywała nasiona zaprawiane w zalecanych dawkach, a druga w dawce odpowiadającej 20% dawki zalecanej, aby odzwierciedlić dietę złożoną w 20% z zaprawianych nasion. Zaprawiane nasiona zawierały stężenia imidaklopyrydu równe 0,14-0,7 mg/g w dwóch dawkach. Jako że ważące 400 g kuropatwy, na których prowadzono te badania, spożywają około 25 g nasion dziennie, oczekiwano dziennego spożycia kolejno 8,8 i 44 mg/kg/dzień, czyli przekraczającego LD50 dla przepiórki japońskiej (Tabela 9, SERA 2005).

Imidaklopyryd w najwyższej dawce zabijał wszystkie dorosłe kuropatwy w ciągu 21 dni, przy czym pierwsze upadki miały miejsce już trzeciego dnia. Śmiertelność przy niskiej dawce i w grupie kontrolnej była znacząco niższa i wyniosła kolejno 18,7% i 15,6%. Jako że wszystkie kuropatwy przyjmujące wyższą dawkę padły,

Tabela 10. Inne badania bezpośredniego działania imidaklopyrydu, klotianidyny i fipronilu na ptaki. Narażenie może być ostre lub przewlekłe. W tym drugim przypadku podano dawki dzienne. We wszystkich badaniach wykazano, że analizowana dawka miała szkodliwe działanie, chyba że zaznaczono inaczej (NE – brak działania). Źródło: Gibbons i in. (2015)

Gatunek	Działanie na:	Imidaklopyryd	Klotianidyna	Fipronil	Źródło i opis oddziaływania
Krzyżówka, <i>Anas platyrhynchos</i>	układ rozrodczy	16 mg/kg/dzień	>35 mg/kg/dzień (NE)		Opracowano na podstawie rycin w publikacji Mineau i Palmer (2013); różne oddziaływania na układ rozrodczy
Kura domowa, <i>Gallus gallus domesticus</i>	wzrost i rozwój			37,5 mg/kg	Kitulagodage i in. (2011a); ograniczone odżywienie i masa ciała oraz zaburzenia rozwojowe u kurcząt
Kura domowa, <i>Gallus gallus domesticus</i>	układ nerwowy i zachowanie			37,5 mg/kg	Kitulagodage i in. (2011a); Zaburzenia zachowania u kurcząt
Kuropatwa czerwona, <i>Alectoris rufa</i>	przeżycie	31,9-53,4 mg/kg/dzień			Lopez-Antia i in. (2013); obniżona przeżywalność kurcząt przy niskich dawkach obniżona przeżywalność osobników dorosłych przy wysokich dawkach
Kuropatwa czerwona, <i>Alectoris rufa</i>	układ rozrodczy	31,9 mg/kg/dzień			Lopez-Antia i in. (2013); zmniejszenie wskaźnika zapłodnień i obniżona przeżywalność kurcząt
Kuropatwa czerwona, <i>Alectoris rufa</i>	układ odpornościowy	53,4 mg/kg/dzień			Lopez-Antia i in. (2013); ograniczona odpowiedź odpornościowa
Przepiór wirginijski, <i>Colinus virginianus</i>	układ rozrodczy		>52 mg/kg/dzień		Opracowano na podstawie rycin w publikacji Mineau i Palmer (2013); różne oddziaływania na układ rozrodczy
Przepiór wirginijski, <i>Colinus virginianus</i>	wzrost i rozwój	24 mg/kg/dzień (A)		11 mg/kg (B)	A) Opracowano na podstawie rycin w publikacji Mineau i Palmer (2013); różne oddziaływania na masę ciała B) Kitulagodage i in. (2011b); ptaki przestały żerować i traciły masę ciała
Przepiórka japońska, <i>Coturnix japonica</i>	układ rozrodczy	1 mg/kg/dzień			Tokumoto i in. (2013); zaburzenia czynności jąder, zmniejszenie długości zarodka po krzyżowaniu narażonych samców z samicami kontrolnymi
Przepiórka japońska, <i>Coturnix japonica</i>	genotoksyczność	1 mg/kg/dzień			Tokumoto i in. (2013); nasilone pęknięcie DNA u samców
Wróbel domowy, <i>Passer domesticus</i>	układ nerwowy i zachowanie	6 mg/kg			Cox (2001); zaburzenia koordynacji, niezdolność do lotu
Zeberka timorska, <i>Taeniopygia guttata</i>	układ rozrodczy			>1 mg/kg	Kitulagodage i in. (2011a); gorsze wskaźniki wykluwania



wpływ na układ rozrodczy badano tylko w grupach przyjmujących niższą dawkę. Samice badane miały w porównaniu do kontroli znacznie mniej liczebne lęgi, a czas do złożenia pierwszego jaja był również znacząco wydłużony. Nie stwierdzono różnicy w wielkości jaj, grubości skorupki, odsetku zapłodnionych jaj ani wskaźniku wykluwania. Nie zaobserwowano też wpływu na przeżywalność, wzrost czy proporcję płci u kurcząt. Wyniki są spójne z wcześniejszymi doniesieniami na temat letalnego (Tabela 9) i subletalnego (Tabela 10) wpływu spożycia neonikotynoidów na ptaki. Wprowadź wartości LD50 różnią się nawet o dwa rzędy wielkości, między 11,3 a 2 000 mg/kg, działania subletalne obserwuje się przy bardziej zbliżonych dawkach, różniących się tylko jednym rzędem wielkości: 1-53 mg/kg. Najważniejszym zagadnieniem, które nadal wymaga zbadania, jest ocena ilościowa rzeczywistego narażenia spożywających nasiona ptaków na neonikotynoidy. Trudno jest ocenić, czy te wykazane działanie subletalne i letalne mają również miejsce w populacjach ptaków dziko żyjących.

Oprócz działań subletalnych i letalnych potencjalnie spowodowanych spożyciem zaprawianych neonikotynoidami nasion, zagrożeniem dla ptaków może też być spożycie skażonych bezkręgowców. Hallmann i in. (2014) korzystali z danych dotyczących populacji ptaków zebranych podczas Holenderskiego Monitoringu Pospolitych Ptaków Lęgowych – standaryzowanego programu prowadzonego w Holandii od 1984 roku. Regularnie przeprowadzane są również pomiary jakości wód powierzchniowych w całej Holandii, w tym pomiary poziomu imidaklopyrydu. Hallmann i in. porównywali stężenia imidaklopyrydu w wodach powierzchniowych w latach 2003–2009 z trendami w populacjach 15 gatunków ptaków żyjących na terenach rolniczych, żywiących się owadami przynajmniej w okresie lęgowym, aby sprawdzić hipotezę, jakoby neonikotynoidy mogły być przyczyną spadku liczebności populacji ptaków wynikającego z mniejszej dostępności bezkręgowców będących ich pożywieniem. Przeciętne, charakterystyczne tempo przyrostu populacji ptaków z miejscowych terenów rolniczych było silnie ujemnie skorelowane ze stężeniem imidaklopyrydu.

Bardziej szczegółowe badania wskazały, że 14 z 15 gatunków ptaków reagowało negatywnie na wyższe stężenia imidaklopyrydu, przy czym u 6 z 15 ta reakcja była szczególnie wyraźna. Jak stwierdzono wcześniej w punkcie 3.2, wyodrębnienie działania neonikotynoidów na środowisko z ogólnego wpływu na nieintensyfikacji rolnictwa. Hallmann i in. próbowali kontrolować pośrednie skutki intensyfikacji, w tym zmiany w użytkowaniu terenu, obszarze gruntów rolnych i zastosowaniu nawozów, lecz poziom imidaklopyrydu pozostawał istotnym czynnikiem predykcyjnym negatywnego wpływu na populację.

Jedynie badania, w których oceniano zmiany w dostępności bezkręgowców będących pożywieniem ptaków po zastosowaniu neonikotynoidów i jednocześnie zmiany w społecznościach ptaków, przeprowadzono w USA. Falcone i DeWald (2010) sprawdzali liczbę bezkręgowców w lasach choiny kanadyjskiej *Tsuga canadensis* w Tennessee po opryskach drzew imidaklopyrydem w celu zwalczania szkodnika tych drzew, ochojnika *Adelges tsugae*. Opryski imidaklopyrydu miały znaczący, negatywny wpływ na niedocelowe *Hemiptera* i larwy *Lepidoptera*. Jednakże nie stwierdzono jednoczesnego spadku zagęszczenia owadożernych ptaków pomiędzy opryskami. Bezpośrednie porównanie wyników tego badania i wyników zespołu Hallmann i in. (2014) jest trudne z powodu odmiennych warunków środowiskowych. Prawdopodobnie w lasach pozostały wystarczające obszary niepoddane zabiegowi, aby owadożerne ptaki mogły znaleźć pożywienie. W Holandii, jednym z krajów, gdzie rolnictwo jest najbardziej zintensyfikowane na świecie, niewiele pozostało niezniszczonych siedlisk półnaturalnych i dostępność pożywienia jest zmniejszona, aplikacja neonikotynoidów miałaby znacznie silniejsze oddziaływanie.

Nie dysponujemy badaniami wpływu neonikotynoidów na nietoperze i populacje nietoperzy. Zasugerowano związek między stosowaniem neonikotynoidów a spadkiem populacji motyli na terenach rolniczych (Gilburn i in. 2015; Forster i in. 2016). Zważywszy na podobieństwo ekologiczne między motylami i ćmami,

w przypadku tych drugich może występować podobny trend, jednak nie przeprowadzono jeszcze odpowiednich badań. Wiele gatunków nietoperzy żywi się ćmami, dlatego spadek ich populacji może szkodzić populacji nietoperzy z powodu ograniczonej dostępności pokarmu. Mason i in. (2014) wiążą stosowanie neonikotynoidów ze zwiększoną zachorowalnością nietoperzy, w tym na zespół białego nosa (spowodowany grzybem *Geomyces destructans*) zarówno w USA, jak i w Europie. Postawili hipotezę, że spożycie owadów zawierających pozostałości neonikotynoidów osłabia układ odpornościowy nietoperzy. Nie ma jednak dowodów na obecność pozostałości neonikotynoidów w ćmach lub nietoperzach, przenikania przez te poziomy troficzne lub osłabienia odporności nietoperzy z powodu narażenia na neonikotynoidy i w rezultacie zwiększonej zachorowalności na grzybicę. Stanowisko zespołu Mason i in. należy więc uznać na razie za niepotwierdzone.

