

Stanovisko/Opinion

Hodnotenie rizika rezíduí pesticídov vo včel'om vosku

Risk assessment of pesticide residues in beeswax

Autor: MVDr. Dana Staroňová

NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Ústav včelárstva Liptovský Hrádok

2018

Názov: Hodnotenie rizika rezíduí pesticídov vo včelom vosku

Editor: Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s Európskym úradom pre bezpečnosť potravín

Vydavateľ: Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR

Vydanie: 1. vydanie, november 2018

Rozsah: 44 strán

Náklad: e-dokument online- pdf, Neprešlo jazykovou úpravou.

Copyright © Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR

ISBN: 978-80-89738-14-4

ABSTRAKT

Včelí vosk je produkt voskotvorných žliaz včiel robotníc. Vo včelstve slúži v podobe včelieho diela na ukladanie medu, peľu a ako materiál vytvárajúci špecifické podmienky pre vývoj včelieho plodu. V úli zotrúva približne 3 roky. Následne je odovzdávaný do výrobní medzistien za účelom výroby nových medzistien. Chemické zloženie vosku umožňuje naväzovanie lipofilných pesticídov prinášaných včelami z prostredia a akaricídnych látok priamo podávaných do včelstva za účelom liečby varroózy. Tieto látky sú prevažne termostabilné a pri cirkulácii vosku hrozí riziko kumulácie ich rezíduí. Pri stavbe včelieho diela na medzistene využíva včela približne 50% vosku z medzisteny. Preto je kvalita tohto vosku dôležitá z pohľadu zdravia a vitality včelstva. Včely všetkých vekových skupín sú citlivé na účinky expozície pesticídmi, ale kontaminácia včelieho vosku postihuje hlavne plod, pretože plod je v priamom kontakte so stenou bunky plástu. Zdravie včelstiev je v súčasnosti najviac ohrozené chronickou kontaktnou a dietárnou expozíciou rezíduami viacerých pesticídnych látok súčasne v peľi, mede a včelom vosku. Aktuálne na Slovensku narastá počet nových, začínajúcich včelárov. Voľným nákupom vosku a medzistien sa na náš trh dostáva aj včelí vosk vyprodukovaný mimo územia Slovenska. Je preto potrebné zhodnotiť riziká vyplývajúce z týchto skutočností.

Kľúčové slová: včely, pesticídy, akaricídy, včelí vosk

ABSTRACT

Beeswax is a product of wax-producing glands of honeybee workers. In the beehive, it serves as combs for the storage of honey, pollen and as a material that creates specific conditions for the development of the bee brood. Wax is about 3 years inside the beehive. Subsequently, it is passed to beeswax foundation manufacturers to produce new comb foundations. The chemical composition of beeswax allows the binding of lipophilic pesticides brought by bees from the environment and acaricides that are used for the treatment of varroosis. These substances are mainly thermostable and there is a risk of the accumulation of their residues within the wax circulation. During the comb construction, the worker bees use about 50% of the wax from the comb foundation. Therefore, the quality of this beeswax is important for health and vitality of colony. Worker bees of all ages are susceptible to the effects of pesticide exposure, but beeswax contamination primarily affects the brood because of its direct contact with the brood cell wall. Bee colony health is currently threatened with chronic contact and oral exposure to multiple pesticide residues simultaneously present in pollen, honey and wax. Recently, the number of new beekeepers has been growing in Slovakia. Due to free market of beeswax and comb foundations, beeswax produced outside of Slovakia comes to our market, too. It is therefore necessary to assess the risks arising from above mentioned facts.

Key words: honey bees, pesticides, acaricides, beeswax

OBSAH

ABSTRAKT	3
ABSTRACT	4
1. ÚVOD	6
2. MANDÁT	9
3. VÝSLEDKY ANALÝZ OBSAHU REZÍDUÍ PESTICÍDOV VO VČEĽOM VOSKU	11
3.1 REZÍDUÁ PESTICÍDOV Z PROSTREDIA	15
3.2 REZÍDUÁ PESTICÍDOV Z LIEČIV NA TLMIENIE VARROÓZY	18
3.2.1 SITUÁCIA NA SLOVENSKU	22
4. ANALÝZA RIZIKA REZÍDUÍ PESTICÍDOV VO VČEĽOM VOSKU	24
4.1 Dynamika pohybu rezíduí pesticídov v úľovom prostredí	24
4.2 VPLYV NA ZDRAVIE A VITALITU VČELSTIEV	27
4.2.1 RIZIKO VYPLÝVAJÚCE Z KOMBINOVANÉHO VPLYVU VIACERÝCH PESTICÍDOV A ĎALŠÍCH RIZIKOVÝCH FAKTOROV	28
4.3 HODNOTENIE RIZIKA PRE ĽUDÍ	31
5. PROBLÉM FALŠOVANIA VČELIEHO VOSKU	34
6. ZÁVERY A ODPORÚČANIA	36
7. ZOZNAM SKRATIEK	40
8. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	41

1. ÚVOD

Včelí vosk je metabolický produkt včely, ktorý sa tvorí vo voskotvorných žľazách včelích robotníc. Včelám slúži na stavbu plástov. V bunkách plástov odchovávajú plod a uskladňujú si v nich zásoby – glycidové (med) a proteínové (peľ). Tvorbu vosku významne ovplyvňuje dobrý stav týchto zásob, vhodné stavebné priestory v úli, aj prítomnosť dobrej matky (Veselý a kol., 2007). Voskotvorné žľazy sú plne vyvinuté u 12 až 18 - dňových včelích robotníc. U starších včiel sa ich aktivita znižuje, pričom v prípade potreby sa dokáže obnoviť. Vosková šupinka má hmotnosť okolo 1 mg, takže na produkciu 1 kg vosku je potrebných zhruba 1 milión šupiniek. Čerstvo vyprodukovaný vosk je bielej farby, pozdejšie sa mení na žltú, pričom toto sfarbenie pochádza z propolisových a peľových pigmentov. Včelí vosk má charakteristickú vôňu pochádzajúcu zo včiel, medu, propolisu a peľu (Bogdanov, 2004).

Včelí vosk je veľmi zložitá zmes najmä esterov vyšších mastných kyselín s vyššími alkoholmi, ďalej uhlíkovodíkov, voľných mastných kyselín, sterolov farbív a aromatických látok (Čavojský a kol., 1981). Obsahuje viac ako 300 rôznych látok (Bogdanov, 2004).

Celkové množstvo vosku v úli sa pohybuje okolo 1,5 kg, pričom väčšina z neho tu ostáva po dlhú dobu. Včelstvo minimalizuje potrebu vosku tým, že neustále pre svoje aktuálne potreby prebudúva už prítomný vosk. Nový vosk včelstvo v hojnej miere produkuje v čase potreby nového priestoru na uskladnenie medových zásob. Dná jednotlivých buniek plástov majú hrúbku iba cca 0.176 ± 0.028 mm a steny cca $0,0730 \pm 0,008$ mm. Práve tieto rozmery umožňujú rýchlu difúziu polutantov. Vypočítaná povrchová plocha buniek plástov je cca 36 m^2 (Tremolada a kol., 2011), pohybuje sa v závislosti od sily včelstva a úľových rozmerov, čiže výmenná plocha medzi voskom a medom, peľom a plodom je pre rezíduá pesticídov prítomných vo vosku značná. V blízkosti plodu udržujú včely konštantnú teplotu medzi $34,5^\circ\text{C}$ a $35,5^\circ\text{C}$. Tieto vysoké teploty v plodisku urýchľujú difúziu kontaminantov v rámci úľa. Taktiež intenzívna činnosť včiel v rámci ich sociálnej komunikácie, starostlivosti o plod a tvorbe zásob ďalej zvyšuje distribúciu akýchkoľvek kontaminantov, ktoré môžu byť v úli prítomné (Tremolada a kol., 2011). Priemerná ročná produkcia vosku jedným včelstvom sa pohybuje okolo 0,3 kg (Semkiw a Skubida, 2013).

Najväčšia časť včelieho vosku je v celosvetovom meradle využívaná opäť vo včelárstve na produkciu medzistienok, včelí vosk je ďalej používaný na kozmetické účely

(25-30%), farmaceutické produkty (25-30 %), sviečky (20%) a ďalšie účely (10-20%) (Bogdanov, 2004).

Pesticíd je pomerne široký pojem, ktorý FAO (2005) definuje nasledovne: pesticíd je akákoľvek látka alebo zmes látok určených na prevenciu, ničenie alebo kontrolu akéhokoľvek škodcu vrátane vektorov ochorenia ľudí alebo zvierat, nežiaducich druhov rastlín alebo zvierat, ktoré spôsobujú poškodenie počas výroby alebo spracovania, skladovania, prepravy alebo uvádzania na trh potraviny, poľnohospodárskych komodít, dreva a výrobkov z dreva alebo krmív pre zvieratá alebo látky, ktoré sa môžu podávať zvieratám na kontrolu hmyzu, roztočov alebo iných škodcov v ich telách alebo na ich telách (ide hlavne o insekticídy, akaricídy, fungicídy, herbicídy, rodenticídy, nematocídy, moluskocídy, ovicídy). Termín zahŕňa látky určené na použitie ako regulátor rastu rastlín, defoliant, desikant alebo činidlo na prebierku plodov alebo predchádzanie predčasnému opadávaníu ovocia a látky aplikované na plodiny pred alebo po zbere na ochranu komodity pred poškodením počas skladovania a prepravy.

Rezíduum podľa definície FAO (2005) znamená akékoľvek špecifikované látky v alebo na potravinách, poľnohospodárskych komoditách alebo krmivách pochádzajúcich z používania pesticídu. Termín zahŕňa akékoľvek deriváty pesticídu, metabolity, reakčné produkty a nečistoty považované za toxikologicky významné. Termín „rezíduum pesticídov“ zahŕňa zvyšky z neznámych alebo nevyhnutných zdrojov (napríklad životné prostredie), ako aj známe použitia chemikálie.

Moderná poľnohospodárska rastlinná výroba sa v súčasnosti nezaobíde bez používania agrochemikálií, bez hnojív a bez prípravkov na ochranu rastlín – pesticídov (Čermáková, 2016). Extenzívne používanie pesticídov v poľnohospodárstve sa už dlhodobo považuje za jednu z prvoradých príčin nielen úbytku počtu včelstiev, ale najmä znižovania vitality včelstiev. V súčasnosti sa predpokladá, že pokles včelstiev je spôsobený kombináciou viacerých faktorov, medzi ktoré patria okrem pesticídov používaných v poľnohospodárstve aj patogény, parazity, pokles hojnosti a najmä rozmanitosti znáškových zdrojov, zmena klímy, ale aj nevhodné zootecnické zásahy chovateľov či liečebné postupy. Aby sa riziko negatívneho dopadu používania pesticídov na včely znížilo na minimum, správne používanie pesticídov je usmerňované legislatívnymi normami.

Z hľadiska rizika pre včely a iný užitočný hmyz, najväčšie riziko predstavujú zoocídy, ktoré sú určené na elimináciu strát na úrode spôsobených živočíšnymi škodcami. Zo skupiny zoocídov sú pre včely najrizikovejšie:

- a) insekticídy – určené na likvidáciu alebo potlačanie škodlivého hmyzu
- b) akaricídy – zamerané na elimináciu patogénnej činnosti roztočov
- c) aficídy - špecifický účinok proti voškám (Čermáková, 2016).

Insekticídy sú považované za jedny z hlavných faktorov prispievajúcich k súčasnému znižujúcemu sa počtu včelstiev. Včely vystavené vysokej dávke insekticídu môžu byť usmrtené priamo (nastane akútna otrava), ale častejšie sú expozície nižšími, subletálnymi dávkami, ktoré môžu ovplyvniť kognitívne funkcie, správanie a fyziológiu včiel. Ich rezíduá boli dokázané vo vosku, peľi a v mede. Zatiaľ čo subletálne účinky mnohých insekticídov sú dobre zdokumentované s použitím jednotlivých včiel v laboratóriu alebo v polo-pol'ných a pol'ných pokusoch, priame stanovenie účinkov subletálnej expozície na včelstvo ako celok (superorganizmus) je ťažko definovateľné (Johnson, 2015).

Pyretroidy flumetrin a tau-fluvalinát, látky s insekticídnym a akaricídnym účinkom, sú vo včelárskej praxi používané na liečbu infestácie včelstiev roztočom *Varroa destructor*. Na Slovensku sú aktuálne registrované 2 veterinárne lieky s účinnou látkou tau-fluvalinatum (Gabon PF 90 mg prúžky do úľa a M-1 AER 240 mg/ml koncentrát na prípravu roztoku) a 2 s ú.l. flumethrinum (Bayvarol 3,6 mg prúžok pre včely a PolyVar Yellow 275 mg prúžok do včelieho úľa). Na ochranu rastlín sú registrované v SR iba POR s ú.l. tau-fluvalinatum Mavrik a Evure, s ú.l. flumethrinum registrované v SR nie sú. V SR máme v súčasnosti registrované 3 akaricídne lieky proti varroóze s ú.l. amitraz: APIVARTIN fumigačný prúžok do úľa, AVARTIN 01-B90 a VARIDOL 125 mg/ml roztok na liečebné ošetrenie včiel.

