



NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE
A POTRAVINÁRSKE CENTRUM

Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra – Ústav včelárstva Liptovský Hrádok

„Sledovanie a vyhodnotenie výskytu toxických a patogénnych vplyvov pri hromadných úhynoch alebo slabnutí včelstiev na Slovensku “

plán projektu na obdobie: 2018 – 2020

Jedným z vážnych rizík ohrozenia včiel je používanie prípravkov na ochranu rastlín (POR). Aj napriek tomu, že používanie POR je niekoľko desaťročí regulované podľa legislatívnych noriem (Nariadenia EU 79/117/EEC, 91/414/EEC, EC 1107/2009), práve POR v posledných rokoch spôsobujú vážne problémy pre chovateľov včiel. Úhyny a poškodenie včelstiev neboli vždy spôsobené len nesprávnym použitím POR, ale aj tým, že neboli často dobre popísané všetky riziká nových účinných látok v POR a vývoj nových chemických látok išiel rýchlejšie ako vývoj legislatívnych predpisov a postupov, ktorými sa riadi proces autorizácie POR pred zavedením do praxe.

Situácia v Európe

Medzi problémové sa zaraďujú aj aplikácie POR s obsahom účinných látok zo skupiny neonikotínoidov. Je to skupina látok so systémovou distribúciou v pletivách rastlín, preto sa dostávajú aj do nektáru, peľu a gutačnej vody. Sú používané vo forme postrekov a moridiel. Ich ďalšou nevýhodou je ich pomerne dlhá perzistencia v pôde, pri niektorých účinných látkach môžeme hovoriť aj o kumulácii po opakovaných aplikáciách. Medzi tieto látky patria najmä imidacloprid, clothianidín, thiametoxam, thiacloprid a acetamiprid. Z dôvodu úhynov včelstiev pozorovaných vo Francúzsku, Rakúsku, Slovinsku či Nemecku vydala EK na prvé tri účinné látky imidacloprid, clothianidín a thiametoxam zákaz na ich používanie na veľký počet druhov plodín, hlavne včelomilných (EÚ č.485/2013) od roku 2014. Pripravuje sa metodika na nové hodnotenie týchto prípravkov, ktoré by zohľadňovalo dlhodobý dopad na včelstvá, ale aj celkovo na ekosystém. Návrh metodiky hodnotenia rizík POR pre včely, čmeliaky a iný užitočný hmyz je stále v štádiu pracovných diskusií a záverečné stanovisko EK k trom účinným látkam zo skupiny neonikotínoidov sa predpokladá v októbri 2017, pričom zákaz používania trvá dodnes. Novými hodnotami získavanými počas pozorovacieho obdobia sú NOEC – tzv. koncové body chronickej toxicity, ktoré sú stanovované pre dospelé včely a larvy. Zohľadňujú chronický vplyv účinnej látky cez intoxikovanú potravu. Pre clothianidin bola zistená NOEC hodnota pre včely 8,13 µg/kg potravy a pre včelie larvy 20,00 µg/kg diety. NOEC hodnoty pre ostatné účinné látky t.č. nie sú určené. Prehľad poznatkov je zhrnutý v zozname použitej literatúry.

Situácia na Slovensku

V máji roku 2012, v okrese Trnava hlásili chovatelia s väčším počtom včelstiev (od 30 do 250) úhyny lietaviek a postupné oslabovanie včelstiev. Všetky štyri stanovišťa sa nachádzali v poľnohospodársky aktívne obhospodarovanej oblasti (repka, obilniny, kukurica, ovocné sady, vinohrady). Zdokumentovali sme stav včelstiev, odobrali sme anamnestické údaje o priebehu varroózy, jej liečenia, zootechnických zásahoch, odobrali sme vzorky včiel na rozbor vírusových

ochorení, nozematózy. Za účelom zistenia zaťaženia plástového peľu reziduami POR boli odobraté vzorky výrezu plástového peľu vyšetrené multireziduálnou analýzou. Zachytené boli nasledovné koncentrácie:

Účinná látka	Chemická skupina	Koncentrácia účinnej látky v plástovom peľi v $\mu\text{g}/\text{kg}$ na stanovišti č.1	Koncentrácia účinnej látky v plástovom peľi v $\mu\text{g}/\text{kg}$ na stanovišti č.2	Koncentrácia účinnej látky v plástovom peľi v $\mu\text{g}/\text{kg}$ na stanovišti č.4
thiacloprid	neonikotinoid	12	12	24
clothianidin	neonikotinoid	20	-	55
thiametoxam	neonikotinoid	-	<10	-
acetamiprid	neonikotinoid	-	<10	89
chlorpyrifos	organofosfát	13	13	stopy
cypermethrin	pyretroid	stopy	stopy	stopy
tau fluvalinat	pyretroid	stopy	stopy	stopy

*stanovište č.3 vykazovalo poškodenie klieštikom, vzorky peľu nevykazovali pesticídne zaťaženie

Na základe všetkých zistených údajov a výsledkov vyšetrení sa na kolapsoch včelstiev na stanovištiach č. 1, 2 a 4 podieľali viaceré rizikové faktory – aplikácia POR, reziduá pesticídov v peľi, ochorenia, spôsob liečby varoózy, ale aj zootecnické zásahy chovateľov či nevhodnosť stanovišťa.

Multireziduálna analýza POR bola vykonaná aj vo vzorkách od chovateľa z východného Slovenska, ktorý mal problém s výraznou medzerovitou plodu v panenských plástoch a postupnou stratou kondície včelstva. Vyslovil podozrenie na chronickú intoxikáciu. V tomto prípade neboli potvrdené reziduá POR. Po dodatočnej anamnéze sme zistili, že sa jedná o konkrétnu šaržu medzistien, ktoré kvalitatívne nemusia zodpovedať potrebám včelstva (možná prímes parafínu, stearínu).

Zámery projektu ToxBEE

Z uvedených faktov získaných z terénu od včelárov Slovenska vieme zhrnúť, že pri riešení podozrenia na chronickú otravu včelstva je potrebné pristupovať k jednotlivým prípadom za použitia diferenciálnej diagnostiky zahŕňajúcej podozrenia na varroózu sprevádzanú vírusovou infekciou DWV, ABPV, CBPV, ďalej podozrenie na záťaž plástového peľu reziduami POR, na záťaž vosku varroacidnými prípravkami a kvalitatívne poškodenie vosku (prímes parafínu, stearínu) v spotrebiteľskom obehu. V neposlednom rade je potrebné vylúčiť aj nozémovú nákazu a infekčné ochorenia včelieho plodu. Taktiež je potrebné zohľadniť aj dostatok glycidových a bielkovinových zásob počas medziznáškového obdobia, dostatok mnohodruhového peľu aj z iných zdrojov ako sú len POR ošetrované monokultúry.



Vzhľadom k výraznému obmedzeniu používania klotianidínu, tiametoxamu a imidaklopridu (zákaz používania u plodín atraktívnych pre včely) od r.2014 až dodnes sa zhodnotí zmena situácie vo včelstvách. Je potrebné overiť predpoklad, že v prípade hromadného slabnutia včelstiev v sezóne roku 2018 by nemali tieto látky zohrávať takú významnú úlohu ako tomu bolo v r.2012 pred zákazom. Okrem možného nárastu aplikácií insekticídnych POR, v poľnohospodárskej praxi už dlhodobo používaných (pyretroidy, organofosfáty), ale taktiež POR s ďalšími dvomi účinnými látkami zo skupiny neonikotinoïdov (thiacloprid, acetamiprid), je potrebné zamerať sa na hľadanie ďalších možných príčin úhynov a oslabovaní včelstiev z celého radu už spomínaných rizikových faktorov.

1. Zisťovanie miery vplyvu rizikových faktorov hromadných úhynov a slabnutia včelstiev – prípadové štúdie

NPPC – VÚŽV Nitra – pracovisko Ústavu včelárstva v Liptovskom Hrádku vedie toxikologicko-informačné centrum pre hlásenie podozrenia otráv pesticídmi priamo od chovateľov včelstiev z terénu. Druhou cestou získavania informácií o úhynoch alebo slabnutiach včelstiev rôznej etiológie (nielen suspektných otráv) bude založenie včelárskej verejnosti prístupná internetová stránka („InfoWeb“). Informácie uvedené priamo včelármi z terénnej praxe budú podrobené vstupnej výberovej analýze. Podľa aktuálnej situácie výskytov nových prípadov v danom roku, na vyšetrenie vyberieme prípady na konkrétnych stanovištiach podľa miery ich závažnosti, podľa princípu rovnomerného zastúpenia rôznych typov stanovišť - podľa výdatnosti a typu znáškových zdrojov (napr. stanovište v dolete na intenzívne POR ošetrované monokultúry, stanovište v oblasti s nižšou výdatnosťou znášky, ale väčšou rozmanitosťou znáškových zdrojov...)