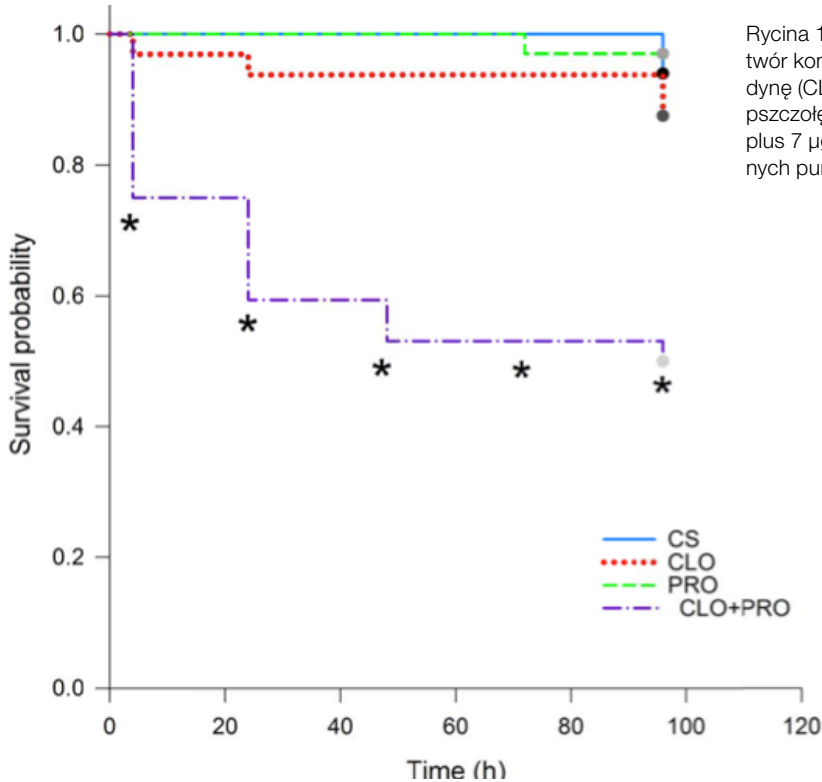
3.6 Synergistyczne działanie innych pestycydów z neonikotynoidami

EFSA (2013a; 2013b; 2013c), oceniając zagrożenie spowodowane klotianidyną, imidaklopyrydem i tiametoksamem, analizował te pestycydy oddzielnie w odniesieniu do ich wpływu na pszczoły miodne. Tymczasem na polach stosuje się wobec danej uprawy jednocześnie wiele neonikotynoidów, innych insektycydów i pestycydów, takich jak herbicydy i fungicydy. Pszczoły są często narażone na złożone mieszanki pestycydów. Wykrywano ich aż 19 w pszczołach złapanych w pułapki na pewnym obszarze rolniczym w Kolorado (Hladik i in. 2016). Połączenia różnych neonikotynoidów i innych pestycydów mogą mieć działanie antagonistyczne (mniejszą skuteczność), adytywne (ich skuteczność się sumuje) lub synergistyczne (ich skuteczność się mnoży). Morrissey i in. (2015) sporządzili listę znanych przypadków synergistycznego działania neonikotynoidów i innych pestycydów. Kilka przykładów podali sami producenci pestycydów. Bayer wykazał na przykład, że połączenie klotianidyny i fungicydu trifloksystrobiny powodowało 150-krotne zwiększenie śmiertelności żywiących się liśćmi larw chrząszcza *Phaedon* w porównaniu z samą klotianidyną (Wachendorff-Neumann i in. 2012). Naukowcy koncernu Bayer udowodnili też, że zastosowanie 8 000 ppb tiaklopyrydu albo 8 000 ppb klotianidyny skutkowało śmiertelnością mszyc na poziomie odpowiednio 25%

i 0% po 6 dniach, natomiast połączenie tych dwóch środków prowadziło do 98% śmiertelności (Andersch i in. 2010). W kontekście pszczoły miodnej Iwasa i in. (2004) wykazali, że połączenie tiaklopyrydu z fungicydem propikonazolem zwiększało toksyczność mieszaniny kilkaset razy. Wprawdzie wykazano ryzyko synergii, jednak tylko nieliczne badania oceniające zagrożenie dla środowiska przeprowadzono łącznie dla neonikotynoidów i innych pestycydów.

Od 2013 roku przeprowadzono szereg badań nad możliwym działaniem synergistycznym neonikotynoidów. Wiele z nich koncentrowało się na oddziaływaniach między neonikotynoidami, a fungicydami z grupy inhibitorów biosyntezy ergosterolu (EBI) (w tym propikonazolu) oraz możliwym wpływem na pszczoły. Biddinger i in. (2013) badali oddziaływanie pomiędzy acetamiprydem, imidaklopyrydem i fungicydem fenbukonazolem, który sam w sobie jest praktycznie nietoksyczny dla pszczoł (z wyjątkiem skrajnie wysokich stężeń) oraz ich toksyczność kontaktową wobec *A. mellifera* i japońskiej pszczoły murarki *Osmia cornifrons*. Są to pestycydy często używane łącznie w preparatach stosowanych do ochrony sadów. Badane dawki mieściły się w zakresie 1,38–60 µg mieszaniny 1:1 acetamiprydu i fenbukonazolu na pszczołę oraz 0,86–983 µg mieszaniny 2:1 imidaklopyrydu i fenbukonazolu na pszczołę. Przy LD50 mieszanina acetamiprydu i fenbukonazolu była ~5 razy bardziej toksyczna niż sam acetamipryd wobec *A. mellifera* i ~2 razy bardziej toksyczna wobec *O. cornifrons*. Jednakże przyjęte dawki są bardzo wysokie. Na przykład 0,86 µg mieszaniny imidaklopyrydu i fenbukonazolu na pszczołę odpowiada 567,6 ng/pszczołę, a toksyczność kontaktową u *A. mellifera* wobec LD50 imidaklopyrydu wyliczono na 81 ng/pszczołę (punkt 3.1). Nie zaskakuje więc, że podana dawka zabiła 85% badanych pszczoł miodnych. Zważywszy na nierealne wysokie stężenia w tym badaniu trudno określić, na ile jest ono informatywne.

Thompson i in. (2014) badali synergistyczne działanie kilku fungicydów z grupy EBI (flusilazol, propikonazol, myklobutanil i tebukonazol) oraz kilku neonikotynoidów (klotianidyna, tiaklopyryd, imidaklopyryd i tiametoksam) na *A. mellifera*. Poszczególne pestycydy i mieszaniny pojedynczego neonikotynoidu z pojedynczym fungicydem testowano poprzez narażenie kontaktowe i spożycie w różnych stężeniach, wystarczających do zwiększenia śmiertelności, po czym obserwowano



Rycina 13. Przeżywalność u samic *Osmia bicornis* narażonych na roztwór kontrolny (CS – roztwór wody z cukrem i 3% acetonem), klotianidynę (CLO – 0,63 ng/pszczołę) propikonazolpropikonazol (PRO – 7 µg/pszczołę) oraz klotianidynę i propikonazol (CLO+PRO – 0,63 ng/pszczołę plus 7 µg/pszczołę). Statystycznie istotne działanie synergistyczne w różnych punktach czasowych (4, 24, 48, 72, 96 h) oznaczono gwiazdką.

pszczoły przez 96 godzin. Wartości LD₅₀ wyliczono po 48 godzinach, jako że w późniejszym okresie śmiertelność nie zwiększyła się znacząco. Pojedynczy neonikotynoid i fungicyd miały podobną toksyczność jak w opublikowanych wcześniej wynikach, przy czym żaden z fungicydów nie miał działania toksycznego nawet przy stężeniach 22,4 µg/pszczołę.

W przypadku mieszanin neonikotynoid/fungicyd, neonikotynoidy były podawane w obliczonych dawkach LD₅₀, mieszczących się w zakresie 0,035-0,124 µg/pszczołę dla klotianidyny, imidaklopyrydu i tiametoksamu oraz 122,4 µg/pszczołę dla tiaklopyrydu (jako że cyjano-podstawione neonikotynoidy mają niższą toksyczność wobec pszczoł, punkt 3.1.1). Fungicydy stosowano w dawkach między 0,161 a 0,447 µg/pszczołę, zależnie od związku. Te wartości stanowią realny scenariusz największego możliwego narażenia, wyliczony na podstawie zatwierdzonych dawek do stosowania w Wielkiej Brytanii. W przypadku tych mieszanin wskaźnik synergii obliczano dzieląc wartość LD₅₀ neonikotynoidu przez wartość LD₅₀ neonikotynoidu połączonego z fungicydem. Wartość większa od jedności oznacza, że mieszanina ma większą toksyczność, a wartość mniejsza od jedności wskazuje na mniejszą toksyczność mieszaniny. Połączenie

fungicydów z tiaklopyrydem i klotianidyną wykazywało pomijalną synergję w przypadku toksyczności kontaktowej, a wartości wskaźnika synergii wynosiły odpowiednio 0,30 i 1,07. Imidaklopyryd i tiametoksam dały wyższe wyniki, odpowiednio 1,53 i 2,02. W przypadku toksyczności drogą pokarmową tiaklopyryd i imidaklopyryd wykazały niską synergję, odpowiednio 0,60 i 0,48, natomiast klotianidyna i tiametoksam wykazały większą synergję i ich wskaźniki wyniosły odpowiednio 1,52 i 1,31. Tylko w przypadku dwóch połączeń stwierdzono znaczącą synergję: w przypadku narażenia kontaktowego na tebukonazol i tiametoksam wskaźnik wyniósł 2,59, w przypadku narażenia drogą pokarmową na klotianidynę i tebukonazol – 1,90.