Herbicídy a fungicídy, veľmi často používané na ochranu rastlín, nie sú určené na usmrcovanie hmyzu a ich akútna toxicita pre dospelé včely je vo všeobecnosti nízka. Tieto pesticídy zvyčajne nepodliehajú obmedzeniam v aplikácii za účelom zníženia expozície včiel, takže včely môžu pri ich aplikácii počas kvitnutia plodiny prísť do kontaktu priamo s koncentráciou aplikačnej dávky. Fungicídy sú detekované vo veľkej miere vo včelstvách. Účinky expozície fungicídov sa všeobecne pozorujú skôr u plodu ako u dospelých včiel (Johnson 2015). Preto ich môžeme považovať za možné riziko ovplyvnenia reprodukčného cyklu včelstva. Pre lepšie pochopenie ich účinku sú potrebné testy určujúce larválnu toxicitu týchto látok.

Ďalším závažným aktuálnym problémom kvality včelieho vosku je jeho falšovanie pridaním rastlinného, minerálneho vosku alebo živočíšneho tuku s niektorými vlastnosťami podobnými včelieho vosku. Samotný pravý včelí vosk so svojimi prirodzenými vlastnosťami poskytuje vo forme včelieho plástu to najideálnejšie prostredie pre vývin včelieho plodu. Pridaním voskov cudzorodých dochádza k zmene fyzikálno-chemických vlastností vzniknutej zmesi včelieho vosku s porušovadlom v porovnaní s pravým včelím voskom, čo môže nepriaznivo ovplyvniť samotný vývin lariev. Je potrebné mať na zreteli oba spomínané aspekty porušujúce kvalitu včelieho vosku (rezíduá pesticídov a falšovanie), nakoľko sú vyvíjajúce sa včelie larvy vo včelstve častokrát vystavené obom týmto javom súbežne.

2. MANDÁT

Experti národnej odbornej vedeckej skupiny (NOVS) pre Zdravotný stav a ochrana dobrých životných podmienok zvierat predložili na 30. rokovaní Komisie pre bezpečnosť potravín a výživu návrh na hodnotenie rizika „*Hodnotenie rizika rezíduí pesticídov vo včelom vosku*“.

Komisia pre bezpečnosť potravín a výživu jednohlasne odporúčala návrh na hodnotenie rizika prijať a ako riešiteľa navrhla MVDr. Danu Staroňovú.

Odbor bezpečnosti potravín a výživy (OBPV) mandát prijíma a následne pripraví Dohodu o vykonaní práce na vypracovanie hodnotenia rizika do 71 hodín v termíne od 1. 4. 2018 do 31. 10. 2018. Osnova hodnotenia rizika je súčasťou tohto mandátu. Hodnotenie rizika bude pred jeho prebratím OBPV podrobené verejnej diskusii v rámci NOVS pre Zdravotný stav a ochrana dobrých životných podmienok zvierat. Preberacie konanie bude ukončené až po zodpovedaní všetkých pripomienok.

Vypracovaním a zverejnením hodnotenia rizika na webovom sídle Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky (MPRV SR) a na Extranete EFSA (Extranet-DMS) sa splní bod A prílohy I viacročnej grantovej Dohody kontaktného bodu podpísanej medzi EFSA a MPRV SR o zabezpečení výmeny vedeckých informácií o dôležitých vedeckých výstupoch, zbere dát a dôležitých vedeckých informáciách týkajúcich sa hodnotenia rizika.

ODBORNÁ ČASŤ

Včelí vosk je produkt voskotvorných žliaz včiel robotníc. Vo včelstve slúži v podobe včelieho diela na ukladanie medu, peľu a ako materiál vytvárajúci špecifické podmienky pre vývoj včelieho plodu. V úli zotrúva približne 3 roky. Následne je odovzdávaný do výrobní

medzistien za účelom výroby nových medzistien. Lipidové zloženie vosku umožňuje naväzovanie lipofilných pesticídov prinášaných včelami z prostredia a akaricídnych látok priamo podávaných do včelstva za účelom liečby varroózy. Tieto látky sú prevažne termostabilné a pri cirkulácii vosku hrozí riziko kumulácie ich rezíduí. Pri stavbe včelieho diela na medzistene využíva včela až do 50% vosku z medzisteny. Preto je kvalita tohto vosku dôležitá z pohľadu zdravia a vitality včelstva. V súčasnosti na Slovensku narastá počet nových, začínajúcich včelárov. Voľným nákupom vosku a medzistien sa na náš trh dostáva aj včelí vosk vyprodukovaný mimo územia Slovenska. Je preto potrebné zhodnotiť riziká vyplývajúce z týchto skutočností.

Beeswax is a product of wax-producing glands of honeybee workers. In the beehive, it serves as combs for the storage of honey, pollen and as a material that creates specific conditions for the development of the bee brood. Wax is about 3 years inside the beehive. Subsequently, it is passed to beeswax foundation manufacturers to produce new comb foundations. The lipid composition of the beeswax allows the binding of lipophilic pesticides brought by bees from the environment and acaricides that are used for the treatment of Varroosis. These substances are mainly thermostable and there is a risk of the accumulation of their residues within the wax circulation. During the comb construction, the worker bees use up to 50% of the wax from the comb foundation. Therefore, the quality of this beeswax is important for health and vitality of colony. Recently, the number of new beekeepers has been growing in Slovakia. Due to free market of beeswax and comb foundations, beeswax produced outside of Slovakia comes to our market, too. It is therefore necessary to assess the risks arising from above mentioned facts.

3. VÝSLEDKY ANALÝZ OBSAHU REZÍDUIÍ PESTICÍDOV VO VČELIOM VOSKU

V súčasnosti včelárska verejnosť prevažne nahliada na včelie dielo ako na vedľajšiu komoditu, surovinu, z ktorej sa vyrábajú medzistienky. Na vopred danej kvalite vosku musia včely vystavať dielo. Prítomnosť včelieho diela vo včelstve však nemožno vnímať len ako neživú hmotu. Pre včelstvo je životne dôležitým orgánom, a tak ako každý orgán, aj ono (prostredníctvom včiel) reaguje na potreby včelstva, dynamicky sa mení a pretvára. Je to práve včelie dielo, na ktorom sa zhromažďujú toxické v tukoch rozpustné látky a tiež sa na ňom zvyšuje infekčný tlak patogénnych organizmov. Včelstvo na daný stav reaguje čistením diela, ošetrovaním filmom propolisu a náhradou novým dielom (Staroň, 2016). Pokusy ukázali, že včely pri výstavbe buniek na medzistienke pridávajú 22,5 – 41,4 % nového, panenského vosku. Percento záleží od hrúbky použitej medzistienky. Zvyšný materiál je ten, ktorý do včelstva pridal včelár, teda určil aj jeho kvalitu. Pri každom spôsobe včelárenia vzniká každým rokom množstvo starých, vyradených súší (prázdne hnedé pláсты) (Staroň, 2016), z ktorých vosk po spracovaní včelárom na „voskový koláč“ (kompaktný voskový blok) je odovzdaný do výroby medzistien.

Kontaminácia úľového prostredia pesticídmi pochádza z dvoch zdrojov:

1. Environmentálny zdroj – pesticídy používané v poľnohospodárstve – POR
2. Včelársky zdroj – akaricídy používané na liečbu varoózy

Bogdanov a kol. (2003) sa zamerali v review článku pojednávajúcom o kontaminantoch včelstva na analýzu hlavných zdrojov kontaminácie včelstiev a včelích produktov, pričom tieto sa do včelstiev môžu dostávať z prostredia alebo prostredníctvom včelárskej praxe. Výsledky poukazujú na fakt, že hlavné nebezpečenstvo kontaminácie včelích produktov pochádza menej z prostredia, avšak o to viac zo samotnej včelárskej praxe. Najvýznamnejšími kontaminantmi vosku a propolisu sú akaricídy zanechávajúce rezíduá pri liečbe varoózy. Kvalita peľu je v tomto smere najviac ohrozená pesticídmi z poľnohospodárstva. Relatívne nízka koncentrácia pesticídov v mede je spôsobená filtráciou cez organizmus včiel. Počiatočnú vysokú koncentráciu pesticídov (pochádzajúcich z poľnohospodárskych kultúr ošetrovaných POR) v nektári včely znižujú, takže konečná koncentrácia rezíduí v mede je oveľa nižšia, väčšinou o faktor približne 1000 (Bogdanov, 2006).

Včelie produkty, akými sú včelí vosk a perga (včelí chlieb, peľ spracovaný a uskladnený včelami v bunkách plástov), sú málo analyzované napriek ich kapacitám dlhodobo uskladňovať rezíduá pesticídov (Benuszak a kol., 2017).

Za účelom zisťovania prítomnosti pesticídov a ich kvantifikácie vo včelom vosku sú v európskych laboratóriách validované multireziduálne analytické metódy, ktoré pokrývajú širokú škálu polarít a chemickej štruktúry pesticídov zahŕňajúc akaricídy, insekticídy, fungicídy a herbicídy. Pre kvantitatívnu analýzu rezíduí pesticídov sa využíva prevažne plynová alebo kvapalinová chromatografia v spojení s hmotnostnou spektrometriou v rôznych modifikáciách. Medzi európskymi vedcami sú neustále snahy o zdokonaľovanie analytických metód za účelom ich použitia v rutínnej diagnostike rezíduí pesticídov vo včelom vosku a taktiež zvýšenia ich senzitivity (García a kol., 2017, López a kol., 2016, Daniele a kol., 2018).

Prehľadný zoznam rezíduí POR a veterinárnych liečiv detekovaných vo včelom vosku v Európe do r. 2016 (sumár z 10 vedeckých článkov) uvádza tabuľka č. 1 (Wilmart a kol., 2016).

Tab. 1: Rezíduá (abecedne usporiadané) prípravkov na ochranu rastlín a veterinárnych liečiv zistené vo včelom vosku v Európe podľa rôznych zdrojov (Wilmart a kol., 2016) – upravená tabuľka

		*Belgicko	Francúzsko	Nemecko alebo iné krajiny	Španielsko alebo iné krajiny	Španielsko	Taliansko alebo iné krajiny	Švajčiarsko	Belgicko alebo tretie krajiny
Rezíduum	Pesticíd/veterinárne liečivo								
4,4'-dibromo benzophenone (4,4'-DBBP)	hlavný produkt degradácie bromopropylátu: akaricíd	X							
acetamiprid	Insekticíd					X			
acrinathrin	insekticíd, akaricíd				X				
amitraz	insekticíd, akaricíd, antiparazitikum	X			X		X		
atrazine	Herbicíd	X							X

azinphos-methyl	insekticíd, akaricíd, moluskocíd		X						
bitertanol	Fungicíd	X							
boscalid	Fungicíd	X							X
bromophos	Insekticíd	X							
bromopropylate	Akaricíd	X		X	X			X	X
captan	fungicíd, baktericíd	X							
carbendazim	Fungicíd								X
carbofuran	insekticíd, nematocíd, akaricíd								X
chloramphenicol	Antibiotikum								X ^a
chlordimeform	akaricíd, insekticíd, ovicíd				X				
chlorfenvinphos	insekticíd, akaricíd	X			X		X		X
chlorothalonil	Fungicíd	X							
chlorpropham	herbicíd, regulátor rastu rastlín								X
chlorpyriphos	Insekticíd	X	X		X			X	X
coumaphos	antiparazitikum, insekticíd, akaricíd	X	X	X	X		X	X	X
cyfluthrin	Insekticíd		X						
cymiazole	Akaricíd						X		
cypermethrin	Insekticíd		X						X
cyprodinil	Fungicíd	X							
DDT (súčet izomérov)		X							X
deltamethrin	Insekticíd		X						
diethofencarb	Fungicíd								X
diethyltoluamide (DEET)	insekticíd, repelent	X							X
dimethoate	insekticíd, akaricíd								X
endosulfan	insekticíd, akaricíd		X		X				X

fenitrothion	Insekticíd		X						
flufenacet	Herbicíd								X
flumethrin	akaricíd, insekticíd				X				X
flusilazole	Fungicíd	X							X
τ -fluvalinate	insekticíd, akaricíd	X	X	X	X		X	X	X
hexachlorobenzene (HCB)	fungicíd, biocíd,							X	
hexachlorocyclohexane (HCH, izoméry α and δ)	insekticíd	X							
imidacloprid	insekticíd, antiparazitikum					X			X
indoxacarb	Insekticíd	X							
iodofenphos	insekticíd, akaricíd							X	
iprodione	Fungicíd	X							X
lindan (= γ -HCH)	insekticíd, akaricíd	X	X						
linuron	Herbicíd								X
malathion	antiparazitikum		X		X				
metazachlor	Herbicíd								X
mevinphos	insekticíd, akaricíd		X						
parathion	insekticíd, akaricíd		X						
parathion-methyl	Insekticíd	X							X
pentachloroanisole	hlavný degradačný produkt pentachlorophenolu (PCP): insekticíd, herbicíd, fungicíd, rastový regulátor								X
permethrin (súčet izomérov)	Insekticíd, antiparazitikum								X
phenylphenol (ortho-) (= 2-phenylphenol)									X ^a
piperonyl butoxyde	synergista pesticídov	X							X
pirimicarb	Insekticíd	X							

procymidone	Fungicíd		X						
propargite	Akaricíd	X							X
pyrazophos	Fungicíd								X
pyrimehanil	Fungicíd	X							
rotenone	insekticíd, antiparazitikum	X							
sulfadiazine	antimikrobiálne chemoterapeutikum								X
tebuconazole	fungicíd, rastový regulátor	X							
tebufenozide	Insekticíd	X							
terbuthylazine	herbicíd, mikrobiocíd	X							X
terbuthylazine-2- hydroxy	metabolit terbuthylazinu: herbicíd, mikrobiocíd								X
tetradifon	akaricíd, insekticíd								X
thiamethoxam	Insekticíd					X			
thymol	antimikrobiál., repelent., varroacid. Účink								X
trifloxystrobin	Fungicíd	X							
vinclozolin	Fungicíd		X						X