Pri návšteve vybraných stanovišť sa budeme zameriavať najmä na:

- Anamnestické údaje chovateľa o zootecnických zásahoch, priebehu a liečbe varoózy
- Posúdenie vhodnosti stanovišťa, bohatosti a rozmanitosti znáškových zdrojov nektáru a peľu, prístupu k vode
- Posúdenie stavu včelstiev priamo na stanovišti, klinická prehliadka, posúdenie stavu dostatočnosti glycidových a bielkovinových zásob
- Odber vzoriek včiel na posúdenie aktuálnej infestácie *Varroa destructor* a na analýzu sprievodných vírusových infekcií (DWV, ABPV, CBPV)
- Odber vzoriek včiel na vyšetrenie nozematózy, oddiferencovanie pôvodcu *N.ceranae*, *N. apis*
- V prípade klinických príznakov odber vzoriek na vyšetrenie moru a hniloby včelieho plodu, zväpenatenia včelieho plodu
- Odber vzoriek plástového peľu na multireziduálnu analýzu na zistenie zaťaženia POR
- Odber vzoriek včiel a medu na multireziduálnu analýzu na zistenie obsahu účinných látok POR
- Odber vzoriek vosku na: a/ multireziduálnu analýzu na zistenie zaťaženia reziduami POR a varroacídnych liečiv; b/ zistenie jeho kvality vzhľadom k nežiaducim prímiesiam - kvantitatívne určiť prímies parafrínu a stearínu v medzistenách



Stanovištia, na ktorých budú včelstvá vyšetrené v prvom roku (2018), budú vyšetrené aj nasledujúci rok, pričom odoberieme už len relevantný súbor vzoriek na základe vyhodnotenia výsledkov analýz z prvého roku.

Kontrolné včelstvá budú umiestnené v ekologicky čistej oblasti Liptova v oblasti ekologického poľnohospodárstva na stanovišti v dostatočnej vzdialenosti od intenzívneho konvenčného poľnohospodárstva - monokultúr poľnohospodárskych plodín ošetrovaných POR (minimálna vzdialenosť 5 km okruh). Z týchto včelstiev sa odoberie potrebný súbor vzoriek na analýzy.

Na základe získaných výsledkov a vyšetrení vyhodnotíme, do akej miery sa na hromadných úhynoch alebo slabnutiach včelstiev skutočne podieľa vplyv POR používaných v konvenčnom poľnohospodárstve a do akej miery je situácia spôsobená ďalšími rizikovými faktormi – parazitárne a infekčné ochorenia, spôsob liečenia, zootecnické aspekty včelárenia a zásahy včelára, vhodnosť stanovišťa, dostatok rôznorodých znáškových zdrojov.

2. Overenie vplyvu znášky medovice z porastov cukrovej repy, ktoré pochádzajú z osiva moreného POR s obsahom neonikotínoidov

V súčasnosti medzi najväčšie poľnohospodárske plochy ošetrované neonikotínoidmi s možným dopadom na včelstvá patrí cukrová repa. Na Slovensku je momentálna pestovateľská výmera cukrovej repy cca 23 000 ha (1,52% ornej pôdy). Osivo cukrovej repy je morené aj účinnými látkami zo skupiny neonikotínoidov (vrátane imidaklopridu, klotianidínu a tiametoxámu) na ochranu proti živočíšnym škodcom. Keďže sú to látky so systémovým účinkom, dostávajú sa do všetkých častí rastliny. Vošky patria medzi živočíšnych škodcov cukrovej repy, ktoré touto cestou môžu produkovať medovicu s obsahom účinnej látky zo skupiny neonikotínoidov, ktorá sa môže stať zdrojom potravy pre včely. Či vošky vplyvom účinnej látky hynú skôr ako stihnú vyprodukovať medovicu, alebo vošky produkujú medovicu s obsahom účinnej látky a v akej koncentrácii, zatiaľ nie je známe.