Sgolastra i in. (2016) badali oddziaływania między klotianidyną i fungicydem propikonazolem na trzech gatunkach pszczołowatych: *A. mellifera*, *B. terrestris* i *O. bicornis*. Każdemu z gatunków podawano dawkę LD₁₀ klotianidyny (odpowiednio 0,86, 1,87 i 0,66 ng/pszczołę, patrz punkt 3.1.1), nieletalną dawkę propikonazolu (7 µg/owada) i połączenie tych dwóch dawek. Owady następnie obserwowano przez 96 godzin i oznaczano ilościowo ich śmiertelność. Zaobserwowano pewną synergję. Śmiertelność *A. mellifera* była istotnie wyższa w przypadku łącznej dawki obydwu badanych

Tabela 11. Porównanie proporcji propikonazolu do dawek tiametoksamu i uzyskiwanych wartości LD50 w badaniach narażenia kontaktowego i drogą pokarmową. Wskaźniki synergii oznaczono gwiazdką (*), jeśli występowały istotne różnice. Źródło: Thompson i in. (2014).

Dawka kontaktowa propikonazolu µg/pszczołę	Stosunek LD50 fungicydu do LD50 tiametoksamu (narażenie drogą kontaktową) LD ₅₀	Dawka kontaktowa LD ₅₀ tiametoksamu µg/pszczołę	Wskaźnik synergii	Stosunek LD ₅₀ fungicydu do LD ₅₀ tiametoksamu (narażenie drogą pokarmową)	Dawka pokarmowa LD50 tiametoksamu µg/pszczołę	Wskaźnik synergii
0	-	0,0373	-	-	0,0641	-
0,0224	0,6	0,0288	1,3	0,349	0,0268	2,4
0,224	6	0,0247	1,5	3,49	0,0277	2,3
2,24	60	0,0134	2,8*	34,9	0,0265	2,4
22,4	600	0,0104	3,6*	349	0,00776	8,3*

pestycydów w pierwszych dwóch okresach (4 i 24 godziny). Śmiertelność *B. terrestris* po podaniu łącznej dawki była znacząco wyższa tylko w pierwszym okresie, tj. po 4 godzinach. Natomiast narażenie *O. bicornis* na połączenie klotianidyny i propikonazolu skutkowało znacząco większą śmiertelnością we wszystkich punktach czasowych (Rycina 13).

Spurgeon i in. (2016) przeprowadzili podobne doświadczenia co Sgolastra i in., badając działanie łączne klotianidyny i propikonazolu na *A. mellifera*, *B. terrestris* i *O. bicornis*. Aby obliczyć LD50, zastosowano różne stężenia klotianidyny, a stężenia propikonazolu przyjęto na poziomie zerowym, niskim lub wysokim. Niską dawkę ustalono na podstawie stężenia notowanego w środowisku, podanego przez panel naukowy EFSA ds. produktów ochrony roślin i ich pozostałości (2012), a dużą dawkę określono, mnożąc niską przez 10, co powinno reprezentować prawdopodobny scenariusz najgorszego przypadku, ale nie jest jasne, czy takie wartości rzeczywiście występują w środowisku. Śmiertelność oznaczano ilościowo po 48, 96 i 240 godzinach. W przypadku *A. mellifera* wartości LC50 klotianidyny z propikonazolem i bez niego zawsze mieściły się w zakresie dwóch rzędów wielkości,

bez czytelnego negatywnego trendu przy wyższych stężeniach propikonazolu. W przypadku *B. terrestris* LC50 klotianidyny z propikonazolem było 1,5 do 2 razy niższe. W przypadku *O. bicornis* LC50 klotianidyny z propikonazolem było maksymalnie 2 razy niższe. Zaobserwowano też negatywny trend przy wyższych stężeniach propikonazolu. Spurgeon i in. podsumowali, że połączenie klotianidyny z propikonazolem ma zerową do niskiej synergii wobec *A. mellifera* oraz niską do umiarkowanej synergii wobec *B. terrestris* i *O. bicornis*.

W dodatkowym badaniu Thompson i in. (2014) wykazali, że dawka zastosowanego fungicydu jest głównym czynnikiem warunkującym toksyczność neonikotynoidów, badając połączenie propikonazolu z tiametoksamem (Tabela 11). Autorzy twierdzą, że niskie wskaźniki wyraźnej synergii między neonikotynoidami, a fungicydami wynikają z niższych, bardziej prawdopodobnych w terenie dawek fungicydów, wynoszących 0,161-0,447 µg/pszczołę, w porównaniu do 10 µg/pszczołę, dawki zastosowanej przez zespół Iwasa i in. (2004), który badał te oddziaływania wcześniej. Dawki 0,161-0,447 µg/pszczołę stanowią realistyczny scenariusz największego narażenia,

wyliczony na podstawie zatwierdzonych dawek do stosowania w Wielkiej Brytanii. Jednakże brak danych potwierdzających realistyczne dawki fungicydów, na które mogą być narażone żyjące pszczoły w warunkach terenowych. Wprawdzie takie badania jak Sgolastra i in. (2016) wykazują wyraźne synergistyczne działanie fungicydów i neonikotynoidów na *O. bicornis*, dawka zastosowanego fungicydu jest o ponad rząd wielkości większa niż dawka zastosowana przez zespół Thompson i in. Pszczoły są stale narażane na 40 typów fungicydów, które wykrywa się w pyłku, wosku i nektarze pozyskiwanych od pszczoły miodnej (Sánchez-Bayo i Goka 2014). Pyłek zebrany przez trzmiele i przechowywany w ich gniazdach również zawiera fungicydy. Stwierdzono, że ich średnie stężenia mieszczą się w zakresie 0,15-25 ppb (fungicydy EBI: 0,15-17 ppb, David i in. 2016). Natomiast nie ma praktycznie danych na temat stężeń w materiale zebrany przez pszczoły, a tym samym na temat ich ostrego lub przewlekłego narażenia. Nie da się obecnie ustalić, jakie dawki fungicydów można uznać za prawdopodobny poziom narażenia pszczół w środowisku.

Oprócz prac na pszczołach Kunce i in. (2015) badali wpływ jednorazowego 1-godzinnego narażenia na imidaklopryd i tiametoksam oraz dwa pyretroidy, deltametrynę i esfenwalerat na rozwój wodnego owada *C. riparius*. Wpływ pestycydów badano indywidualnie, łącząc je w pary oraz łącząc wszystkie razem (metodologię i zastosowane stężenia opisano bardziej szczegółowo w punkcie 3.4). Narażenie na większość z badanych pestycydów ograniczało przeżywalność larw, lecz szkodliwe efekty nie wydały się synergistycznie nasilone przy łączeniu tych pestycydów. Kunce i in. podsumowali, że przy niskich dawkach i krótkim okresie narażenia ryzyko

synergistycznego lub adytywnego działania jest bardzo niskie. Wymaganych jest dużo więcej badań potencjalnego działania synergistycznego pestycydów w ekosystemach wodnych.

Badania te potwierdzają tezy mówiące o tym, że istnieje możliwość synergistycznego działania neonikotynoidów z fungicydami oraz zwiększonego letalnego wpływu na pszczoły. Jednakże dawkowanie zarówno neonikotynoidów jak i fungicydów, czas narażenia, klasa chemiczna neonikotynoidów i fungicydów oraz długość czasu po narażeniu są ważnymi czynnikami wyjaśniającymi zaobserwowane oddziaływania. Stężenie zastosowanych w badaniach laboratoryjnych fungicydów wydaje się najważniejszym czynnikiem warunkującym synergistyczne działanie letalne. Opryski fungicydami są regularnie prowadzone w okresie kwitnienia upraw, przy założeniu, że te związki są bezpieczne dla pszczół. Wymagane są dalsze badania tego zagadnienia, aby określić realne poziomy narażenia wolno żyjących pszczół oraz ocenić prawdopodobny wpływ synergistycznego działania neonikotynoidów i fungicydów na ich populacje.

W dotychczasowych badaniach analizowano tylko oddziaływania pomiędzy parami pestycydów. Wiadomo jednak, że pszczoły i inne organizmy niedocelowe zamieszkujące gospodarstwa rolne są regularnie narażone na znacznie bardziej złożone koktajle pestycydów, niż te sprawdzane w ramach protokołów doświadczalnych. Przykładowo, w zapasach pszczoły miodnej i trzmielea znajdowano często 10 lub więcej pestycydów (np. David i in. 2016). Poważnym wyzwaniem dla naukowców i prawodawców jest próba wyjaśnienia wpływu przewlekłego narażenia na złożone mieszaniny neonikotynoidów i innych chemikaliów na przyrodę.



04.