* údaje pre Belgicko sú zosumarizované z 3 rôznych zdrojov

^a detekovaný iba vo vosku importovanom do Belgicka

3.1 REZÍDUÁ PESTICÍDOV Z PROSTREDIA

Mullin a kol. v roku 2010 upozornili na alarmujúcu situáciu expozície severoamerických včelstiev voči viacerým pesticídmi súčasne. Spolu analyzovali 749 vzoriek zahŕňajúcich vzorky vosku z plodových plástov a medzistienok, pergy a obnôžkového peľu, dospelých včiel a včelieho plodu, v ktorých stanovili 118 rôznych pesticídov a ich metabolitov (zahŕňajúc agrochemikálie aj akaricídy). V 259 voskových vzorkách podrobených multireziduálnej analýze pesticídov bolo zistených 87 pesticídov a metabolitov s až 39 rôznymi detekciami v jednej vzorke, v priemere 8 rôznych rezíduí pesticídov na každú vzorku. Iba v jednej vzorke vosku nebol zachytený nijaký pesticíd. Deväťdesiatosem percent

všetkých vzoriek vosku pochádzajúcich z plodových plástov a medzistienok bolo kontaminovaných varroacidmi fluvalinátom (do 204 ppm) a coumaphosom (do 94 ppm) a nižším množstvom degradačných produktov amitrazu. Zistenie odzrkadľuje dlhodobé používanie a kumuláciou týchto lipofilných akaricídov vo vosku (Mullin a kol., 2010).

Včelí vosk dokáže na seba naväzovať prchavé a neprchavé v tukoch rozpustné látky a následne ich do určitej miery späťne uvoľňovať. Platí to pre varroacidne látky, pesticídne látky ako aj repelenty. Prevažná väčšina týchto látok je vo vosku stabilizovaná bez toho, aby sa odbúravala. Výnimkou je amitraz, používaný v niektorých európskych krajinách na liečbu varroózy (vrátane SR), ktorý sa pri kontakte s voskom pomerne rýchlo rozkladá na metabolity a pri spracovávaní vosku je následne redukovaný (Staroň, 2016).

Niekoľko aktuálnych vedeckých štúdií z európskeho prostredia sa venovalo monitorovaniu výskytu rezíduí pesticídov v zložkách úľového prostredia, teda aj vo včelom vosku.

V nedávnej štúdií López a kol. (2016) odobrali zo 60 náhodne vybraných včelníc priamo zo včelstiev plásty a z týchto vzoriek skúmali zaťaženie plástového vosku rezíduami pesticídov. Vykonali multireziduálnu analýzu na zistenie 120 pesticídov, pričom vo vzorkách detekovali 31 rôznych druhov pesticídov. Detekovali nasledovné rezíduá pesticídov: produkty rozkladu amitrazu (DMPF a DMF spolu) v koncentráciách 5 – 464 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, organofosfátové insekticídy 1 – 464 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, akaricídy v koncentráciách $> 9 \mu\text{g.kg}^{-1}$, fungicídy v koncentráciách 1 - 23 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Herbicídy boli detekované, tak ako sa predpokladalo, v malom počte vzoriek a v nízkych koncentráciách (1 – 5,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Neonikotinoídové insekticídy sa objavili v 4 – 6 % analyzovaných vzoriek.

Analýzy García a kol. (2017) potvrdili prítomnosť rezíduí pesticídov vo všetkých 50 vzorkách plástového vosku (v každej vzorke bolo 2 – 11 pesticídov) odobratých na rôznych včelniciach v Španielsku. Detekovaných bolo 32 (14 insekticídiv/akaricídov, 10 insekticídov, 6 fungicídov, 2 herbicídy) zo 160 testovaných rezíduí pesticídov a to v koncentrácii medzi 69 a 9557 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, čo je priemerná koncentrácia 2262 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Tak, ako sa predpokladalo, zlúčeniny ako tau-flauvalinát a coumaphos boli prítomné v najvyšších koncentráciách (približne 100-násobne) ako dôsledok použitia vo včelárskych liečebných postupoch. Ťažko skonštatovať, či prítomnosť rezíduí pesticídov vo vzorkách voskových plástov predstavuje nedávnu alebo historickú kontamináciu, pretože tieto chemikálie odolávajú teplote topenia vosku, a preto sa môžu kumulovať po celé desaťročia (García a kol. 2017).

Náplňou francúzskej vedeckej práce Daniele a kol. (2018) bolo hodnotenie expozície včiel cez štúdium obsahu rezíduí pesticídov v úľovom prostredí (vo včelách, perge a včelom vosku). Zamerali sa na analýzu pesticídnych látok obsiahnutých v POR, ktoré sa používajú na ošetrovanie poľnohospodárskych plodín. Použili senzitívne analytické metódy za účelom detekcie a kvantifikácie 13 pesticídov patriacich medzi neonikotinoidy a pyretroidy, niektorých ich metabolitov a fungicídu boscalid (často používaný aj v SR). Najviac kontaminovaná bola perga so 77% pozitívnymi vzorkami z 276 vyšetrených vzoriek, priemerne s 2 detekovanými pesticídmi na pozitívnu vzorku (max. 7 pesticídov na jednu vzorku). Najvyššia koncentrácia rezíduí pesticídov bola odhalená vo vosku, do 302,3 ng/g boscalidu a do 106,5 ng/g thiamethoxamu, pretože vosk vo včelstve zotrúva niekoľko rokov, počas ktorých sa v ňom nahromadia rezíduá pesticídov. Z 87 analyzovaných vzoriek včelieho vosku, 61 % obsahovalo najmenej jeden z cieľových pesticídov. Kombinácia 2 pesticídov bola zistená v 21% pozitívnych vzoriek a 3 pesticídov v 2% pozitívnych vzoriek. Neonikotinoidy (obzvlášť thiacloprid) a boscalid boli najčastejšie detekované pesticídy. Pyretroidné insekticídy boli vzhľadom k ich lipofilnému charakteru vo vosku prekvapivo menej často detekované, čo možno vysvetliť vysokými hodnotami LOD vo vosku alebo ich metabolizáciou. Hodnoty LOD a LOQ vo vosku sú vo všeobecnosti vyššie oproti stanoveniam vo včelách a v perge z dôvodu jeho komplexnosti a obsahu mnohých lipofilných zložiek. V jednej vzorke vosku kvantifikovali deltametrin v koncentrácii 28.3 ng/g. Tieto výsledky poukazujú na vysoký podiel pesticídov pochádzajúcich z poľnohospodárstva na expozícii včiel v rámci samotného úľového prostredia.

Výsledky aktuálnej rozsiahlej monitorovacej štúdie výskytu rezíduí pesticídov vo včelom vosku poskytli talianski autori Perugini a kol. (2018). Analyzovali 178 vzoriek včelieho vosku na zistenie prítomnosti rezíduí 247 pesticídov. V 73,6 % vyšetrených vzoriek bola odhalená prítomnosť 1 alebo viacerých pesticídov (priemerne 3 pesticídy na jednotlivú vzorku, maximálne 14 pesticídov vo vzorke). Najčastejšie detekovanými pesticídmi boli akaricídy na liečenie varroózy: coumaphos (60,7% vzoriek), tau-fluvalinate (50%) a chlorphenvinphos (35,4%), avšak vyššie koncentrácie boli stanovené u pyretroidov používaných v poľnohospodárstve. Získané údaje potvrdili prítomnosť aj takých pesticídov, ktoré boli v Európe zakázané alebo nie sú v Taliansku registrované. Výskyt DDT izomérov autori spájajú s používaním vosku dovezeného z Afriky.

Cenné informácie prináša belgická pilotná prehľadová štúdia zameraná na multireziduálnu analýzu rezíduí pesticídov (293 účinných látok) v 10 vzorkách plástového

vosku, ktoré boli získané od zdravých včelstiev bez príznakov ochorenia alebo akútnej intoxikácie počas jarných prehliadok včelstiev v r. 2012. Detekované boli rezíduá 18 pesticídov. V každej zo vzoriek bola stanovená prítomnosť 3-13 pesticídov, pričom ani jediná vzorka nebola bez rezíduí pesticídov. Rezíduá tau-fluvalinátu boli prítomné v každej jednej vzorke, coumaphosu v 90 % a bromopropylátu v 70 %. V Belgicku nie je povolené používať pre včely liečivá s účinnou látkou fluvalinát už od r. 2008 a s ú.l. coumaphos od roku 2009. U tau-fluvalinátu sa zrejme jedná o nakumulované rezíduá z liečby varroózy v minulosti spolu s aktuálnou kontamináciou pochádzajúcou z poľnohospodársky obhospodarovaných porastov ošetrovaných prípravkom na ochranu rastlín s ú.l. fluvalinát. Používanie bromopropylátu je v Európskej únii v súčasnosti zakázané (Commission Directive 2004/59/EC). Alarmujúca je detekcia pesticídov zo skupiny organochlórovaných insekticídov, konkrétne lindane (gamma-HCH) a dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), ktoré sú v Európe zakázané už niekoľko rokov a prítomnosť ich rezíduí ešte aj v súčasnosti poukazuje na fakt, že rezíduá pesticídov, ktoré sa do vosku nahromadili v minulosti ešte stále pretrvávajú vďaka kolobehu včelársky zaužívanej praxe recyklácie vosku. Rezíduá neonikotínoidov sa im vo vosku nepodarilo stanoviť. Rezíduá tejto skupiny insekticídov sa často vyskytujú v peli, včelách a mede (Ravoet a kol., 2015).

3.2 REZÍDUÁ PESTICÍDOV Z LIEČIV NA TLMENIE VARROÓZY

Hlavným súčasným problémom kvality včelieho vosku je jeho falšovanie a kontaminácia. Hlavnými kontaminantmi sú syntetické a perzistentné akaricídy používané vo včelárstve, relatívne menšia kontaminácia pochádza z prostredia (Bogdanov, 2004). Včelí vosk je kontaminovaný najmä lipofilnými (v tukoch rozpustnými) akaricídmi v rozmedzí 0,5 – 10 mg/kg. Počas rozpadu akaricídu vo včelom vosku, t.j. čas, ktorý uplynie na vymiznutie akaricídu v závislosti od počiatočnej koncentrácie akaricídu, je približne päť rokov (Bogdanov, 2004).

Vedci z celého sveta vyvinuli veľa úsilia na zavedenie citlivých analytických metód na detekciu varroacídov vo včelom vosku. Wallner (1999) uviedol, že detekčné limity varroacídov vo včelom vosku sú hodnoty okolo 0,1 ppm, pričom tieto limity sa neustálym zdokonaľovaním analytických metód posúvajú smerom k detekcii čoraz nižších koncentrácií rezíduí pesticídov vo včelom vosku.

Účinné látky akaricídov sú vo vosku stabilné a ich koncentrácia sa neznižuje počas jeho recyklácie a výroby medzistienok. Koncentrácia akaricídov v novom vosku bola v

priemere 1,7-krát vyššia oproti starým plástom. Pravdepodobne je to spôsobené tým, že lipofilné akaricídy sa po roztopení starých plástov (súši) zachytia vo vosku, nie v nečistotách (košielkach po zvliekaní lariiev) a tým sa koncentrácia rezíduí akarícídv v novom vosku ešte zvýši. Dlhodobý var pri vysokých teplotách (v autokláve) nemal nijaký vplyv na koncentráciu akaricídu (Bogdanov a kol., 1999). Toto je v súlade so zistením Jiménez a kol. (2005), ktorí stanovili v medzistienkach vyššie koncentrácie pesticídov v porovnaní s plástovým voskom. Výsledky s Folbex VA (účinná látka bromopropylate) a Apistan (ú. l. fluvalinate, aplikačná forma prúžky na zavesenie) naznačujú, že čím dlhšie sa liečivo ponecháva v úli a čím častejšie sa aplikácia opakuje, tým rezíduá vo vosku plástov viac stúpajú. Hladina rezíduí vo vosku medných plástov bola v priemere 5-násobne nižšia oproti vosku z plodových plástov u toho istého včelstva (Bogdanov a kol., 1999). Hodnotenie rezíduí akaricídnej látky coumaphos po rutinej liečbe varoózy počas dvojročného obdobia poukázalo na akumuláciu coumaphosu vo včelom vosku a plode, pričom v mede neboli rezíduá detekované (Bajuk a kol., 2017).