Cieľom je preto overiť hypotézu, či sú vošky na takto ošetrovanom poraste v praxi schopné produkovať medovicu. Stanovište s pokusnými včelstvami bude situované v tesnej blízkosti dostatočne veľkej plochy porastu cukrovej repy z osiva moreného POR s obsahom účinnej látky zo skupiny neonikotínoidov. V poraste budú vykonané pozorovania na prítomnosť vošiek, medovice, atraktivitu pre včely. Odoberieme vzorky biologického materiálu (rastliny, vošky a lietavky z porastu, med z úľa) a po spracovaní ho podrobíme cieľenej analýze reziduí účinných látok. Výsledok potvrdí alebo vyvráti atraktivnosť takýchto porastov pre včely.

Podľa oševného postupu po neonikotínoidmi morenej cukrovej repe nasleduje zaradenie ozimnej obilniny ako nevčelomilnej rastliny. Keďže pôdna perzistencia neonikotínoidov môže dosahovať aj 4-5 rokov (v závislosti od typu pôdy), je potrebné sledovať výskyt reziduí v pestovaných rastlinách aj v ďalších rokoch, pretože druhý a tretí rok po cukrovej repe môže byť na týchto parcelách pestovaná včelomilná rastlina, čo predstavuje možné riziko vstupu neonikotínoidov z pôdy do včelomilnej rastliny (napr. repky, slnečnice) a teda aj do nektáru a peľu. Preto bude vykonaný odber pôdy a rastlín na parcele s minuloročným výsevom neonikotínoidmi morenej cukrovej repy a s dvojročným odstupom od výsevu. Vzorky budú cieľene vyšetrené na prítomnosť reziduí.



NÁRODNÉ POĽNOHOSPODÁRSKE
A POTRAVINÁRSKE CENTRUM

Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra – Ústav včelárstva Liptovský Hrádok

Partneri projektu a ich úloha:

Štátny veterinárny a potravinový ústav, Janoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín: PCR analýzy (ABPV, CBPV, DWV, SBV, Dif. dg. *N. spp.*), kultivačné vyšetrenia vzoriek

Štátny veterinárny a potravinový ústav v Bratislave, Botanická ulica č. 15, 842 52 Bratislava: multireziduálne a ciele analýzy rezíduí účinných látok

Prehľad literatúry k danej problematike:

ALAUX, Cédric, et al. Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*). *Journal of invertebrate pathology*, 2011, 106.3: 380-385.

Brandt, A.: Neues aus Kirchhain, - Effekte von Neonicotinoiden auf die Bienengesundheit, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2015, 49, 4, 23

Brandt, A., Büchler, R.: Bienen unter Stress, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2016, 50, 4, 14-15

Čermáková, T.: Zmena postupov hodnotenia rizika pesticídov pre včely, *Moderní včelař*, 2016, (2), 10-13, ISSN: 1214-5793.

DI PRISCO, Gennaro, et al. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110.46: 18466-18471.

Garrido, C.: Welche Pestizide schaden Bienen?, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2015, 49, 12, 18-19.

Heike, R.: US-Umweltbehörde bestätigt Bienen-Gefährdung durch Imidacloprid, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2016, 50, 3, 29

CHANDEL, R. S.; GUPTA, P. R. Toxicity of diflubenzuron and penfluron to immature stages of *Apis cerana indica* F and *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 1992, 23: 465-465.

JOHNSON, Reed M., et al. Pesticides and honey bee toxicity—USA. *Apidologie*, 2010, 41.3: 312-331.

Liliental, T.: Neonicotinoide – hochbrisant, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2015, 49, 1, 10

Neumann, K., Schwenkel, J.: Verbot muss bleiben, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2015, 49, 1, 11

Ritter W.: Vergiftung oder Krankheit, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2014, 48, 2, 14-15.

Rosenkranz, P.: Neues aus Hohenheim – EU-Projekt „BEEDOC“, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 2014, 48, 5, 23

SANDROCK, Christoph, et al. Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. *PLoS One*, 2014, 9.8: e103592.

STAROŇ, Martin, et al. Formetanate toxicity and changes in antioxidant enzyme system of *Apis mellifera* larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 1-11.

ABOUSAARA, Hossam; STARON, Martin; CERMAKOVA, Tatiana. Impacts of oxalic acid, thymol, and potassium citrate as *Varroa* control materials on some parameters of honey bees. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2017, 41.2: 238-247.