Uwagi końcowe

4.1 Postępy w wiedzy naukowej i porównanie ze stanem wiedzy z 2013 roku

Raporty EFSA na temat klotianidyny, imidakloprydu i tiametoksamu mają z założenia wąski zakres. Koncentrują się na zagrożeniu, jakie te neonikotynoidy stwarzają dla pszczołowatych, przy czym prawie wszystkie dane dotyczą pszczoły miodnej *Apis mellifera*. Jako że zakres tego przeglądu jest znacznie szerszy i obejmuje utrzymywanie się neonikotynoidów w środowisku oraz możliwe działanie na wiele różnych organizmów niedocelowych, nie da się w łatwy sposób porównać go z raportami EFSA, ponieważ nie ma bazy wiedzy sprzed 2013 dotyczącej większości poruszanych tematów. Można jednak przedstawić ocenę ryzyka stosowania neonikotynoidów, podobną do tej przeprowadzonej przez EFSA. Dokonany przegląd miał na celu podsumowanie nowych wyników badań, które zmieniają stan wiedzy o prawdopodobnym ryzyku dla pszczół, i określenie, czy jest ono mniejsze, większe czy takie samo, jak ustalono w 2013 roku. Traktując ocenę ryzyka przeprowadzoną przez EFSA jako punkt wyjścia, postępy dotyczące każdego z omawianych aspektów można podsumować następująco:

- ∞ *Ryzyko narażenia z pyłku i nektaru poddanych zabiegom roślin kwitnących.* Raporty EFSA zawierają obliczenia typowych wartości narażenia na neonikotynoidy po zastosowaniu do powlekania preparatów do zaprawiania nasion upraw roślin kwitnących. Obecnie dysponujemy znacznie większą wiedzą na ten temat, lecz nowo przeprowadzone badania w dużej mierze potwierdzają obliczone wartości narażenia. Ryzyko dla pszczół związane z uprawami roślin kwitnących jest więc **takie samo**, jak ustalono w raporcie EFSA z 2013 roku.
- ∞ *Ryzyko związane z uprawami niekwitającymi i roślinami na etapie rozwoju poprzedzającym*

kwitnienie. Uważano, że uprawy niekwitające nie stwarzają zagrożenia dla pszczół. Żadne z nowych badań nie wykazało bezpośredniego ryzyka dla pszczół związanego z uprawami niekwitającymi. Również w tym przypadku stwierdza się **takie samo ryzyko**.

- ∞ *Ryzyko narażenia związane z wysiewem nasion i unoszeniem się powstającego pyłu.* Mimo udoskonalenia technologii siewu dostępne dane sugerują, że nadal ma miejsce unoszenie pyłu, co stanowi przyczynę ostrego narażenia, dlatego też najlepiej jest przyjąć, że występuje **takie samo ryzyko**.
- ∞ *Ryzyko narażenia poprzez płyn gutacyjny.* Na podstawie dostępnych danych EFSA ustalił w 2013 roku, że ta droga narażenia wiąże się z niewielkim ryzykiem. Nowe dane nie wpłynęły na zmianę tego stanowiska, więc przyjmujemy **takie samo ryzyko**.
- ∞ *Ryzyko narażenia spowodowane pobieraniem neonikotynoidów przez rośliny nieuprawne.* Uznano, że pobieranie neonikotynoidów przez rośliny niedocelowe jest prawdopodobnie pomijalne, lecz istniała w tej dziedzinie luka w wiedzy. Od tamtego czasu opublikowano wyniki wielu badań, w których wykazano nasilone pobieranie neonikotynoidów i ich obecność w pyłku, nektarze i liściach dzikich roślin. Stanowi to potencjalnie bardziej długotrwałe źródło narażenia niż tylko okres kwitnienia danych upraw. Oczekuje się, że pszczoły zbierające pyłek z roślin poddanych zabiegom z użyciem neonikotynoidów mogą być narażone na najwyższe stężenia neonikotynoidów, lecz ilości neonikotynoidów w pyłku i nektarze zbieranych z dzikich roślin również są znaczące. Tym samym narażenie ze strony roślin niedocelowych stanowi ewidentnie **większe ryzyko**.
- ∞ *Ryzyko narażenia ze strony upraw następczych.* Ten aspekt został uznany za lukę w wiedzy. Tylko nieliczne badania poświęcono bezpośrednio tej

kwestii, choć wiąże się ona potencjalnie z pewnym poziomem ryzyka, jako że wiemy, że neonikotynoidy mogą utrzymywać być wykrywane w uprawach po wielu latach od pierwszego znanego zastosowania. Ponieważ jednak nadal dysponujemy ubogimi danymi, należy przyjąć, że jest to **takie samo ryzyko**.

- ∞ *Bezpośrednie letalne działanie neonikotynoidów na dorosłe pszczoły.* Dodatkowe badania toksyczności wobec pszczoł miodnych potwierdziły wartości wyliczone przez EFSA. Uzyskano kolejne dane dotyczące toksyczności neonikotynoidów wobec dzikich gatunków pszczoł, a ich metaanaliza sugeruje w przybliżeniu podobne działanie. Odnoszenie się do poszczególnych gatunków jest ważne, lecz letalny wpływ neonikotynoidów należy uznać ogólnie za **takie samo ryzyko**.
- ∞ *Subletalne działanie neonikotynoidów na dzikie pszczoły.* EFSA poświęcił niewiele miejsca na działanie subletalne, jako że nie uzgodniono jednolitej metody jego badania. Uznano je więc za lukę w wiedzy. Wykazano, że narażenie na neonikotynoidy, związane z zabiegami na uprawach kwitnących, wywiera negatywny wpływ na wolno żyjące dzikie pszczoły w warunkach polowych, a niektóre badania laboratoryjne nadal potwierdzają negatywny wpływ realistycznych, zbliżonych do polowych stężeń neonikotynoidów na zdolność pszczoł do korzystania z pożytków i ich sprawność. **Większe ryzyko.**

W tym kontekście badania prowadzone od 2013 roku sugerują, że neonikotynoidy stwarzają podobne lub większe zagrożenie dla dzikich i hodowlanych pszczoł, w porównaniu ze stanem wiedzy z 2013 roku. Jako że początkowa ocena ryzyka z 2013 roku była wystarczająca do wprowadzenia moratorium na stosowanie neonikotynoidów wobec upraw roślin kwitnących, a nowe dane potwierdzają zagrożenie wobec pszczoł lub wręcz wskazują, że jest ono większe, należy wyciągnąć logiczny wniosek, że obecnie dostępne dane naukowe potwierdzają konieczność wydłużenia tego moratorium.

Oprócz stosowania neonikotynoidów wobec upraw kwitnących badanie prowadzone od 2013 roku wykazały, że neonikotynoidy rozprzestrzeniają się i utrzymują w glebie rolniczej, ciekach wodnych i znacznej części roślinności niebędącej uprawami. Gdy przeprowadzano oceny stężeń, które mogą mieć znacząco ujemny wpływ na organizmy niedocelowe, wykazano, że ich poziomy w wielu siedliskach rolniczych niebędących uprawami przekraczają ustalone progi.

Najmocniejsze dowody uzyskano w badaniach zbiorników wodnych, stałych i tymczasowych, otaczających obszary rolnicze. Wpływ neonikotynoidów na organizmy wodne wydaje się najłatwiejszy do oceny ilościowej, jako że realistyczne stężenia terenowe można łatwo ustalić poprzez pozyskanie próbek. Jednocześnie w przypadku obecności neonikotynoidów w zbiornikach wodnych, zamieszkujące je organizmy nie mogą ograniczać swojego narażenia na nie. Natomiast ocena realnego narażenia pszczoł na neonikotynoidy jest znacznie trudniejsza, ponieważ zależy ona od wielu czynników: typu upraw kwitnących, ich względnej atrakcyjności w porównaniu do innych dostępnych źródeł pożywienia, typu upraw i poziomu przedostawania się neonikotynoidów do środowiska poprzez pył z nasion i wyplukiwanie, typu gleby i zawartości materiału organicznego, a tym samym retencji substancji czynnej preparatów neonikotynoidów, wychwytu neonikotynoidów przez otaczającą roślinność oraz względnego zbioru pyłku i nektaru z różnych dzikich roślin zawierających zmienne poziomy neonikotynoidów w różnych porach roku. Dodatkowo, dzikie i hodowlane pszczołowate różnią się takimi cechami, jak okres lotów na pożytki, preferencje dotyczące kwiatów i struktura społeczna w zależności od gatunku, co widać wyraźnie na trzech najczęściej stosowanych pszczołowatych modelowych *A. mellifera*, *B. terrestris* i *O. bicornis*. Jest więc znacznie trudniej określić dokładnie i spójnie narażenie poszczególnych grup taksonomicznych na neonikotynoidy.

Chociaż wszystkie te wspomniane czynniki są istotne, da się określić prawdopodobne skutki na podstawie średniego poziomu narażenia określonego w różnych badaniach. Jest tak w przypadku różnych grup taksonomicznych, nie tylko pszczołowatych. Uwzględniając

te zastrzeżenia, staje się jasne, że od 2013 roku nowe badania przyczyniły się do znaczących, opisanych poniżej, postępów w wiedzy na temat wpływu neonikotynoidów na organizmy niedocelowe.

- ∞ Zabiegi na uprawach niekwitnących z zastosowaniem neonikotynoidów mogą stwarzać zagrożenie również dla organizmów niedocelowych w postaci zwiększenia śmiertelności pożytecznych drapieżników.
- ∞ Neonikotynoidy mogą utrzymywać się w glebie rolniczej przez kilka lat, powodując długotrwałe zanieczyszczenie, a w pewnych przypadkach również akumulowanie się.
- ∞ Ponadto neonikotynoidy wykrywa się w różnych typach zbiorników wodnych, w tym rowach, kałużach, stawach, strumieniach górskich, rzekach, okresowych mokradłach, wodach roztopowych i gruntowych oraz odpływach z oczyszczalni ścieków.
- ∞ Badania przeglądowe wrażliwości organizmów wodnych na neonikotynoidy wskazują, że wiele gatunków owadów wodnych jest kilkanaście razy bardziej wrażliwych na te związki niż organizmy modelowe, na których standardowo ocenia się pestycydy w procesie uzyskiwania zezwolenia na ich wprowadzenie.
- ∞ Wykazano obecność neonikotynoidów w pyłku, nektarze i liściach roślin nieuprawnych w sąsiedztwie pól uprawnych, w tym zarówno jednorocznych roślin zielnych, jak i wieloletnich roślin drzewiastych. Można się więc spodziewać, że niedocelowe, roślinożerne owady i zapylacze niebędące pszczołami, bytujące na miedzach i w żywopłotach, mogą być narażone na neonikotynoidy. Jest to szczególnie niepokojące w przypadku roślin specjalnie wysiewanych przy polach uprawnych w celu ochrony zapylaczy.
- ∞ Badania korelacyjne sugerują, że istnieje związek między stosowaniem neonikotynoidów na terenach rolniczych a populacjami motyli, pszczół i ptaków owadożernych w trzech różnych krajach.