Dlhodobé štúdie s voskom vo Švajčiarsku ukázali, že potom, ako sa začne určitý akaricíd intenzívne využívať, ku kontaminácii recyklovaného vosku dochádza pomerne rýchlo. Avšak, pokiaľ sa určitý akaricíd prestane používať, trvá to dlhú dobu, kým sa z vosku vytratia jeho rezíduá (Bogdanov a kol., 1999). Bromopropylate bol vo Švajčiarsku ako účinná látka varroacidneho liečiva používaný do r. 1991, po 10 rokoch od ukončenia jeho používania bol vo vosku stále prítomný. Kým sa z vosku úplne vytratí, prejde ďalších 20 rokov – jedná sa o komerčný včelí vosk (Bogdanov a kol. 2003).

Viacerí autori, ktorí sa zamerali vo svojich prácach na analýzu výskytu rezíduí pesticídov vo včelom vosku sa zhodujú v závere, že hlavným zdrojom kontaminácie vosku je používanie akaricídnych liečiv proti varroóze (Wallner, 1999; Bogdanov, 2004, 2006; Chauzat a Faucon, 2007; Mullin a kol., 2010; Ravoet a kol., 2015; García a kol., 2017; Calatayud-Vernich a kol., 2017)

Zámerom práce autorov Serra-Bonvehí a Orantes-Bermejo (2010) bolo zmapovať situáciu rezíduí akarícídv používaných v liečbe varoózy v španielskom recyklovanom komerčnom včelom vosku. Rezíduá akarícídv boli nájdené v značnom množstve zo 197 testovaných vzoriek. Tau-fluvalinát bol prítomný v 93,6 % analyzovaných vzoriek (0,027 – 88,7 mg. kg⁻¹).

Wallner (1995) na základe laboratórnych modelových pokusov zoradil akaricídy podľa ich lipofilnosti nasledovne: flumetrin > fluvalinát > bromopropylát > kumafos, pričom flumetrin je 5 až 10-krát lipofilnejší než fluvalinát. Relatívne nízka kontaminácia medu akaricídmi je spôsobená ich vysoko lipofilným charakterom.

Aktuálny prehľad svetových údajov dokazuje, že akaricídy aplikované priamo do úľového prostredia za liečebným účelom proti roztočom *Varroa destructor* sa hromadia hlavne vo vosku. Poľský výskumný projekt monitorujúci zaťaženie včelstiev a úľového prostredia rezíduami pesticídov (Pohorecka a kol., 2017) poukazuje na zistenie rezíduí najmenej jednej akaricídnej účinnej látky v 51% z 306 analyzovaných vzoriek vosku. Hlavné zistené účinné látky boli tau-fluvalinát v 39,9% analyzovaných vzoriek s obsahom v priemere $1,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ a coumaphos v 14,7% vzoriek s priemernou koncentráciou okolo $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$. V niekoľkých posledných rokoch v Poľsku neboli povolené veterinárne lieky s coumaphosom a fluvalinátom na liečbu proti *V. destructor*. Okrem toho prípravky na ochranu rastlín obsahujúce coumaphos nie sú povolené na použitie v národnom poľnohospodárstve, zatiaľ čo tau-fluvalinát je schválený len na ochranu repky olejnej pod obchodným názvom Mavrik. Koncentrácia rezíduí tau-fluvalinátu a coumaphosu vo včelom vosku sa však ukázala byť rovnaká alebo často vyššia ako koncentrácia pozorovaná vo Francúzsku, Taliansku alebo Španielsku, kde sú schválené varroacídy s tau-fluvalinátom a coumaphosom. V tomto kontexte sa zdajú byť hlavným dôvodom kontaminácie poľského vosku tau-fluvalinátom v takto veľkom rozsahu, ako aj coumaphosom, neregistrované varroacídy. Toto zistenie môže byť čiastočne výsledkom medzinárodného obchodu so včelím voskom (Pohorecka a kol., 2017). (Pozn.: Rovnako ani v SR nie je registrovaný žiadny liek pre včely ani POR na báze ú.l. coumaphos.) Najviac a najdlhšie bola poľskými včelármi na liečbu infestácie včelstiev roztočom *Varroa destructor* používaná účinná látka amitraz v registrovaných liečivách. Napriek rozšírenej aplikácii bol amitraz (vo forme metabolitu DMF) detekovaný vo veľmi malom množstve vzoriek (3,3%) a jeho priemerná koncentrácia ($0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$) bola desaťkrát nižšia ako tau-fluvalinátu. Podobné výsledky boli získané aj v iných európskych krajinách, kde je amitraz registrovaný na liečbu proti *V. destructor* (Pohorecka a kol., 2017). Amitraz sa vo včelom vosku veľmi rýchlo rozkladá, takže jeho aplikácia vytvára nižšie riziko kontaminácie vosku v porovnaní so stabilnejšími lipofilnými pyretroidmi a organofosfátmi, hoci na druhej strane doteraz nebola priamo odhadnutá toxicita produktov rozkladu amitrazu pre včely (Johnson, 2015). Je potrebné tiež poznamenať, že doteraz sa na území SR používa fumigačná aplikačná forma amitrazu, ktorá umožňuje vysoko efektívne aplikovať malé

množstvá amitrazu. V porovnaní s niektorými kontaktnými prípravkami registrovanými v iných krajinách EÚ tak vieme minimalizovať kontamináciu včelieho vosku. Na území SR nie je zatiaľ registrované veterinárne liečivo na báze kontaktného podania amitrazu.

Imdorf a kol. zo Švajčiarskeho včelárskeho výskumného centra už v roku 1996 na základe vlastných zistení informovali, že varroóza môže byť účinne regulovaná aj s použitím organických kyselín, ktoré nekontaminujú vosk ani med. Avšak táto alternatívna kontrola varroózy je úspešná len vtedy, ak je použitá ako stratégia. Monitorovanie stupňa zamorenia a správne načasovanie liečby sú základným kameňom tejto stratégie.

3.2.1 SITUÁCIA NA SLOVENSKU

V roku 2017 NPPC – VÚŽV – Ústav včelárstva v Liptovskom Hrádku vo vosku sledoval rezíduá látky tau-fluvalinát, ktorá je účinnou látkou v akaricídnom liečive „Gabon PF 90 mg“ prúžky do úľov. Toto liečivo sa používa na zníženie invadovanosti včelstiev klieštikom už niekoľko rokov. Na analýzu rezíduí tau-fluvalinátu boli odobraté vzorky suchých plástov z plodiska včelstiev zo stanovišť Trebušovce v nížinnej oblasti južného Slovenska, Nižná na Orave a Liptovský Hrádok - Fabriky. Tiež bol analyzovaný včelí vosk získaný vytopením hnedých plástov a ďalšiu vzorku tvoril vosk získaný z voľnej stavby, z plástikov z chovných úlikov a pri odviečkovaní medových plástov. Vzorky boli analyzované v Skúšobnom laboratóriu Štátneho veterinárneho a potravinového ústavu v Bratislave plynovou chromatografiou (GC – ECD, NPD, FPD). Obsah rezíduí tau-fluvalinátu v plástoch a vosku ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) je uvedený v tabuľke č. 2.

Tab. 2: Obsah rezíduí tau-fluvalinátu v plástoch a vosku ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (NPPC – VÚŽV, 2018).

Plást - Trebušovce	0,015
Plást - Nižná na Orave	0,190
Plást – Liptovský Hrádok	0,061
Vosk – hnedé plásty – Liptovský Hrádok	0,015
Vosk – voľná stavba	pod detekčný limit prístroja

Keďže účinná látka tau-fluvalinát sa nachádza okrem varroacidných liečiv aj v POR používaných aj v SR (Mavrik a Evure), na základe zistení situácie z európskych literárnych zdrojov možno predpokladať, že vo vyšetrených plodových plástoch a vytopenom hedom vosku sa u tau-fluvalinátu zrejme jedná hlavne o nakumulované rezíduá z liečby varroózy a v omnoho menšej miere aj o rezíduá pochádzajúce z poľnohospodársky obhospodarovaných porastov ošetrovaných prípravkom na ochranu rastlín s ú.l. tau-fluvalinát.

Keďže finančné prostriedky NPPC – VÚŽV postačovali iba na analýzu týchto 5 vzoriek na obsah iba tau-fluvalinátu a ďalšie relevantné analýzy výskytu rezíduí terapeutík a POR vo včelom vosku na Slovensku sa mi nepodarilo nájsť a podľa mojich informácií sa ani neuskutočnili, nie je možné z nich vyvodit' konkrétne ucelené závery. Avšak aj z tohto malého počtu vzoriek je zřejmé, vzhľadom na situáciu v ďalších v tomto dokumente spomínaných európskych krajinách a možnosti voľného obchodu so včelím voskom a medzistienkami, že aj na Slovensku skutočne možno predpokladať plošný výskyt rezíduí pesticídov vo včelom vosku nielen z liečiv, ale aj z POR, pretože aj iné syntetické varroacidy

využívané vo včelárstve a množstvo účinných látok POR je lipofilných. Preto je potrebné, aby Štátna veterinárna a potravinová správa SR začala systematicky monitorovať obsah rezíduí pesticídov (z terapeutík aj z POR) a to nielen na úrovni včelárov, ale hlavne u výrobcov medzistienok.

4. ANALÝZA RIZIKA REZÍDUÍ PESTICÍDOV VO VČEĽOM VOSKU

4.1 Dynamika pohybu rezíduí pesticídov v úľovom prostredí

Biologická dostupnosť a prenos rezíduí pesticídov medzi úľovými komponentmi sú slabo preskúmané a pochopené, zhodnotil Benuszak a kol. (2017) v článku zameranom na analýzu nedostatkov, v ktorých by sa mal zlepšiť výskum expozície včiel voči pesticídom.

Keď sa pesticídne látky pri zbieraní potravy z rastlín ošetrovaných agrochemikáliami zachytia na povrchu tela včiel lietaviek a takéto kontaminované včely sa vrátia späť do úľa, látka sa v úľovom prostredí rozptyľuje prostredníctvom vzájomného kontaktu včiel. Ak včely nazbierali kontaminovaný nektár, medovicu alebo peľ, včely ich po spracovaní uložia do buniek plástov. Orálne prijaté pesticídne látky sú ešte pred ich uskladnením do buniek biologicky koncentrované, transformované. Vosk môže byť kontaminovaný priamo kontaktom (pri aplikácii liečiv v rôznej forme priamo do úľového prostredia) alebo nepriamo prostredníctvom difúzie z kontaminovaných zásob uložených v bunkách plástov. Akonáhle je pesticídna látka už uložená v mede a vosku, je nepravdepodobné, že by v nich podliehala degradácii, pretože sú mikrobiologicky pomerne stabilné. Rezíduá pesticídov vo včelích produktoch sa stávajú sekundárnym zdrojom difúzie a kontaminácie včiel. Keď sú tieto produkty včelami v úli využívané, dochádza k cirkulácii pesticídnych látok v úľovom prostredí, alebo sa dostávajú k človeku pri využití týchto včelích produktov. (Tremolada a kol., 2011).

Niektoré používané chemické látky sú pohyblivé. Znamená to, že sa dokážu uvoľňovať z včelieho vosku do medu, kŕmnej kašičky či včelieho chleba (pergy). Patrí sem napr. v Nemecku používaný coumaphos (Staroň, 2016). Používanie organofosfátu coumaphos na liečbu varroózy je spájané so zvýšenou larválnou mortalitou robotníc aj matky (Johnson, 2015). Dokonca včely, ktoré vyrastali počas larválneho vývoja na kontaminovanej kŕmnej kašičke, produkujú kontaminované voskové šupinky. Najvyššie koncentrácie, vzhľadom k spôsobu aplikácie coumaphosu, sú dokázateľné práve v plodisku (Staroň, 2016).

Zaujímavé je aj porovnanie hladín rezíduí pesticídov pochádzajúcich z prostredia (POR) a z liečby varroózy v rôznych komponentoch úľového prostredia. Rezíduá fluvalinátu, coumaphosu a amitrazu (z liečenia) boli 87, 25 a 33-krát koncentrovanejšie vo vosku v porovnaní s peľom, pričom v peľi boli stanovené vyššie alebo ekvivalentné množstvá insekticídu chlorpyrifosu, herbicídu pendimethalinu, fungicídu azoxystrobinu (pozn. používané aj v SR) a ďalších environmentálnych pesticídov (z POR) pri porovnaní s voskom.