4.2 Istniejące luki w wiedzy i przyszłe badania

Wprawdzie przeprowadzono liczne badania pestycydów z grupy neonikotynoidów oraz ich wpływu na organizmy niedocelowe od 2013 roku, nadal istnieją pewne luki w wiedzy. Zespół Godfray i in. (2015) podsumował w swojej aktualizacji wiedzy na temat literatury dotyczącej neonikotynoidów i zapylaczy będących owadami, że należy pamiętać, że istnieją poważne luki w naszej wiedzy i że można wyciągnąć różne wnioski w odniesieniu do zalecanej polityki, zależnie od wagi przywiązanej do istotnych (lecz nie ostatecznych) wyników naukowych oraz kwestii ekonomicznych i stanowiska różnych interesariuszy. Niniejszy przegląd nie stanowi oceny ryzyka. Naszym celem było przejrzenie postępów naukowych w dziedzinie ryzyka, jakie stwarzają dla środowiska neonikotynoidy.

Aby lepiej poznać wpływ neonikotynoidów na organizmy niedocelowe, wymagane są dalsze badania następujących zagadnień::

- ∞ Podczas gdy wpływ neonikotynoidów na pszczoły został relatywnie dobrze zbadany, istnieje niewiele danych na temat większości taksonów. Wrażliwość roślinożerców niebędących szkodnikami i naturalnych wrogów szkodników upraw na neonikotynoidy jest szczególnie słabo poznana.
- ∞ Należy dalej pogłębiać wiedzę o realnym narażeniu obszarów rolniczych i nierolniczych na działanie neonikotynoidów i innych grup pestycydów, zwłaszcza z perspektywy słabiej zbadanych taksonów. Trudno jest interpretować wyniki badań laboratoryjnych wpływu letalnego i subletalnego neonikotynoidów, gdy nie jest baza danych do porównań z rzeczywistymi warunkami. Największe braki w danych stwierdza się w przypadku roślinożerców, organizmów bytujących w glebie, bezkręgowców pasożytniczych i drapieżnych oraz kręgowców lądowych żywiących się ziarnami lub owadami.
- ∞ Oprócz wiedzy na temat wrażliwości i narażenia wymagane jest wyjaśnienie, jak rozprzestrzeniają się neonikotynoidy w różnych poziomach

troficznych. Wyjątek stanowią nieliczne badania analizujące to zjawisko. Niektórzy autorzy powiązali bezpośrednie narażenie na neonikotynoidy ze spadkiem liczebności organizmów na wyższych poziomach troficznych, lecz te hipotezy nie zostały poparte wystarczającymi dowodami.

- ∞ Istnieją zestawy danych długoterminowych, które wykazały niedawne spadki populacji organizmów z różnych grup taksonomicznych, a najwyraźniejsze z nich korelują z użyciem neonikotynoidów. Choć badania te są bardzo sugestywne, należy oddzielić skutki ogólnej intensyfikacji rolnictwa od skutków stosowania neonikotynoidów, jeśli mamy lepiej wyjaśnić przyczyny długoterminowego spadku populacji różnych gatunków i przeciwdziałać mu.
- ∞ Możliwe synergistyczne i adytywne działanie neonikotynoidów z innymi pestycydami nie zostało dobrze poznane, a o działaniach na inne, niedocelewane taksony nie wiadomo praktycznie nic. Jest to złożony problem, tym bardziej, że nie umiemy określić realistycznego, terenowego narażenia na różne substancje czynne różnych grup taksonomicznych, które mogą otrzymywać różne dawki w zależności od ich oddziaływań ze środowiskiem rolniczym.

4.3 Wnioski końcowe

Niedawne prace dotyczące neonikotynoidów pozwalają jeszcze lepiej wyjaśnić krążenie tych związków w przyrodzie i utrzymywanie się ich w środowisku. Związki te są rozpuszczalne w wodzie, przez co ich występowanie nie ogranicza się do roślin uprawnych: przenikają do większości środowisk

rolniczych, w których są stosowane, a niekiedy docierają do dalszych obszarów z ciekami wodnymi i wodami odpływowymi. Doświadczenia laboratoryjne prowadzone w realnych, zbliżonych do polowych warunkach, jak również badania polowe wykazują, że ślady pozostałości neonikotynoidów mogą mieć letalne lub subletalne działanie na organizmy z wielu różnych taksonów. **W porównaniu do oceny ryzyka stwarzanego przez klotianidynę, imidaklopyrd i tiametoksam przeprowadzonej w 2013 roku, która koncentrowała się na wpływie na pszczoły, nowe badania zwiększają siłę argumentów na rzecz nałożenia moratorium, zwłaszcza wobec wykazania, że środki te stanowią poważne zagrożenie nie tylko dla pszczół, lecz również dla wielu innych organizmów niedocelewanych.** Zważywszy na zwiększenie się wiedzy naukowej o dostawaniu się neonikotynoidów do środowiska z wszelkich typów upraw, konieczna jest dyskusja na temat ryzyka związanego z ich stosowaniem w uprawach niekwitnących i na obszarach nierolniczych.



Źródła

- Alburaki, M., Boutin, S., Mercier, P-L., Loubier, Y., Chagnon, M. i Derome, N. (2015) Neonicotinoid-treated Zea mays seeds indirectly affect honeybee performance and pathogen susceptibility in field trials. PLoS One, 10, e0125790
- Alburaki, M., Cheaib, B., Quesnel, L., Mercier, P-L., Chagnon, M. i Derome, N. (2016) Performance of honeybee colonies located in neonicotinoid-treated and untreated cornfields in Quebec. Journal of Applied Entomology, in press
- Alaux, C., Brunet, J.-L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Brillard, J., Baldy, A., Belzunces, L.P. i Le Conte, Y. (2010) Interactions between Nosema microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). Environmental Microbiology, 12, 774-782
- Andersch, W., Jeschke, P. i Thielert, W. (2010) Combination of methiocarb and one or more compounds selected from thiacloprid, thiamethoxam, acetamiprid, nitenpyram, and dinotefuran; effective animal pests control and for plant seed dressing. Google Patents. United States: Bayer CropScience AG
- Anderson, T.A., Salice, C.J., Erickson, R.A., McMurray, S.T., Cox, S.B. i Smith, L.M. (2013) Effects of landuse and precipitation on pesticides and water quality in playa lakes of the southern high plains. Chemosphere, 92, 84-90
- Anderson, J.C., Dubetz, C. i Palace, V.P. (2015) Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. Science of the Total Environment, 505, 409-422
- Anon (2012) Addendum 7 to the draft assessment report; confirmatory data; imidacloprid. EU Commission
- Arce, A.N., David, T.I., Randall, E.L., Rodrigues, A.R., Colgan, T.J., Wurm, Y. i Gill, R.J. (2016) Impact of controlled neonicotinoid exposure on bumblebees in a realistic field setting. Journal of Applied Ecology, in press
- Arena, M. i Sgolastra, F. (2014) A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. Ecotoxicology, 23, 324-334
- Aufauvre, J., Biron, D.G., Vidau, C., Fontbonne, R., Roudel, M., Diogon, M., Vignes, B., Belzunces, L.P., Delbac, F. i Blot, N. (2012) Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. Scientific Reports, 2, 326
- Barbieri, R.F., Lester, P.J., Miller, A.S. i Ryan, K.G. (2013) A neurotoxic pesticide changes the outcome of aggressive interactions between native and invasive ants. Proceedings of the Royal Society B, 280, 20132157
- Beketov, M.A. i Liess, M. (2008) Acute and delayed effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on seven freshwater arthropods. Environmental Toxicology and Chemistry, 27, 461-470
- Benton, E.P., Grant, J.F., Mueller, T.C., Webster, R.J. i Nicholls, R.J. (2016) Consequences of imidacloprid treatments for hemlock woolly adelgid on stream water quality in the southern Appalachians. Forest Ecology and Management, 360, 152-158

- ∞ Biddinger, D.J., Robertson, J.L., Mullin, C., Frazier, J., Ashcraft, S.A., Rajotte, E.G., Joshi, N.K. i Vaughn, M. (2013) Comparative toxicities and synergism of apple orchard pesticides to *Apis mellifera* (L.) and *Osmia cornifrons* (Radoszkowski). *PLoS One*, 8, e72587
- ∞ Blacquièrè, T., Smagghe, G., van Gestel, C.A.M. i Mommaerts, V. (2012) Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21, s. 973-992
- ∞ Bonmatin, J-M., Moineau, I., Charvet, R., Colin, M.E., Fleche, C. i Bengsch, E.R. (2005) Behaviour of imidacloprid in fields. Toxicity for honey bees. W: Lichtfouse E, Schwarzbauer J, Robert D (eds). *Environmental Chemistry*. Springer, Berlin. s. 483-494
- ∞ Bonmatin, J-M., Marchand, P.A., Cotte, J.F., Aajoud, A., Casabianca, H., Goutailler, G. i Courtiade, M. (2007) Bees and systemic insecticides (imidacloprid, fipronil) in pollen: subnano quantification by HPLC/MS/MS and GC/MS. In: Del Re, A.A.M., Capri, E., Fragoulis, T.M. (eds) *Environmental fate and ecological effects of pesticide*. La Goliardica Pavese, Pavia, Włochy, s. 827-824
- ∞ Bonmatin, J-M., Giorio, C., Girolami, V., i in. (2015) Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, s. 35-67
- ∞ Bortolotti L., Sabatini A.G., Mutinelli F., Astuti M., Lavazza A., Piro R., Tesoriero D., Medrzycki P., Sgolastra F. i Porrini C. (2009) Spring honeybee losses in Italy. *Julius-Kühn Archiv*. W: *Proceedings 10th international symposium ICP-BR bee protection group "Hazards of pesticides to bees"*, Bukareszt, Rumunia, 8-10 X 2008, vol 423, s. 148-152
- ∞ Botías, C., David, A., Horwood, J., Abdul-Sada, A., Nicholls, E., Hill, E. i Goulson, D. (2015) Neonicotinoid residues in wildflowers, a potential route of chronic exposure for bees. *Environmental Science and Technology*, 49, 12731-12740
- ∞ Botías, C., David, A., Hill, E. i Goulson, D. (2016) Contamination of wild plants near neonicotinoid seed-treated crops, and implications for non-target insects. *Science of the Total Environment*, 566-567, 269-278
- ∞ Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME) (2007) *Canadian Water Quality Guidelines: Imidacloprid*. Scientific Supporting Document. Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg
- ∞ Carreck, N.L. i Ratnieks, F.W. (2014) The dose makes the poison: have "field realistic" rates of exposure of bees to neonicotinoid insecticides been overestimated in laboratory studies? *Journal of Apicultural Research*, 53, s. 607-614
- ∞ Cox, C. (2001) Insecticide factsheet: imidacloprid. *Journal of Pesticide Reform*, 21, s. 15-21
- ∞ Cresswell, J.E. (2011) A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology*, 20, s. 149-157
- ∞ Cresswell, J.E., Page, C., Uygun, M., i in. (2012) Differential sensitivity of honey bees and bumble bees to a dietary insecticide (imidacloprid). *Zoology*, 115, s. 365-371
- ∞ Cresswell, J.E., Robert, F-X.L., Florance, H. i Smirnoff, N. (2014) Clearance of ingested neonicotinoid pesticide (imidacloprid) in honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*). *Pest Management Science*, 70, s. 332-337
- ∞ Cutler, G.C., Scott-Dupree, C.D., Sultan, M., McFarlane, A.D. i Brewer, L. (2014) A large-scale field study examining effects of exposure to clothianidin seed-treated canola on honey bee colony health, development, and overwintering success. *PeerJ*, 2, e652

- ∞ Cutler, G.C. and Scott-Dupree, C.D. (2014) A field study examining the effects of exposure to neonicotinoid seed-treated maize on commercial bumble bee colonies. *Ecotoxicology*, 23, s. 1755-1763
- ∞ David, A., Botías, C., Abdul-Sada, A., Nicholls, E., Rotheray, E.L., Hill, E.M. i Goulson, D. (2016) Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. *Environment International*, 88, s. 169-178
- ∞ Devillers, J., Decourtye, A., Budzinski, H., Pham-Delegue, M.H., Cluzeau, S. i Maurin, G. (2003) Comparative toxicity and hazards of pesticides to APIS and non-APIS bees. A chemometrical study. *SAR QSAR Environmental Research*, 14, s. 389-403
- ∞ Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo, G. i 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*, 110, s. 18466–18471
- ∞ Divley, G.P., Embrey, M.S., Kamel, A., Hawthorne, D.J. i Pettis, J.S. (2015) Assessment of chronic sublethal effects of imidacloprid on honey bee colony health. *PLoS One*, 10, e0118748
- ∞ Douglas, M.R. i Tooker, J.F. (2015) Large-scale deployment of seed treatments has driven rapid increase in use of neonicotinoid insecticides and preemptive pest management in U.S. field crops. *Environmental Science and Technology*, 49, s. 5088-5097
- ∞ Douglas, M.R., Rohr, J.R. i Tooker, J.F. (2015) Neonicotinoid insecticide travels through a soil food chain, disrupting biological control of non-target pests and decreasing soya bean yield. *Journal of Applied Ecology*, 52, s. 250-260
- ∞ Elston, C., Thompson, H.M. i Walters, K.M. (2013) Sub-lethal effects of thiamethoxam, a neonicotinoid pesticide, and propiconazole, a DMI fungicide, on colony initiation in bumblebee (*Bombus terrestris*) micro-colonies. *Apidologie*, 44, s. 563
- ∞ European Commission (EC) (2004a) Review report for the active substance acetamiprid
- ∞ European Commission (EC) (2004b) Review report for the active substance thiacloprid
- ∞ European Commission (EC) (2005) Review report for the active substance clothianidin
- ∞ European Commission (EC) (2006) Review report for the active substance thiamethoxam
- ∞ European Food Safety Authority (EFSA) (2008) Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance imidacloprid. *European Food Safety Authority Scientific Report*. European Food Safety Authority
- ∞ European Food Safety Authority (EFSA) (2013a) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin. *European Food Safety Authority Journal*, 11, 3066
- ∞ European Food Safety Authority (EFSA) (2013b) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam. *European Food Safety Authority Journal*, 11, 3067
- ∞ European Food Safety Authority (EFSA) (2013c) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid. *European Food Safety Authority Journal*, 11, 3068
- ∞ de Perre, C., Murphy, T.M. i Lydy, M.J. (2015) Fate and effects of clothianidin in fields using conservation practices. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34, 258-265
- ∞ Falcone, J.F. i DeWald, L.E. (2010) Comparisons of arthropod and avian assemblages in insecticide-treated

and untreated eastern hemlock (*Tsuga canadensis* [L.] Carr) stands in Great Smoky Mountains National Park, USA. *Forest Ecology and Management*, 260, 856-863

- ∞ Feltham, H., Park, K. i Goulson, D. (2014) Field realistic doses of pesticide imidacloprid reduce bumblebee pollen foraging efficiency. *Ecotoxicology*, 23, 317-323
- ∞ Food and Environment Research Agency (FERA) (2013) Effects of neonicotinoid seed treatments on bumble bee colonies under field conditions. Sand Hutton, York YO41 1LZ <http://FERA.co.uk/ccss/documents/defraBumbleBeeReportPS2371V4a.pdf>
- ∞ Forister, M.L., Cousens, B., Harrison, J.G., i in. (2016) Increasing neonicotinoid use and the declining butterfly fauna of lowland California. *Biology Letters*, 12, 20160475
- ∞ Frewin, A.J., Schaafsma, A.W. i Hallett, R.H. (2014) Susceptibility of *Aphelinus certus* (Hymenoptera: Aphelinidae) to neonicotinoid seed treatments used for soybean pest management. *Journal of Economic Entomology*, 107, 1450-1457]
- ∞ Galvanho, J.P., Carrera, M.P., Moreira, D.D.O, Erthal, M., Silva, C.P. i Samuels, R.I. (2013) Imidacloprid inhibits behavioral defences of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Hymenoptera:Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 26, 1-13
- ∞ Gibbons, D., Morrissey, C. i Mineau, P. (2015) A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 103-118
- ∞ Gilburn, A.S., Bunnefeld, N., Wilson, J.M., Botham, M.S., Brereton, T.M., Fox, R. i Goulson, D. (2015) Are neonicotinoid insecticides driving declines of widespread butterflies? *PeerJ*, 3, e1402
- ∞ Gill, R.J., Ramos-Rodriguez, O. i Raine, N.E. (2012) Combined pesticide exposure severely affects individual – and colony-level traits in bees. *Nature*, 491, 105-108
- ∞ Gill, R.J. and Raine, N.E. (2014) Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure. *Functional Ecology*, 28, 1459-1471
- ∞ Girolami, V., Marzaro, M., Vivan, L., Mazzon, L., Giorio, C., Marton, D. i Tapparo, A. (2013) Aerial powdering of bees inside mobile cages and the extent of neonicotinoid cloud surrounding corn drillers. *Journal of Applied Entomology*, 1-2, 35-44
- ∞ Godfray, H.C.J., Blacquière, T., Field, L.M., i in. (2014) A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B*, 281, 20140558
- ∞ Godfray, H.C.J., Blacquière, T., Field, L.M., i in. (2015) A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B*, 282, 20151821
- ∞ Goulson, D. (2013) An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50, 977-987
- ∞ Goulson, D. (2015) Neonicotinoids impact bumblebee colony fitness in the field; a reanalysis of the UK's Food & Environment Research Agency 2012 experiment. *PeerJ*, 3, e854
- ∞ Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. i Rotheray, E.L. (2015) Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides and lack of flowers. *Science*, 347, 1255957
- ∞ Graystock, P., Goulson, D. i Hughes, W.O.H. (2015) Parasites in bloom: flowers aid dispersal and transmission

of pollinator parasites within and between bee species. *Proceedings of the Royal Society B*, 282, 20151371

- ∞ Gupta, S., Gajbhiye, V.T. i Gupta, R.K. (2008) Soil dissipation and leaching behavior of a neonicotinoid insecticide thiamethoxam. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80, 431-437
- ∞ Hallmann, C.A., Foppen, R.P.B., van Turnhout, C.A.M., de Kroon, H. i Jongejans, E. (2014) Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature*, 511, 341-344
- ∞ Henry, M., Beguin, M., Requier, F., i in. (2012) A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*, 336, 348-350
- ∞ Hilton, M.J., Jarvis, T.D. i Ricketts, D.C. (2015) The degradation rate of thiamethoxam in European field studies. *Pest Management Science*, 72, 388-397
- ∞ Hladik, M.L., Kolpin, D.W. i Kuivila, K.M. (2014) Widespread occurrence of neonicotinoid insecticides in streams in a high corn and soybean producing region, USA. *Environmental Pollution*, 193, 189-196
- ∞ Hladik, M.L., Vandever, M. i Smalling, K.L. (2016) Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current-use pesticides. *Science of the Total Environment*, 542, 469 – 477
- ∞ Hladik, M.L. i Kolpin, D.W. (2016) First national-scale reconnaissance of neonicotinoid insecticides in streams across the USA. *Environmental Chemistry*, 13, 12-20
- ∞ Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J.T. i Roe, R.M. (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection*, 23, 371-378
- ∞ Jones, A., Harrington, P. i Turnbull, G. (2014) Neonicotinoid concentrations in arable soils after seed treatment applications in preceding years. *Pest Management Science*, 70, 1780-1784
- ∞ Laycock, I., Cotterell, K., O'Shea-Wheller, T.A. i Cresswell, J.E. (2014) Effects of the neonicotinoid pesticide thiamethoxam at field-realistic levels on microcolonies of *Bombus terrestris* worker bumblebees. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 153-158
- ∞ Lopez-Antia, A., Ortiz-Santaliestra, M.E., Mougeot, F. i Mateo, R. (2013) Experimental exposure of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) to seeds coated with imidacloprid, thiram and difenoconazole. *Ecotoxicology*, 22, 125-138
- ∞ Lopex-Anita, A., Ortiz-Santaliestra, M.E., Mougeot, F. i Mateo, R. (2015) Imidacloprid-treated seed ingestion has lethal effect on adult partridges and reduces both breeding investment and offspring immunity. *Environmental Research*, 136, 97-107
- ∞ Lu, Z., Challis, J.K. i Wong, C.S. (2015) Quantum yields for direct photolysis of neonicotinoids insecticides in water: implications for exposure to nontarget aquatic organisms. *Environmental Science and Technology*, 2, 188-192
- ∞ Kitulagodage, M., Astheimer, L.B. i Buttemer, W.A. (2008) Diacetone alcohol, a dispersant solvent, contributes to acute toxicity of a fipronil-based insecticide in a passerine bird. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 597-600
- ∞ Kitulagodage, M., Buttemer, W.A. i Astheimer, L.B. (2011a) Adverse effects of fipronil on avian reproduction and development: maternal transfer of fipronil to eggs in zebra finch *Taeniopygia guttata* and in ovoexposure in chickens *Gallus domesticus*. *Ecotoxicology*, 20, 653-660
- ∞ Kitulagodage, M., Isanhart, J., Buttemer, W.A., Hooper, M.J. i Astheimer, L.B. (2011b) Fipronil toxicity in northern bobwhite quail *Colinus virginianus*: reduced feeding behaviour and sulfone metabolite formation.