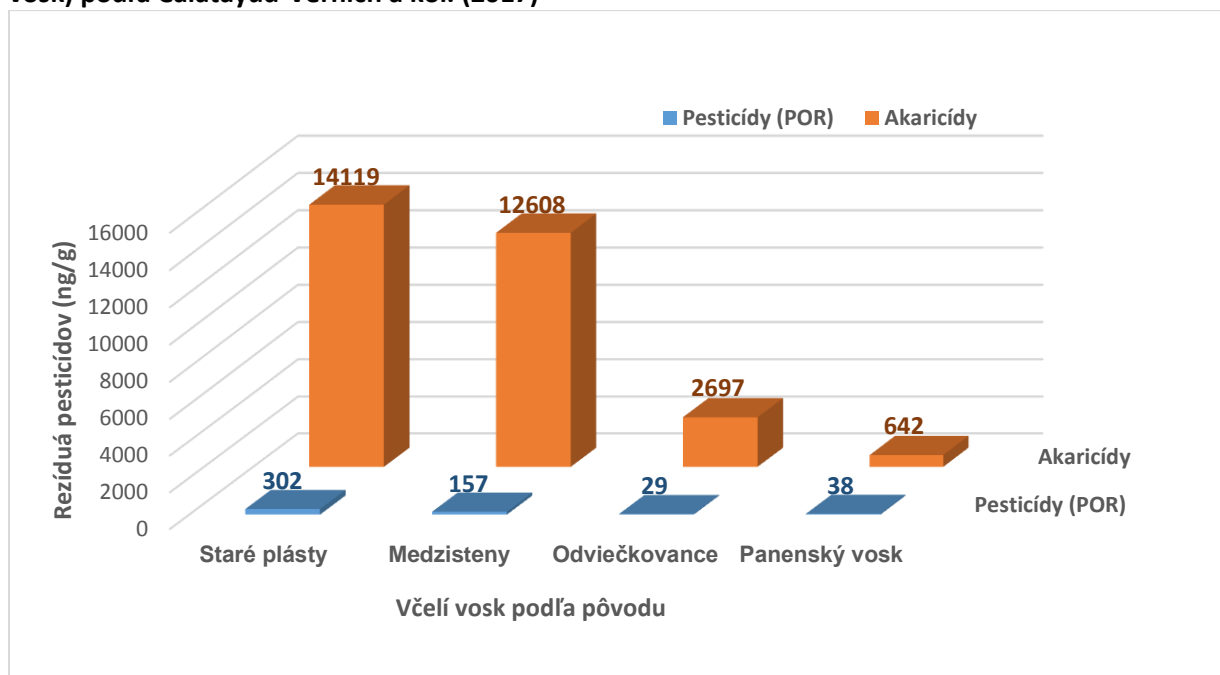
Súvisí to s dlhodobým používaním a kumuláciou lipofilných varroacidov vo vosku, čím sa stáva zdrojom následnej kontaminácie pergy. Pre poľnohospodárske pesticídy je najväčším indikátorom kumulácie vo vosku z peľového zdroja vysoko lipofilný regulátor rastu hmyzu methoxyfenozide (používaný aj v SR), ktorého výskyt bol vo vosku 5-krát častejší. Vo všeobecnosti sa tento trend vyskytol aj pri pyretroidoch, ktoré sú bežne používané aj v SR. Koncentrácia lipofilného fungicídu chlorothalonilu (používaný aj v SR) bola vo včelách 100-násobne nižšia oproti peľu a vosku, pravdepodobne vďaka rýchlej biotransformácii včelami na metabolity, ktoré neboli detekované alebo boli z organizmu vylúčené (Mullin, 2010).

Bogdanov a kol. (2003) uvádzajú, že zaťaženie rezíduami akaricídov v úľovom prostredí klesá podľa poradia: plodové plásty > medné plásty >> med. Stupeň kontaminácie pesticídmi z environmentálnych zdrojov (POR) klesá v nasledovnom poradí: propolis \geq vosk > peľ > med.

Calatayud-Vernich a kol. (2017) porovnali hladiny rezíduí pesticídov v medzistienkach, starých plástoch, odviečkovancoch a panenskom vosku zo Španielska. Spolu 35 vzoriek testovali na 58 pesticídov a ich degradačné produkty. Zistili rezíduá 16 pesticídov. Štyri a viac pesticídov sa zistilo u 86% vzoriek, päť a viac v 74% a šesť a viac v 63% analyzovaných vzoriek. Včelí vosk bol kontaminovaný akaricídmi na liečbu varroózy (> 95%) a v oveľa menšom rozsahu a nižších koncentráciách rezíduami insekticídov a fungicídov (Graf č.1). Fluvalinát, ktorý bežne používajú na liečbu varroózy aj včelári v SR, bol identifikovaný v 86 % vzoriek (max. koncentrácia 3 593 ng.g⁻¹) a amitraz ešte frekventovanejšie používaný v SR v 83 % vzoriek (max. koncentrácia 6 884 ng.g⁻¹). Flumetrin, ktorý je aktuálne registrovaný v liečive v SR, v Španielsku stanovili v 54 % vzoriek. Acrinathrin, v minulosti bol registrovaný aj v SR liek s touto ú.l., avšak z dôvodu narastania rezistencie *Varroa destructor* už v SR aktuálne registrovaný nie je; V Španielsku ho zachytili v 71 % vzoriek. Z pesticídov používaných v poľnohospodárstve boli najčastejšie zachytené rezíduá insekticídov chlorpyrifos (40 %), dichlofenthion (29 %) a malathion (9%). Panenský vosk (z voľnej stavby) a vosk z odviečkovancov boli výrazne menej kontaminované oproti vosku medzistienok a vosku plodových plástov. Obsah pesticídov nachádzajúci sa v panenskom vosku bol > 18-krát nižší ako obsah pesticídov vo vosku medzistienok a vosku starých plástov a 4-krát nižší ako v prípade vosku z odviečkovancov (Graf č.1). Rezíduá pesticídov, ktoré sa nachádzajú v panenskom vosku a vosku odviečkovancov preukázali prenos rezíduí pesticídov z oblastí kontaminovaných plástov na novo vyprodukovaný, nekontaminovaný včelí vosk. Vyradené staré plásty a odviečkovance sú jedinými 2 zdrojmi

používané výrobcami medzistienok. Z pohľadu úrovne rezíduí pesticídov uvedenej v tejto štúdii, v starých plástoch ($14\,421\text{ ng.g}^{-1}$), medzistenách ($12\,765\text{ ng.g}^{-1}$) a odviečkovancoch ($2\,726\text{ ng.g}^{-1}$) je evidentné, že výrobcovia na výrobu nových medzistienok používajú hlavne vosk zo starých plástov. Autori zdôraznili potrebu využívania väčších množstiev menej kontaminovaného vosku, ako je práve vosk z odviečkovancov, v procese výroby medzistienok (Calatayud-Vernich a kol., 2017).

Graf 1: Priemerné celkové zaťaženie akaricídmi používanými vo včelárstve a ďalšími pesticídmi (ng.g^{-1}) vo včelom vosku rôzneho pôvodu (staré plásty, medzistienky, odviečkovance a panenský vosk) podľa Calatayud-Vernich a kol. (2017)



NPPC – VÚŽV (2018) uvádza stanovenie rezíduí tau-fluvalinátu vo vosku z voľnej stavby (odviečkovance a plástiky z chovných úlikov) pod detekčný limit prístroja, čo je v súlade so zistením Calatayud-Vernich a kol. (2017).

Vyčistenie včelieho vosku od najdôležitejších, v tukoch rozpustných účinných látok nie je doposiaľ možné. Odbúranie stabilných účinných látok vo včelom vosku nie je možné ani za pomoci slnečného, parného tavidla, ani za pomoci kyselín, mikrovln či ožiarením gama-lúčmi. Včelí vosk je dokonalou ochranou pre tieto reziduá. Najdokonalejší filter pre včelármi používané syntetické účinné látky proti varroóze je včela a jej novovytvorené voskové šupinky (Staroň, 2016). Autor popisuje rozdiely medzi uzatvoreným a otvoreným kolobehom vosku vo včelárskej praxi. Pri každom spôsobe včelárenia vzniká každým rokom množstvo starých, vyradených súší. Prevažne malovčelármi sú odovzdané výkupcom a

vymenené za nové medzisteny. Uzatvorený obeh vosku, v ktorom je používaný stále ten istý vosk, sa neodporúča. Ak sa na výrobu medzistienok používa len najstarší vosk, dochádza popri uzavretom kolobehu vosku aj k vytvoreniu uzavretého kolobehu zaťažujúcich chemických látok. Včelie dielo sa tak stáva medziskladom týchto látok. Vhodnejší je otvorený systém. Pri ňom je jedna tretina vosku (toho najstaršieho) ročne odstránená z obehu a vyrábajú sa z neho napríklad sviečky. Nový, čistý vosk sa získava z viečok medových plástov (tzv. odviečkovance) a vyrezávaním stavebných rámkov (vyrezávanie trúdieho diela ako zootechnický spôsob znižovania infestácie *Varroa destructor*). Možný je aj prechod na včelárenie s čiastočnou alebo úplnou prirodzenou stavbou plástov. Ide tu o princíp, ktorý okrem biodynamiky prirodzeného včelieho diela zohľadňuje aj minimalizáciu výskytu rezíduí terapeutík využívaných v konvenčných chovoch (Staroň, 2016).

4.2 VPLYV NA ZDRAVIE A VITALITU VČELSTIEV

Účinky chronickej nízkej expozície rezíduami akaricídov nahromadenými v úl'ovom prostredí (teda aj vo vosku) nie sú dobre známe. Oruc a kol. (2012) stanovili akútnu orálnu LD_{50} akaricídu flumethrin pre dospelé včely: $LD_{50} = 0,178 \mu\text{g} / \text{včelu}$ po 48 hod. expozícii, čiže je pre včely vysoko toxický. Pre expozíciu včiel LD_{50} by teda stačilo, aby včely spracovali 3,3 g španielskeho vosku s obsahom flumetrínu $158 \mu\text{g}/\text{kg}$, alebo 17,1-16,9 mg recyklovaného vosku s obsahom flumetrínu $31,2 - 34,8 \text{ mg}/\text{kg}$. Aby bolo možné lepšie pochopiť nebezpečenstvo kontaminovaného včelieho vosku, je potrebné poznať, do akej miery sa flumetrín z včelieho vosku absorbuje včelami.

Dlhodobá kumulácia akaricídov vo vosku navyše vytvára priaznivé podmienky pre možný vznik rezistencie voči liečbe danými akaricídmi u roztočov *Varroa destructor* (Bogdanov a kol., 1999; Calatayud-Vernich a kol., 2017).

Nakoľko sila včelstiev závisí od zdravia vyvinutých lariev, je potrebné stanovovať toxicitu jednotlivých pesticídov aj pre včelie larvy, nielen pre dospelé včely. Včelie larvy môžu byť exponované rezíduami pesticídov kontaktne, keďže ich vývoj na dospelé včely prebieha v bunkách pesticídmi kontaminovaných voskových plástov. Treba však zdôrazniť najmä prenos rezíduí pesticídov prostredníctvom materskej kašičky (tvorí sa v hltanových žľazách mladých robotníc, základným substrátom je peľ ako zdroj bielkovín), ktorou včely dojčičky krmia všetky larvy od vyliahnutia z vajíčka do tretieho dňa ich veku, larvu včelej matky až do zaviečkovania a po vybehnutí matky z bunky po celý jej život. Staršie larvy sú kŕmené zmesou materskej kašičky, peľu a medu v podieloch úmerných ich veku.

Z dôvodu obtiažnosti chovu lariev in vitro v laboratórnych podmienkach sa len minimálny počet výskumov venoval danej problematike. Dai a kol. (2017) zoradili 5 testovaných insekticídov podľa akútnej dietárnej toxicity pre včelie larvy v poradí od najtoxickejšej ú.l.: chlorpyrifos > fluvalinát > coumaphos = imidaklopid > amitraz. Taktiež poukázali na rozdiely v senzitivite lariev voči jednotlivým pesticídom v porovnaní s dospelými včelami. Staroň a kol. (2017) na základe zmeny aktivity antioxidantných enzýmov preukázali indukciu oxidatívneho stresu u lariev chovaných in vitro exponovaných insekticídom formetanát v diéte. Nižšia senzitivita lariev voči formetanátu oproti dospelým včelám je pravdepodobne spôsobená prítomnosťou silne vyvinutého tukového telesa u lariev zohrávajúceho významnú úlohu v intermediárnom metabolizme.

Za účelom ohodnotiť toxicitu kontaminovaného vosku pre včely, vyššie spomínaní autori Calatayud-Vernich a kol. (2017) vypočítali kvocient rizika – hazard quotient (HQvosk = koncentrácia pesticídu v ppb / kontaktná LD₅₀ pesticídu v µg/včelu) pre pesticídy, ktoré boli vo vzorkách detekované. Nepriaznivé dôsledky na zdraví včiel sa môžu prejaviť pri HQvosk > 5000 najmä prostredníctvom expozície subletálnymi dávkami počas larválneho vývinu s následkami na vitalitu celého včelstva. U vzoriek medzistienok a starých plástov bola nadlimitná hodnota HQvosk stanovená u viac ako polovici vzoriek a priemerná hodnota HQvosk bola 6 283 u medzistienok a 5 775 u starých plástov. Najvyššie vypočítané hodnoty HQvosk sú pre pyretroidy acrinathrin a flumethrin a organofosfát chlorpyrifos z dôvodu ich výraznej kontaktnej toxicity a značných koncentráciách vo vzorkách vosku.

4.2.1 RIZIKO VYPLÝVAJÚCE Z KOMBINOVANÉHO VPLYVU VIACERÝCH PESTICÍDOV A ĎALŠÍCH RIZIKOVÝCH FAKTOROV

Včely lietavky sa pri využívaní znáškových zdrojov v prírode, obzvlášť pri zbere nektáru a peľu z intenzívne poľnohospodársky ošetrovaných monokultúrnych porastov dostávajú do kontaktu s kombináciami rezíduí viacerých druhov pesticídov z POR súčasne. Nektár a peľ s obsahom rezíduí POR prinesú do úľa, kde sú už ale prítomné rezíduá ďalších pesticídnych látok v zásobách peľu (perge), v mede a najväčšie množstvá vo včelom vosku a propolise nahromadené z predošlých znášok. Včelstvo ako celok je tak nepretržite vystavené súčasne rôznym kombináciám rezíduí viacerých druhov pesticídov v rôznych koncentračných pomeroch.

Väčšina štúdií toxicity pre včely medonosné sa doteraz zameriavala na účinok jediného pesticídu, avšak uskutočnilo sa len veľmi málo štúdií založených na možnej reálnej

chronickej kombinovanej expozícii obzvlášť s realistickými hladinami rezíduí pesticídov v úľovom prostredí.

Zmesi pesticídov môžu mať synergický účinok a neočakávané zvýšenie toxicity v porovnaní s jednoduchým súhrnom toxicity jednotlivých účinných látok (Pilling a Jepson, 1993).

Pilling a Jepson (1993) skúmali synergický efekt pyretroidného insekticídu spolu s viacerými fungicídmi inhibujúcimi syntézu ergosterolu (EBI). V akútnom kontaktnom laboratórnom teste bola na dospelých včelách medonosných otestovaná kombinácia lambda-cyhalotrínu (pyretroid) vždy spolu s jedným z EBI fungicídov v dávkach odvodených od ich skutočných odporúčaných aplikačných dávok reprezentujúcich tank-mix kombinácie používané na aplikáciu na poľné plodiny. Všetky testované fungicídy zvýšili toxicitu lambda cyhalotrínu pre včely (v priemere až 9-násobne). Najsilnejší synergický vplyv preukázal fungicíd propikonazol, ktorý zvýšil toxicitu lambda-cyhalotrínu až 16,2-násobne. Tento fakt neskôr potvrdili aj Thompson a Wilkins (2003), ktorí testovali in vitro určité kombinácie pyretroidných insekticídov s fungicídmi. Preukázali signifikantné zvýšenie rizika oproti použitiu samotných pyretroidov zapríčinené znížením repelentného účinku pyretroidov.

Iwasa a kol. v laboratórnych testoch zistili, že kombinácia EBI-fungicídov, ako je triflumizol a propikonazol, zvýšila akútnu toxicitu insekticídov neonikotínoidov acetamipridu a tiaclopridu na včely niekoľko sto-násobne (Iwasa a kol., 2004).

Napriek skutočnosti, že všetky akaricídne liečivá boli pred ich registráciou testované na toxicitu a bolo zistené, že nie sú pre včely toxické v terapeutických dávkach, ktoré sú vyššie ako ich rezíduá zanechané vo vosku, existuje nebezpečenstvo synergického vplyvu rôznych akaricídov (Bogdanov a kol., 1999).

Experimenty Williamsona a Wrighta (2013) simulovali situáciu, pri ktorej sú včely exponované pesticídmi v ich potrave a súčasne varroacidmi aplikovanými priamo do úľa. Preukázali, že dlhodobá expozícia dospelých včiel lietaviek realistickým koncentráciám systémového neonikotínoidu imidaklopridu (rezíduá v peli a nektári z ošetrovanej plodiny) a zároveň organofosfátu coumaphosu (rezíduá nahromadené vo vosku a v zásobách) poškodzuje čuchové učenie a tvorbu pamäte včiel. Poukázali na výrazné narušenie dôležitého správania, ktoré sa uplatňuje pri hľadaní potravy vplyvom subletálnych dávok spomínanej kombinácie pesticídov z oboch zdrojov.

Gill a kol. (2012) uvádzajú, že chronická expozícia čmeliakov (4-týždňová) voči dvom pesticídom s insekticídnym účinkom (neonikotinoid imidakloprid a pyretroid lambda-cyhalotrin) súčasne v koncentráciách, ktoré sa priblížili expozícii na úrovni poľa, poškodzuje prirodzené správanie sa pri hľadaní potravy a zvyšuje úmrtnosť robotníč, čo vedie k významnému zníženiu vývoja plodu a celkovej vitality kolónie čmeliakov. Poskytli dôkazy o tom, že kombinovaná expozícia voči pesticídom zvyšuje tendenciu zlyhania kolónií.

Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) č. 485/2013 z mája 2013 výrazne obmedzilo dovtedajšie používanie uvedeného neonikotínoidu imidaklopridu a po monitorovacom období bolo prijaté ďalšie Nariadenie (EÚ) 2018/783 z mája 2018, ktoré obmedzuje použitie imidaklopridu už iba na použitie v trvalých skleníkoch. Rovnaké obmedzenia sa týkajú aj ďalších dvoch neonikotínoidov klotianidínu a tiametoxámu.

Wu a kol. (2011) demonštrovali subletálny vplyv prirodzene nakumulovanej kombinácie rezíduí viacerých pesticídov (POR + varroacídny) prítomných v plodových plástoch na larválny vývin včelích robotníč. Pozorovali negatívne vplyvy ako sú oneskorený vývin včiel najmä v skorých štádiách vývinu lariev, zvýšená úmrtnosť plodu, skrátenie dĺžky života dospelých včiel počas larválneho vývinu exponovaných rezíduami pesticídov, zvýšená vnímavosť včiel voči patogénom a v neposlednom rade aj reprodukčná výhoda pre roztoče *Varroa destructor* zapríčinená predĺženým larválnym vývinom a oneskoreným vybiehaním dospelých včiel. Tieto kombinované vplyvy prispievajú k zhoršeniu vitality a sily včelstiev. Zhu a kol. (2014) hodnotili na základe chronického orálneho testu toxicitu 4 najčastejšie detekovaných pesticídov v USA v peľi a vosku (fluvalinát, coumaphos, chlorotalonil a chlorpyrifos) pre včelie larvy testované nielen samostatne, ale aj vo všetkých kombináciách. Všetky pesticídy v koncentrácii na úrovni úľových rezíduí spôsobili výrazné zvýšenie úmrtnosti lariev o viac ako dvojnásobok, so silným zvýšením po 3 dňoch expozície. Štúdia poukazuje na chronickú orálnu toxicitu a toxicitu zmesi bežných pesticídov na úrovni úľového prostredia v larválnom štádiu. Najpozoruhodnejšia je chronická larválna toxicita fungicídu chlortalonilu a jeho synergické kombinácie s často používanými varroacidmi.

Na základe informácií získaných zo svetových ako aj z európskych literárnych zdrojov, ale hlavne z posúdenia informácií získaných z terénu od včelárov Slovenska treba zdôrazniť, že pri probléme slabnutia a výpadkov včelstiev, obzvlášť pri riešení podozrenia na chronickú otravu včelstva POR je potrebné posúdiť záťaž plástového peľu rezíduami POR, záťaž vosku varroacidnými prípravkami a kvalitatívne poškodenie vosku (prímes parafínu, stearínu) v spotrebiteľskom obehu. Avšak v rovnakej miere treba zohľadniť množstvo ďalších

významných rizikových faktorov ako sú parazitárne a infekčné ochorenia: varroóza sprevádzaná vírusovou infekciou DWV, ABPV, CBPV, ďalej nozémová nákaza a infekčné ochorenia včelieho plodu. Taktiež je potrebné zohľadniť aj zootechnické aspekty včelárenia a zásahy včelára, vhodnosť stanovišťa, dostatok rôznorodých znáškových zdrojov, dostatok kvalitného mnohodruhového peľu aj z iných zdrojov ako sú len POR ošetrované monokultúry a dostatok glycidových a bielkovinových zásob počas medziznáškového obdobia.

Pohorecka a kol. (2017) v Poľsku nepozorovali žiadne významné rozdiely v úrovni kontaminácie včelieho vosku akaricídmi zaznamenatej na včelniciach s vysokými a nízkymi zimnými stratami včelstiev. Treba poznamenať, že v danej štúdií sa brali do úvahy vo vosku len rezídua akaricídov a je veľmi pravdepodobné, že vo vosku bolo prítomných ďaleko viac pesticídov (insekticídov, fungicídov). Pohorecka a kol. (2014, 2017) na základe analýzy výsledkov štvorročného monitoringu expozície včiel rezíduami pesticídov z úľového prostredia spoločne s monitoringom epizootologickej a epidemiologickej situácie dospela k názoru, že primárnou a priamou príčinou zvýšených zimných úhynov včelstiev v Poľsku bola masívna infestácia roztočom *V. destructor* a s ňou spojený intenzívny rozvoj vírusových infekcií spôsobených najmä vírusom deformovaných krídel a v menšej miere vírusom akútnej paralýzy včiel. To ale neznamená, že chronická expozícia pesticídmi nemá na včely vedľajšie negatívne účinky. Je pravdepodobné, že súčasný výskyt rezíduí pesticídov a parazitov, patogénov môže znížiť prahovú hodnotu infestácie, infekcie, pri ktorej včelstvo skolabuje.

4.3 HODNOTENIE RIZIKA PRE ĽUDÍ

Včelie produkty vo všeobecnosti predstavujú pre verejnosť obraz kvalitných, zdravých a čistých produktov.

Keďže včelí vosk je hojne používaný aj vo farmaceutickom a kozmetickom priemysle, mal by obsahovať čo najnižšie množstvá kontaminantov, avšak MRL limity nie sú pre vosk stanovené. Závažné hladiny rezíduí akaricídov vo vosku a propolise porušujú ich kvalitu vzhľadom k ich používaniu v medicíne a farmácii. Prevažná časť komerčného včelieho vosku na medzinárodnom trhu je kontaminovaná varroacidmi, preto vzrastá dopyt po rezíduami nekontaminovanom vosku (Bogdanov, 2004). Samozrejme, rezíduá insekticídov alebo akaricídov nie sú prijateľné ani v propolise, ktorý sa používa na medicínske účely pre ľudí v mnohých krajinách (Wallner 1999).

Ľudia môžu byť exponovaní rezíduami pesticídov z včelieho vosku konzumáciou plástikového medu (pozn. konzumuje sa vyrezaný kus medného plástu s medom) alebo v

spracovaných potravinách. Včelí vosk je zaradený medzi povolené potravinové doplnky pod medzinárodným číslom E901 ako prídavná látka s leštiacim efektom. Používa sa ako súčasť leštidiel pri výrobe čokoládových figúrok, rôznych cukríkov, ako výborný prostriedok na natieranie obľátkových foriem a plechov na pečenie, či ako krycí povlak pri dozrievaní syrov (Titěra, 2013; Wilmart a kol., 2016).

Vosk vyprodukovaný vo včelích voskotvorných žľazách je skutočne zdravotne nezávadný. Postupne sa však znečisťuje a z okolitého prostredia sa do neho môžu dostávať aj zbytky nežiaducich chemických látok. Vosk vo včelárstve koluje, predovšetkým sa z neho vyrábajú medzisteny, ktoré sa včelám vracajú späť do úľa. Včely pri stavbe plástu síce pridávajú aj nový vosk, ale vosk použitý na medzisteny môže byť aj niekoľkoročný. Na potravinárske účely sa preto spracúva včelie dielo postavené bez medzistien, tzv. srdiečka, ktoré boli zaplodované maximálne raz (Titěra, 2013).

Podľa EFSA je denná konzumácia vosku odhadovaná na 1,29 g na osobu (0,022 g /kg telesnej hmotnosti pre 60 kg človeka) a vyplýva z konzumácie potravín obsahujúcich včelí vosk (Wilmart a kol., 2016).

Belgický odborný vedecký článok (Wilmart a kol., 2016) je zameraný na analýzu rizika chronickej expozície konzumentov rezíduami z prípravkov na ochranu rastlín a veterinárnych liečiv cez konzumáciu vosku. Do analýzy bola zahrnutá len konzumácia vosku v potravinách, nie ako súčasť farmaceutických a kozmetických produktov. Zo 68 rezíduí POR a veterinárnych liečiv, ktoré už boli predtým detekované vo včelom vosku v Európe sa zamerali na analýzu rezíduí 22 relevantne vybraných. Napriek faktu, že konzumenti môžu byť vystavení rezíduám rôznych pesticídov vo včelom vosku súčasne (spolu aj s medom, včelím peľom) a môžu sa objaviť negatívne synergické účinky, charakterizáciu nebezpečenstva postavili na posúdení toxicity samostatne pre každú látku. Pre človeka sú najviac toxické látky, berúc do úvahy chronickú orálnu expozíciu, pre ktoré je hodnota ADI (Acceptable Daily Intake) nižšia alebo rovná 0,001 mg/kg telesnej hmotnosti na deň: carbofuran, iodofenphos, coumaphos, chlorfenvinphos, τ -fluvalinate, hexachlorobenzene (HCB), parathion, mevinphos, chlorpyriphos, cymiazole a dimethoate uvedené v poradí podľa klesajúcej toxicity. Na základe zhodnotenia aktuálne dostupných údajov, rezíduá pesticídov prítomné vo včelom vosku a mede neohrozujú zdravie spotrebiteľa za predpokladu, že nebude vystavený pôsobeniu rezíduí pesticídov aj z iných potravín (napr. mäso, mlieko, vajcia, atď.). Na druhej strane autori odporučili uplatňovať „nulovú toleranciu“ pre rezíduá flumetrínu v mede a včelom vosku. Táto látka je pre človeka pomerne toxická s ADI =

0,0018 mg/kg telesnej hmotnosti/deň, EMA (European Medicines Agency) však nepovažovala za potrebné ustanovenie MRL v mede pre flumetrín z dôvodu jeho lipofilného charakteru, rezíduá flumetrínu v mede boli všeobecne nižšie ako je detekčný limit analytickej metódy (1 až 2 µg/kg). Avšak práve kvôli lipofilnému charakteru je koncentrácia flumetrínu vo včelom vosku pochádzajúcom od rovnako ošetrovaných včelstiev v množstve až do 130 µg/kg (Wilmart a kol., 2016).