Chemosphere, 83, 524-530

- ∞ Krupke, C.H., Hunt, G.J., Eitzer, B.D., Andino, G. i Given, K. (2012) Multiple route of pesticide exposure for honeybees living near agricultural fields. *PLoS One*, 7, e299268
- ∞ Kunce, W., Josefsson, S., Örberg, J. i Johansson, F. (2015) Combination effects of pyrethroids and neonicotinoids on development and survival of *Chironomus riparius*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 426-431
- ∞ Limay-Rios, V., Forero, G., Xue, Y., Smith, J., Baute, T. i Schaafsma, A. (2015) Neonicotinoid insecticide residues in soil dust and associated parent soil in fields with a history of seed treatment use on crops in southwestern Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 303-310
- ∞ Long, E.Y. i Krupke, C.H. (2015) Intersections between neonicotinoid seed treatments and honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 8-13
- ∞ Long, E.Y. i Krupke, C.H. (2016) Non-cultivated plants present a season-long route of pesticide exposure for honey bees. *Nature Communications*, 7, 11629
- ∞ Main, A.R., Headley, J.V., Peru, K.M., Michel, N.L., Cessna, A.J. i Morrissey, C.A. (2014) Widespread use and frequent detection of neonicotinoid insecticides in wetlands of Canada's Prairie Pothole Region. *PLoS One*, 9, e92821
- ∞ Main, A.R., Michel, N.L., Cavallaro, M.C., Headley, J.V., Peru, K.M. i Morrissey, C.A. (2016) Snowmelt transport of neonicotinoid insecticides to Canadian Prairie wetlands. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 215, 76-84
- ∞ Manzone, M., Balsari, P., Marucco, P. i Tamagnone, M. (2015) Potential external contamination of pneumatic seed drills during sowing of dressed maize seeds. *Pest Management Science*, 72, 1302-1308
- ∞ Mason, R., Tennekes, H., Sánchez-Bayo, F. i Jepsen, P.U. (2014) Immune suppression by neonicotinoid insecticides at the root of global wildlife declines. *Journal of Environmental Immunology and Toxicology*, 1, 3-12
- ∞ Mineau, P. i Palmer, C. (2013) Neonicotinoid insecticides and birds: the impact of the nation's most widely used insecticides on birds. *American Bird Conservancy*
- ∞ Mommaerts, V., Reynders, S., Boulet, J., Besard, L., Sterk, G. i Smagghe, G. (2010) Risk assessment for side-effects of neonicotinoids against bumblebees with and without impairing foraging behaviour. *Ecotoxicology*, 19, 207-215
- ∞ Mogren, C.L. i Lundgren, J.G. (2016) Neonicotinoid-contaminated pollinator strips adjacent to cropland reduce honey bee nutritional status. *Scientific Reports*, 6, 29608
- ∞ Morrissey, C.A., Mineau, P., Devries, J.H., Sánchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M.C. i Liber, K. (2015) Neonicotinoid contamination of global surfacewaters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International*, 74, 291-303
- ∞ Mörtl, M., Kereki, O., Darvas, B., Klátyik, S., Vehovszky, A., Gyóri, J. i Székács, A. (2016) Study on soil mobility of two neonicotinoid insecticides. *Journal of Chemistry*, 2016, 4546584
- ∞ Nieto, A., Roberts, S.P.M., Kemp, J., i in. (2014) European Red List of bees. Luxembourg: Publication Office of the European Union
- ∞ Nuyttens, D., Devarrewaere, W., Verboven, P. i Foqué, P. (2013) Pesticide-laden dust emission and drift from treated seeds during seed drilling: a review. *Pest Management Science*, 69, 564-575

- ∞ Pecenka, J.R. i Lundgren, J.G. (2015) Non-target effects of clothianidin on monarch butterflies. *Science of Nature*, 102, 19
- ∞ Peña, A., Rodríguez-Liébana, J.A. i Mingorance, M.D. (2011) Persistence of two neonicotinoid insecticides in wastewater, and in aqueous solutions of surfactants and dissolved organic matter. *Chemosphere*, 84, 464-470
- ∞ Pesticide properties database (PPDB) (2012) Pesticide properties database. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>
- ∞ Pettis, J., vanEngelsdorp, D., Johnson, J. i Dively, G. (2012) Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften* 99, 153-158
- ∞ Pilling, E., Campbell, P., Coulson, M., Ruddle, N. i Tornier, I. (2013) A four-year field program investigating long-term effects of repeated exposure of honey bee colonies to flowering crops treated with thiamethoxam. *PLoS One*, 8, e77193
- ∞ Pisa, L.W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., i in. (2015) Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 68-102
- ∞ Pistorius, J., Bischoff, G., Heimbach, U. i Stähler, M. (2009) Bee poisoning incidents in Germany in spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize. In: Proceedings "Hazards of pesticides to bees—10th international symposium of the ICP-bee protection group". *Julius-Kühn Archiv* 423:118–126
- ∞ Placke, F.J. (1998a) Long-term soil dissipation study with Zelmone 350 FS in Great Britain following deed dressing of winter barley. Draft assessment report (DAR)—public version—Initial risk assessment provided by the rapporteur Member State Germany for the existing active substance imidacloprid. Vol 3, Annex B, B8. European Food Safety Authority, Parma, Italy, pp 637–642
- ∞ Placke, F.J. (1998). Long-term soil dissipation study with Confidor 70WG in apple orchards in Germany following spray application. Draft assessment report (DAR)—public version—Initial risk assessment provided by the rapporteur Member State Germany for the existing active substance imidacloprid. Vol 3, Annex B, B8. European Food Safety Authority, Parma, Italy, pp 630–637
- ∞ Pohorecka, K., Skubida, P., Semkiw, P., i in. (2013) Effects of exposure of honey bee colonies to neonicotinoid seed-treated maize crops. *Journal of Apicultural Science*, 57, 199-208
- ∞ Qi, W., Singer, H., Berg, M., Müller, B., Pernet-Coudrier, B., Liu, H. i Qu, J. (2015) Elimination of polar micro-pollutants and anthropogenic markers by wastewater treatment in Beijing, China. *Chemosphere*, 119, 1054-1061
- ∞ Reetz, J.E., Schulz, W., Seitz, W., Spittler, M., Zühlke, S., Armbruster, W. i Wallner, K. (2015) Uptake of neonicotinoid insecticides by water foraging honey bees (Hymenoptera: Apidae) through guttation fluid of winter oilseed rape. *Journal of Economic Entomology*, 109, 31-40
- ∞ RIVM (2008) Environmental Risk Limits for Imidacloprid. In: Posthuma-Doodeman C.J.A.M. (Ed.), National Institute for Public Health and the Environment Bilthoven, Netherlands
- ∞ Rolke, D., Persigehl, M., Peters, B., Sterk, G. i Blenau, W. (2016) Large-scale monitoring of effects of clothianidin-dressed oilseed rape seeds on pollinating insects in northern Germany: residues of clothianidin in pollen, nectar and honey. *Ecotoxicology*, 25, 1691
- ∞ Rundlöf, M., Andersson, G.K.S., Bommarco, R., i in. (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature*, 521, 77-80