Maximálny limit rezíduí (MRL) (FAO, 2005) znamená maximálnu koncentráciu rezídua, ktorá je právne povolená alebo uznaná ako prijateľná v potravinách alebo na potravinách, poľnohospodárskych komoditách a krmivách pre zvieratá.

Chemické analýzy rezíduí pesticídov vo včelom vosku nie sú povinné. V súčasnosti neexistuje žiadna právna norma týkajúca sa prítomnosti rezíduí POR a veterinárnych látok vo včelom vosku na európskej, ani na slovenskej úrovni, tzn. MRL pre vosk stanovené nie sú. Nariadenie európskeho parlamentu a rady č. 396/2005 o maximálnych hladinách rezíduí pesticídov v alebo na potravinách a krmivách rastlinného a živočíšneho pôvodu ustanovuje MRL len pre med.

5. PROBLÉM FALŠOVANIA VČELIEHO VOSKU

Ďalším včelárskym problémom spojeným s kvalitou vosku je jeho falšovanie. Niektoré rastlinné, živočíšne alebo minerálne vosky majú niektoré vlastnosti podobné ako včelí vosk, cena včelieho vosku je relatívne vysoká, z tohto dôvodu sa nimi vosk falšuje. Po primiešaní do včelieho vosku môžu nepriaznivo ovplyvniť jeho kvalitu. Najčastejšie sa na falšovanie včelieho vosku využíva parafín, mikrokryštalické vosky, stearín, ozokerit, ceresin, karnaubský vosk.

Včelári v SR pozorovali prípady zlého prijatia určitých šarží komerčných medzistienok. Chovateľ včiel z východného Slovenska, ktorý pozoroval výraznú medzerovitosť plodu v nových plástoch vystavaných z medzistien a postupnú stratu kondície včelstva, vyslovil podozrenie na chronickú intoxikáciu. Multireziduálna analýza POR v peli nepotvrdila prítomnosť rezíduí POR. Laboratórne boli vyvrátené podozrenia na infekčné bakteriálne ochorenia. Anamnesticky boli vylúčené hubové ochorenia plodu a tiež pokles kladenia včelej matky v dôsledku príbuzenského párenia. Po dodatočnej anamnéze sme zistili, že sa jedná o konkrétnu šaržu medzistien, ktoré kvalitatívne nemusia zodpovedať potrebám včelstva z dôvodu možnej prímеси parafínu, stearínu alebo iného porušovadla vosku (Ústav včelárstva, 2016, osobná komunikácia).

Aj niektorí včelári v Nemecku a Belgicku hlásili od jari 2016 problém s vývojom plodu na zakúpených medzistenách. Analýzy odhalili zvýšené hladiny kyseliny stearovej a kyseliny palmitovej. Pravdepodobne bolo do medzistien pridané 20 až 30% stearínu. Výsledky belgickej štúdie, ktorej podstata spočíva v pridaní 15%, 25% a 35% stearínu do vosku medzistienok ukázali, že už pridanie 15 % stearínu do včelieho vosku viedlo k signifikantnému zvýšeniu úmrtnosti plodu. Miera prežitia lariiev odchovaných v čistom včelom vosku bola priemerne 81,5%, pričom miera prežitia lariiev vo vosku s 15% prídavkom stearínu bola priemerne 34,5%, pri 25% obsahu stearínu 34,6% a pri 35% obsahu stearínu miera prežitia lariiev bola len 25,7% (Kauhausen-Keller, 2017).

Semkiw a Skubida (2013) síce na základe výskumu nepotvrdili negatívny vplyv prídavku parafínu v medzistienkach (10%, 30% a 50 % parafínu) na výstavbu plástov a vývoj plodu, avšak upozorňujú na nebezpečenstvo rozdielneho chemického zloženia a čistoty parafínu na poľskom trhu, preto nie je možné vylúčiť fakt, že by mohol mať iný parafín ako práve nimi otestovaný negatívny vplyv na včelstvá. Tento ich záver podporuje aj následné zistenie ďalších poľských autorov. Analýzy Waś a kol. (2016) ukázali, že druhy parafínu,

ktoré sú dostupné na trhu, sa kvalitatívne a kvantitatívne líšia, pokiaľ ide o ich uhl'ovodíkové zloženie. Zamerali sa na kontrolu kvality včelársky využívaného komerčného včelieho vosku. Vyšetřili 28 vzoriek medzistien a 13 vzoriek komerčného vosku vo forme tzv. voskových koláčov (celé bloky vosku získané vytopením vyradených plástov). V 3 vzorkách medzistien a 7 vzorkách komerčného vosku boli nájdené cudzorodé uhl'ovodíky.

Svečnjak a kol. (2015) analyzovali vzorky medzistienok zozbieraných z medzinárodného trhu. Spolu 56 vzoriek medzistienok odobrali od výrobcov medzistienok a špecializovaných včelárskych predajní z 9 európskych krajín (Rakúsko, Bosna a Hercegovina, Chorvátsko, Nemecko, Maďarsko, Taliansko, Macedónsko, Srbsko a Slovinsko; n = 52) a z iných krajín (Rusko, Argentína, Čína; n = 4). Výsledky odhalili znepokojujúcu skutočnosť. Väčšina analyzovaných vzoriek (89%) bola falšovaných parafínom, iba 11% vzoriek bolo identifikovaných ako pravý vosk. V 28% vzoriek bol preukázaný až >46% prídavok parafínu. Falšované medzistienky môžu mať vplyv na odchov plodu. Výsledkom môžu byť poruchy vývoja plodu a následne oslabovanie a zvýšené úhyny včelstiev.

Falšovanie včelieho vosku prídavkom parafínu zdokumentovali aj (Bonvehi a Barmejo, 2012), ktorí potvrdili prítomnosť parafínu v 33 z 90 vyšetřených vzoriek španielskeho komerčného včelieho vosku v koncentráciách 5 – 30 %.

Uvedené výsledky poukazujú na existujúci problém falšovania včelieho vosku a naliehavú potrebu rutínnej kontroly pravosti včelieho vosku v európskych krajinách. Môže to byť spôsobené nedostatkom legislatívnych požiadaviek týkajúcich sa kvality včelieho vosku pri výrobe medzistienok, ale aj nedostatkom rutinných analytických nástrojov. Na tomto mieste je vhodné dať do pozornosti aj voľný trh s včelím voskom v rámci EÚ a jeho dovoz z tretích krajín.

6. ZÁVERY A ODPORÚČANIA

Chronická kontaktná a dietárna expozícia rezíduami viacerých pesticídnych látok súčasne v peľi, mede a včelom vosku výrazne ohrozuje včelstvo. Okrem hodnotenia rizika jednotlivých POR je potrebné hodnotiť aj riziko vyplývajúce z rôznych kombinácií POR, s ktorými sa včely môžu bežne stretnúť na ošetrovaných kultúrach a takisto chronické riziko vyplývajúce z rezíduí POR a varroacidov, ktoré sú v rôznych kombináciách nakumulované v jednotlivých komponentoch úľového prostredia.

Na kontrolu prítomnosti pesticídov vo včelom vosku je potrebné zaviesť maximálne limity rezíduí (MRL) pre včelí vosk, aby bola garantovaná kvalita včelieho vosku vzhľadom k jeho cirkulácii medzi včelstvami prostredníctvom medzistienok v záujme ochrany zdravia včelstiev, v záujme ochrany ľudí pri priamom použití včelieho vosku v potravinárstve, farmaceutických a kozmetických výrobkov a v záujme prevencie prenosu rezíduí do medu a ochrany konzumentov.

Veterinárny dozor vo výrobních medzistien v SR vykonáva Štátna veterinárna a potravinová správa SR (ŠVPÚ SR), ktorá zaraďuje včelí vosk medzi vedľajšie živočíšne produkty. Vykonáva však len kontroly zamerané na prítomnosť mikrobiálnej kontaminácie (*Paenibacillus larvae*). V kontexte celoeurópskych snáh o hľadanie príčin celkového znižovania vitality včelstiev je potrebné, aby v čo najkratšom časovom horizonte bola na Slovensku pravidelne monitorovaná situácia kvality včelieho vosku zohľadňujúc oba závažné aspekty (rezíduá pesticídov z varroacidov a POR a falšovanie prídavkom cudzorodých látok) aj na území SR najmä u komerčných výrobcov medzistienok. V tejto súvislosti je v slovenských diagnostických laboratóriách vykonávajúcích chemické skúšky spadajúcich pod ŠVPÚ SR potrebné zaviesť funkčnú rutinnú metodiku analýzy rezíduí pesticídov aj vo včelom vosku a taktiež metodiku na odhaľovanie porušovadiel včelieho vosku. V súčasnosti, aj v súvislosti s obtiažnym spracovaním vzorky, nie sú takéto analýzy bežné.

Najlepšia stratégia na zníženie kontaminácie včelieho vosku rezíduami akaricídnych látok používaných na tlmenie varroózy zo strany včelárskej verejnosti je kombinácia nasledujúcich opatrení:

- a) ciele liečenie varroózy na základe monitoringu včelstva – zabráni zbytočným nadmerným aplikáciám syntetických lipofilných akaricídnych látok do úľového prostredia

- b) na liečenie varroózy používať vo väčšej miere prírodné organické kyseliny a éterické oleje (kyseliny mravčia, mliečna, šťaveľová sú rozpustné vo vode, preto sa nedokážu kumulovať vo vosku a ich prípadné malé množstvá sú zachytené vo vode pri spracovávaní vosku; najpoužívanejší éterický olej tymol zanecháva najskôr vysoké rezíduá vo vosku, ktoré sa ale následne vplyvom ventilácie a úľovej teploty odbúravajú, preto nedochádza ku jeho sezónnej kumulácii vo vosku)
- c) upriamiť snahu na otvorený kolobeh vosku – v procese výroby medzistienok vo väčšej miere zaraďovať vosk pochádzajúci z odviečkovancov a z vyrezaného trúdieho diela a znížiť tak mieru záťaže medzistienok rezíduami pesticídnych látok z varroacidov aj POR.

Slovenskí včelári používajú najčastejšie veterinárne liečivá Avartin a Apivartin na fumigačné ošetrenie včelstiev. Tieto liečivá dokážu zabezpečiť účinné ošetrenie včelstva pri nízkej dávke – priemerne do 10 mg ú.l. amitrazu/včelstvo. Na európskom trhu sú však aj kontaktné veterinárne liečivá, ktoré svojou kontaktnou aplikačnou formou vystavujú včelstvo až dávkam do 1000 mg/včelstvo. Zo strany registrácie veterinárnych liečiv je preto potrebné zvážiť, či je v súčasnej situácii potrebné registrovať takéto liečivá na štátnej úrovni. V prípade letného ošetrenia sa najviac používa veterinárne liečivo Gabon PF90 s ú.l. tau-fluvalinát. Niektorí včelári, ktorí ho používajú dlhodobo registrujú narastajúcu rezistenciu *V. destructor* voči tejto ú.l.. Preto sú postavení pred alternatívu kúpy výrazne drahšieho a, z hľadiska rezíduí vo včelom vosku, rizikovejšieho Bayvarolu s účinnou látkou flumetrin. Druhá možnosť je tmiť varroózu v letnom období použitím kyseliny mravčej. V jej prípade je však na Slovensku dostupné len jedno registrované liečivo – Formidol a niekoľko neregistrovaných veterinárnych pomôcok – odparovačov kyseliny mravčej. V tomto smere by bolo vhodné podporiť ich registráciu, prípadne registráciu generík – napr. MAQS. Rovnako tak aj kyselina šťaveľová na zimné ošetrenie v čistej forme nemá na našom trhu registrovaný veterinárny prípravok a preto si včelári pomáhajú domácou výrobou roztokov. Niekedy s fatálnymi dôsledkami. Európsku registráciu má prípravok VarroMed, kde je kyselina šťaveľová kombinovaná s éterickými olejmi. Vzhľadom k vysokej cene však včelár skôr uprednostní výrobu roztoku. Riešením by bola registrácia prípravku Oxuvar 5,7 pre územie Slovenska výhradne na zimné ošetrenie včelstiev. Dostupnosť liečiv na báze organických kyselín v kombinácii s ich šetrným používaním na základe monitoringu infestácie včelstiev môže výrazne obmedziť výskyt lipofilných rezíduí varroacidov vo včelom vosku.

Zo strany výrobcov medzistien by v danom probléme pomohli dve veci. Prispôsobiť marketing výroby a spolupracovať so ŠVPS v oblasti dohľadu nad kvalitou včelieho vosku. Marketing výroby môže byť u výrobcu upravený tak, aby vedel ponúknuť včelárovi výrobu medzistien so zárukou, že použije len včelárov vosk. To umožní včelárovi naplánovať si koľko percent panenského včelieho vosku vloží do nových medzistien. Čím viac, tým viac odťaží svoje včelstvá od reziduálnej záťaže. Takéto opatrenie by zároveň znižovalo potrebu výrobcov medzistien kupovať vosk neznámeho pôvodu do zásoby. V prípade, že tak musí urobiť, by výrobcovi veľmi pomohla možnosť dať si nakupovaný vosk vyšetriť na prímеси, prípadne na reziduá liečiv a POR v rozumnej cenovej relácii.