- ∞ Sadaria, A.M., Supowit, S.D. i Halden, R.U. (2016) Mass balance assessment for six neonicotinoid insecticides during conventional wastewater and wetland treatment: nationwide reconnaissance in United States wastewater. *Science of the Total Environment*, 50, 6199 – 6206
- ∞ Samson-Robert, O., Labrie, G., Chagnon, M. i Fournier, V. (2014) Neonicotinoid-contaminated puddles of water represent a risk of intoxication for honeybees. *PLoS One*, 9, e108443
- ∞ Sánchez-Bayo, F. (2006) Comparative acute toxicity of organic pollutants and reference values for crustaceans. I. Branchiopoda, Copepoda and Ostracoda. *Environmental Pollution*, 139, 385 – 420
- ∞ Sánchez-Bayo, F. i Hyne, R.V. (2014). Detection and analysis of neonicotinoids in river waters – development of a passive sampler for three commonly used insecticides. *Chemosphere*, 99, 143-151
- ∞ Sánchez-Bayo, F. i Goka, K., (2014) Pesticide residues and bees – a risk assessment. *PLoS One*, 9, e94482
- ∞ Sánchez-Bayo, F., Goulson, D., Pennacchio, F., Nazzi, F., Goka, K. i Desneux, N. (2016) Are bee diseases linked to pesticides? A brief review. *Environment International*, 89-90, 7-11
- ∞ Sandrock, C., Tanadini, L.G., Pettis, J.S., Biesmeijer, J.C., Potts, S.G. i Neumann, P. (2014) Sublethal neonicotinoid insecticide exposure reduces solitary bee reproductive success. *Agricultural and Forest Entomology*, 16, 119-128
- ∞ Santos, A., Oliveira, B.L. i Samuels, R.I. (2007) Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of Imidacloprid. *Mycopathology*, 163, 233-240
- ∞ Schaafsma, A., Limay-Rios, V., Baute, T., Smith, J. i Xue, Y. (2015) Neonicotinoid Insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario. *PLoS One*, 10, e0118139
- ∞ Schaafsma, A., Limay-Rios, V., Xue, Y., Smith, J. i Baute, T. (2016) Field-scale examination of neonicotinoid insecticide persistence in soils as a result of seed treatment use in commercial maize (corn) fields in southern Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 295-302
- ∞ Scholer, J. i Krischik, V. (2014) Chronic exposure of imidacloprid and clothianidin reduce queen survival, foraging, and nectar storing in colonies of *Bombus impatiens*. *PLoS One*, 9, e91573
- ∞ Selim, H.M., Jeong, C.Y. i Elbana, T.A. (2010) Transport of Imidacloprid in soils: miscible displacement experiments. *Soil Science*, 175, 375-381
- ∞ Syracuse Environmental Research Associate (SERA) (2005) Imidacloprid—human health and ecological risk assessment – final report. Report from Syracuse Environmental Research Associates to USDA, Forest Service
- ∞ Sgolastra, F., Medrzycki, P., Bortolotti, L., i in. (2016) Synergistic mortality between a neonicotinoid insecticide and an ergosterol-biosynthesis-inhibiting fungicide in three bee species. *Pest Management Science*, in press
- ∞ Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., i in. (2015) Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 5-34
- ∞ Smalling, K.L., Reeves, R., Muths, E., Vandever, M., Battaglin, W.A., Hladik, M.L. i Pierce, C.L. (2015) Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. *Science of the Total Environment*, 502, 80-90
- ∞ Smit, C.E., Posthuma-Doodeman, C.J.A.M., Van Vlaardingen, P.L.A. i De Jong, F.M.W. (2014) Ecotoxicity of

imidacloprid to aquatic organisms: derivation of water quality standards for peak and long-term exposure. Human and Ecological Risk Assessment. <http://dx.doi.org/10.1080/10807039.2014.964071>.

- ∞ Spurgeon, D., Hesketh, H., Lahive, E., i in. (2016) Chronic oral lethal and sub-lethal toxicities of different binary mixtures of pesticides and contaminants in bees (*Apis mellifera*, *Osmia bicornis* and *Bombus terrestris*). EFSA supporting publication 2016:EN-1076
- ∞ Stanley, D.A., Garratt, M.P.D., Wickens, J.B., Wickens, V.J., Potts, S.G. i Raine, N.E. (2015) Neonicotinoid pesticide exposure impairs crop pollination services provided by bumblebees. *Nature*, 528, 548-550
- ∞ Stanley, D.A. i Raine, N.E. (2016) Chronic exposure to a neonicotinoid pesticide alters the interactions between bumblebees and wild plants. *Functional Ecology*, 30, 1132-1139
- ∞ Sterk, G., Peters, B., Gao, Z. i Zumkier, U. (2016) Large-scale monitoring of effects of clothianidin – dressed OSR seeds on pollinating insects in Northern Germany: effects on large earth bumble bees (*Bombus terrestris*). *Ecotoxicology*, 25, 1666-1678
- ∞ Stewart, S.D., Lorenz, G.M., Catchot, A.L., i in. (2014) Potential exposure of pollinators to neonicotinoid insecticides from the use of insecticide seed treatments in the mid-southern United States. *Environmental Science and Technology*, 48, 9762, 9769
- ∞ Switzer, C.M. i Combes, S.A. (2016) The neonicotinoid pesticide, imidacloprid, affects *Bombus impatiens* (bumblebee) sonication behavior when consumed at doses below the LD50. *Ecotoxicology*, 25, 1150-1159
- ∞ Székács, A., Mörtl, M. i Darvas, B. (2015) Monitoring pesticide residues in surface and ground water in Hungary: surveys in 1990–2015. *Journal of Chemistry*, 2015, 717948
- ∞ Szczepaniec, A., Creary, S.F., Laskowski, K.L., Nyrop, J.P. i Raupp, M.J. (2011) Neonicotinoid insecticide imidacloprid causes outbreaks of spider mites on elm trees in urban landscapes. *PLoS One*, 6, e20018
- ∞ Thompson, H.M., Fryday, S.L., Harkin, S. i Milner, S. (2014) Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. *Apidologie*, 45, 545-553
- ∞ Thuyet, D.Q., Watanabe, H. i Motobayashi, T. (2011) Effect of formulations and treatment methods of nursery boxes applied with insecticide on the behavior of imidacloprid in rice paddy fields. *Journal of Pest Science*, 36, 9-15
- ∞ Tingle, C.C.D., Rother, J.A., Dewhurst, C.F., Lauer, S. i King, W.J. (2003) Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 176, s.1–66
- ∞ Tišler, T., Jemec, A., Mozetic, B. i Trebse, P. (2009) Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76, s. 907-914
- ∞ Tokumoto, J., Danjo, M., Kobayashi, Y., i in. (2013) Effects of exposure to clothianidin on the reproductive system of male quails. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 75, 755-760
- ∞ U.S. Environmental Protection Agency (US EPA) (2014) OPP Pesticide Toxicity Database. http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/aquatic_life_benchmark.htm
- ∞ Van Dijk, T.C., Van Staalduinen, M.A. i Van der Sluijs, J.P. (2013) Macro-invertebrate decline in surface water polluted with imidacloprid. *PLoS One*, 8, e62374
- ∞ vanEngelsdorp, D., Speybroeck, N., Evans, J.D., i in. (2010) Weighing risk factors associated with bee Colony Collapse Disorder by classification and regression tree analysis. *Journal of Economic Entomology*, 103, 1517-1523

- ∞ Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., i in. (2011) Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. PLoS One 6, e21550
- ∞ Vijver, M.G. i van den Brink, J. (2014) Macro-invertebrate decline in surface water polluted with imidacloprid: a rebuttal and some new analyses. PLoS One, 9, e89837
- ∞ von Gunten, K. (2012) Photodegradation and sorption to Na-SAZ clay, soil and Pollen of the neonicotinoids acetamiprid, clothianidin, imidacloprid and thiacloprid. <https://www.yumpu.com/en/document/view/7393414/photodegradation-and-sorption-to-na-sazclay-soil-eth-zurich>
- ∞ Wachendorff-Neumann, U., Mauler-Machnik, A., Erdelen, C. i Ohtake, H. (2012) Synergistic mixture of trifloxystrobin and imidacloprid. Google patents. United States: Bayer Cropscience AG
- ∞ Wang, Y., Wu, S., Chen, L., Wu, C., Yu, R., Wang, Q. i Zhao, X. (2012) Toxicity assessment of 45 pesticides to the epigeic earthworm *Eisenia fetida*. Chemosphere, 88, 484-491
- ∞ Wang, L., Zeng, L. i Chen, J. (2015a) Sublethal effect of imidacloprid on *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) feeding, digging, and foraging behaviour. Environmental Entomology, 44, 1544-1552
- ∞ Wang, L., Zeng, L. i Chen, J. (2015b) Impact of imidacloprid on new queens of imported fire ants, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). Scientific Reports, 5, 17938
- ∞ Whitehorn, P.R., O'Connor, S., Wackers, F.L. i Goulson, D. (2012) Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. Science, 336, 351-352
- ∞ Woodcock, B.A., Isaac, N.J.B., Bullock, J.M., Roy, D.B., Garthwaite, D.G., Crowe, A. and Pywell, R.F. (2016) Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. Nature Communications, 7, 12459
- ∞ Xing, Z.S., Chow, L., Rees, H., Meng, F.R., Li, S., Ernst, B., Benoy, G., Zha, T.S. i Hewitt, L.M. (2013) Influences of sampling methodologies on pesticide-residue detection in stream water. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 64, 208-218
- ∞ Xu, T., Dyer, D.G., McConnell, L.L., Bondarenko, S., Allen, R. i Heinemann, O. (2016) Clothianidin in agricultural soils and uptake into corn Pollen and canola nectar after multiyear seed treatment applications. Environmental Toxicology and Chemistry, 35, 311-321
- ∞ Yu, R.X., Wang, Y.H., Hu, X.Q., Wu, S.G., Cai, L.M. i Zhao, X.P. (2015) Individual and joint acute toxicities of selected insecticides against *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Journal of Economic Entomology, 109, 327-333

GREENPEACE

Greenpeace to międzynarodowa organizacja pozarządowa, działająca na rzecz ochrony środowiska naturalnego. Organizacja koncentruje swoje działania na najbardziej istotnych, zarówno globalnych jak i lokalnych, zagrożeniach dla bioróżnorodności i środowiska. Biura Greenpeace znajdują się w ponad 50 krajach świata. Aby zachować swoją niezależność, Greenpeace nie przyjmuje dotacji od rządów, partii politycznych i korporacji. Działania Greenpeace finansowane są dzięki wsparciu indywidualnych darczyńców.

W Polsce Greenpeace działa od 2004 roku z siedzibą główną w Warszawie.

Autorzy:

Thomas Wood i Dave Goulson, Uniwersytet w Sussex

Redakcja merytoryczna wersji polskiej:

dr Anna Gajda, SGGW w Warszawie, Tomasz Kiljanek

Zdjęcie na okładce: © Alffoto / iStockphoto

Projekt graficzny: Juliana Devis

Skład: Joanna John

Redakcja i korekta: Magdalena Kędzierska-Zaporowska

Styczeń 2017

Fundacja Greenpeace Polska

ul. Altowa 4

02-386 Warszawa

www.greenpeace.pl

Wydrukowano na papierze ekologicznym