Ústav včelárstva v Liptovskom Hrádku vie v danej problematike pomôcť vo viacerých oblastiach. Vie poskytnúť poradenskú činnosť v odborných témach pre všetky zúčastnené strany. Vie poskytnúť osvetovú činnosť pre včelárov a výrobcov medzistien v oblasti zlepšovania kvality vyrábaných medzistien. V prípade potreby registrácie nového veterinárneho lieku alebo prípravku vie poskytnúť realizáciu a vyhodnotenie laboratórnych, poloprevádzkových a prevádzkových pokusov zameraných na účinnosť proti klieštikovi ako aj na neškodnosť voči dospelým včelám či larvám. Tiež sa ako jediný šľachtiteľský chov Slovenskej kranskej včely línie Tatranka podieľa na medzinárodnom Česko-Slovenskom selekčnom a šľachtiteľskom programe varroatolerantnej línie včiel. To znamená línie, ktorá by bola schopná existencie bez ošetrovania proti varroóze a zároveň poskytovala úžitok. Selekcia varroatolerantných vlastností vie v značnej miere obmedziť používanie varroacidov a tým zmierniť reziduálnu záťaž včelieho vosku. Ústav včelárstva vie v prípade záujmu šľachtiteľských ale aj rozmnožovacích chovov koordinovať selekciu včelstiev, vyhodnocovať získané údaje a vybraný genetický materiál zaradiť do šľachtiteľského plánu.

Zo strany poľnohospodárskej praxe využívajúcej vo veľkej miere prípravky na ochranu rastlín je dôležité striktné dodržiavať pravidlá správnej poľnohospodárskej praxe (GAP), aplikačnú dávku prípravku, správny čas aplikácie POR vzhľadom k rastovému štádiu ošetrovanej rastliny (BBCH). Okrem ustanovení uvedených vo Vyhláske MPaRV SR č.488/2011, ktorá okrem iného ustanovuje aj podrobnosti o zásadách a opatreniach na ochranu zdravia včiel pri používaní prípravkov na ochranu rastlín, je nutné, aby poľnohospodári dodržiavali aj opatrenia na zmiernenie rizika pre včely uvedené na etikete každého konkrétneho POR. Práve tu je na mieste upozorniť na posilnenie výkonu štátnych kontrol nad dodržiavaním opatrení na ochranu včiel. Slovenský systém

poľnohospodárstva je aktuálne zameraný na pestovanie rozsiahlych konvenčne ošetrovaných monokultúr, avšak včelstvá nutne potrebujú dostatok mnoh druhového, prípravkami na ochranu rastlín nekontaminovaného peľu, ktorý by im mohla zabezpečiť podpora výsevu multiflorálnych včelomilných miešaniek. Do praxe je potrebné zavádzať integrovanú ochranu rastlín vo všetkých jej súvislostiach, vrátane cielenej ochrany chemickými prípravkami na základe monitoringu škodlivých organizmov a ochrany a podpory užitočných organizmov.

7. ZOZNAM SKRATIEK

ABPV – Acute Bee Paralysis Virus – vírus akútnej paralýzy včiel

BBCH - označuje medzinárodne používanú stupnicu vývojových a rastových štádií rastlín

CBPV – Chronic Bee Paralysis Virus – vírus chronickej paralýzy včiel

DDT – dichlorodiphenyltrichloroethane

DWV – Deformed Wing Virus – vírus deformovaných krídiel

ECD - detektor elektrónového záchytu

FAO – Food and Agriculture Organization – Organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo

FPD – plameňovo fotometrický detektor

GAP – Good Agricultural Practice – správna poľnohospodárska prax

GC – gas chromatography

HQ – hazard quotient – kvocient rizika

LD – letal dose – letálna dávka

LOD – limit of detection – detekčný limit

LOQ – limit of quantification – kvantifikačný limit

MAQS – Mite Away Quick Strips – veterinárne liečivo, prúžky s kyselinou mravčou

MRL – maximálny reziduálny limit

NPD - dusíkový-fosforový detektor

POR – pripravok na ochranu rastlín

ú.l. – účinná látka

8. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. Bajuk, B. P., Babnik, K., Snoj, T., Milčinski, L., Ocepek, M. P., Škof, M., ... & Kobal, S. (2017). Coumaphos residues in honey, bee brood, and beeswax after Varroa treatment. *Apidologie*, 48(5), 588-598.
2. Benuszak, J., Laurent, M., & Chauzat, M. P. (2017). The exposure of honey bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: Apidae) to pesticides: room for improvement in research. *Science of The Total Environment*, 587, 423-438.
3. Bogdanov, S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37(1), 1-18.
4. Bogdanov, S. (2004). Beeswax: quality issues today. *Bee World*, 85(3), 46-50.
5. Bogdanov, S., Imdorf, A., Charriere, J., Fluri, P., & Kilchenmann, V. (2003). The contaminants of the bee colony. Swiss Bee Research Centre. Bern, Switzerland, 12.
6. Bogdanov, S., Kilchenmann, V., & Imdorf, A. (1999). Acaricide residues in honey, beeswax and propolis. Swiss Bee Research Centre, Dairy Research Station, Liebefeld, Bern, Switzerland, 11.
7. Bonvehi, J. S., & Bermejo, F. O. (2012). Detection of adulterated commercial Spanish beeswax. *Food chemistry*, 132(1), 642-648.
8. Calatayud-Vernich, P., Calatayud, F., Simó, E., & Picó, Y. (2017). Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax. *Science of The Total Environment*, 605, 745-754.
9. Čavojský, V., Haragsim, O., Haragsimová, E., Kresák, M., Mačička, M. (1981). *Včelárstvo. Příroda*, 533-564.
10. Čermáková, T. (2016). Riziko používania pesticídov pre včely a ostatný užitočný myz. In: *Ekologie chovu včel*. Pavel Mervart, 151-163, ISBN 978-80-7465-215-8.
11. Dai, P., Jack, C. J., Mortensen, A. N., & Ellis, J. D. (2017). Acute toxicity of five pesticides to *Apis mellifera* larvae reared in vitro. *Pest Management Science*.
12. Daniele, G., Giroud, B., Jabot, C., & Vulliet, E. (2018). Exposure assessment of honeybees through study of hive matrices: analysis of selected pesticide residues in honeybees, beebread, and beeswax from French beehives by LC-MS/MS. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(7), 6145-6153.
13. FAO. (2005). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides, revised version. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 5-8
14. García, M. G., Duque, S. U., Fernández, A. L., Sosa, A., & Fernández-Alba, A. R. (2017). Multiresidue method for trace pesticide analysis in honeybee wax comb by GC-QqQ-MS. *Talanta*, 163, 54-64.

15. Gill, R. J., Ramos-Rodriguez, O., & Raine, N. E. (2012). Combined pesticide exposure severely affects individual-and colony-level traits in bees. *Nature*, 491(7422), 105.
16. Chauzat, M. P., & Faucon, J. P. (2007). Pesticide residues in beeswax samples collected from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) in France. *Pest Management Science*, 63(11), 1100-1106.
17. Imdorf, A., Charriere, J. D., Maqueln, C., Kilchenmann, V., & Bachofen, B. (1996). Alternative varroa control. *American Bee Journal*, 136(3), 189-194.
18. Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J. T., & Roe, R. M. (2004). Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection*, 23(5), 371-378
19. Jiménez, J. J., Bernal, J. L., del Nozal, M. J., & Martín, M. T. (2005). Residues of organic contaminants in beeswax. *European journal of lipid science and technology*, 107(12), 896-902.
20. Johnson, R.M. (2015). Honey bee toxicology. *Annual Review of Entomology*, 60, 415–434.
21. Kauhausen-Keller, D. (2017). Wachs unter der Lupe. *bienen & natur*, 9 (19)
22. López, S. H., Lozano, A., Sosa, A., Hernando, M. D., & Fernández-Alba, A. R. (2016). Screening of pesticide residues in honeybee wax comb by LC-ESI-MS/MS. A pilot study. *Chemosphere*, 163, 44-53.
23. Mullin, C. A., Frazier, M., Frazier, J. L., Ashcraft, S., Simonds, R., & Pettis, J. S. (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PloS one*, 5(3), e9754.
24. NPPC - VÚŽV Nitra. (2018). Výročná správa o činnosti NPPC-VÚŽV Nitra za rok 2017. <http://www.vuzv.sk/index.php/sk/o-nas/dokumentacia/80-vyrona-sprava>, 16
25. Nariadenie európskeho parlamentu a rady (ES) č. 396/2005 o maximálnych hladinách rezíduí pesticídov v alebo na potravinách a krmivách rastlinného a živočíšneho pôvodu a o zmene a doplnení smernice Rady 91/414/EHS, 23. 2. 2005
26. Oruc, H. H., Hranitz, J. M., Sorucu, A., Duell, M., Cakmak, I., Aydin, L., & Orman, A. (2012). Determination of acute oral toxicity of flumethrin in honey bees. *Journal of economic entomology*, 105(6), 1890-1894.
27. Perugini, M., Tulini, S. M., Zezza, D., Fenucci, S., Conte, A., & Amorena, M. (2018). Occurrence of agrochemical residues in beeswax samples collected in Italy during 2013–2015. *Science of The Total Environment*, 625, 470-476.

28. Pilling, E. D., & Jepson, P. C. (1993). Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Pest Management Science*, 39(4), 293-297.
29. Pohorecka, K., Szczęsna, T., Witek, M., Miszczak, A., & Sikorski, P. (2017). The Exposure of Honey Bees to Pesticide Residues in the Hive Environment with Regard to Winter Colony Losses. *Journal of Apicultural Science*, 61(1), 105-125.
30. Pohorecka, K., Bober, A., Skubida, M., Zdańska, D., & Torój, K. (2014). A comparative study of environmental conditions, bee management and the epidemiological situation in apiaries varying in the level of colony losses. *Journal of Apicultural Science*, 58(2), 107-132.
31. Ravoet, J., Reybroeck, W., & de Graaf, D. C. (2015). Pesticides for apicultural and/or agricultural application found in Belgian honey bee wax combs. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 94(5), 543-548.
32. Semkiw, P., & Skubida, P. (2013). Comb construction and brood development on beeswax foundation adulterated with paraffin. *Journal of Apicultural Science*, 57(1), 75-83.
33. Serra-Bonvehí, J., & Orantes-Bermejo, J. (2010). Acaricides and their residues in Spanish commercial beeswax. *Pest management science*, 66(11), 1230-1235.
34. Staroň, M., Sabo, R., Sobeková, A., Sabová, L., Legáth, J., Lohajová, Ľ., & Javorský, P. (2017). Formetanate toxicity and changes in antioxidant enzyme system of *Apis mellifera* larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(16), 14060-14070.
35. Staroň, M. (2016). Včelie dielo – dôležitý orgán včelstva. In: *Ekologie chovu včel*. Pavel Mervart, Červený Kostelec 63-71, ISBN 978-80-7465-215-8.
36. Svečnjak, L., Baranović, G., Vinceković, M., Prđun, S., Bubalo, D., & Gajger, I. T. (2015). An approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using FTIR-ATR spectroscopy. *Journal of apicultural science*, 59(2), 37-49.
37. Titěra, D. (2013). Včelí produkty mýtu zbavené. Nakladatelství Brázda, Praha, 2.vyd., 82-120, ISBN 978-80-209-0398-3.
38. Thompson, H., & Wilkins, S. (2003). Assessment of the synergy and repellency of pyrethroid/fungicide mixtures. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 131-134.
39. Tremolada, P., Bernardinelli, I., Rossaro, B., Colombo, M., & Vighi, M. (2011). Predicting pesticide fate in the hive (part 2): development of a dynamic hive model. *Apidologie*, 42(4), 439-456.
40. Veselý, V. a kol. (2007). Včelařství. Nakladatelství Brázda, Praha, 2.vyd., 242-249, ISBN 80-209-0320-8.

41. Wallner, K. (1995). Nebeneffekte bei Bekämpfung der Varroamilbe. Die Rückstandssituation in einigen Bienenprodukten. *Bienenvater*, 116(4), 172-177.
42. Wallner, K. (1999). Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, 30(2-3), 235-248.
43. Waś, E., Szczęsna, T., & Rybak-Chmielewska, H. (2016). Efficiency of GC-MS method in detection of beeswax adulterated with paraffin. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 145-162.
44. Williamson, S. M., & Wright, G. A. (2013). Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. *Journal of Experimental Biology*, jeb-083931.
45. Wilmart, O., Legrève, A., Scippo, M. L., Reybroeck, W., Urbain, B., de Graaf, D. C., ... & Saegerman, C. (2016). Residues in beeswax: a health risk for the consumer of honey and beeswax?. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(44), 8425-8434
46. Wu, J. Y., Anelli, C. M., & Sheppard, W. S. (2011). Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PloS one*, 6(2), e14720.
47. Zhu, W., Schmehl, D. R., Mullin, C. A., & Frazier, J. L. (2014). Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae. *PloS one*, 9(1), e77547.