



**Kmetijski inštitut Slovenije**  
**Agricultural Institute of Slovenia**  
1001 Ljubljana, Hacquetova 17  
Tel. 01 / 280 52 62, p.p. 2553  
Telefax 01 / 280 52 55

Št.:

Ljubljana, 9. 10. 2008

**Fitosanitarna uprava**  
**Republike Slovenije**  
**Einspielerjeva 6**

**1000 LJUBLJANA**

Zadeva: Končno poročilo

## **UGOTAVLJANJE OSTANKOV KLOTIANIDINA, IMIDAKLOPRIDA IN TIAMETOKSAMA V DELIH KORUZE IN OCENA VPLIVA TRETIRANE KORUZE NA ČEBELJE DRUŽINE**

### **1. Namen naloge**

Temeljni namen in cilj je s poskusi v naravnem okolju preveriti kakšne so koncentracije aktivnih snovi klotianidin, imidakloprid in tiametoksam v tkivu koruze v posameznih fazah razvoja (od začetka obdobja hitre rasti do konca cvetenja), v cvetnem prahu koruze in v čebelah, ter kako in v kakšni meri lahko te koncentracije vplivajo na čebelje družine. Navedene aktivne snovi delujejo sistemsko in se uporabljajo za tretiranje semena koruze za zaščito rastlin pred napadom talnih škodljivcev. Najdene koncentracije v vzorcih cvetnega prahu se bodo primerjale z obstoječimi podatki, iz registracije navedenih fitofarmaceutskih sredstev. Glede na aktualne razmere pomorov čebel in predvsem opozarjanja čebelarjev na možnost novih pomorov čebel, ki bodo izpostavljene cvetnemu prahu koruze, je potrebno podatke pridobiti pred množičnim cvetenjem koruze.

### **2. Metode dela**

Na poljih koruze, katerih seme je bilo tretirano s pripravki Poncho, Gaucho in Cruiser, se izvaja poskus, katerega namen je ugotoviti vsebnosti ostankov aktivnih snovi klotianidin, imidakloprid in tiametoksam v koruzi, cvetnemu prahu koruze, ki so ga zbrale čebele in v samih čebelah. Ocenjuje se tudi vpliv tretirane koruze v fazi cvetenja na čebeljo družino.

Na osnovi večletnih podatkov o začetku cvetenja koruze v poskusih za registracijo novih hibridov, je bilo za območje poskusov izbrano Prekmurje. S pomočjo kmetijske inšpekcije so bile za izvedbo poskusa določene naslednje njive:

### Poncho

GERK št. 662630 v k. o. Prosenjakovci, površina 16,30 ha, last KG Rakičan (MID 100354167), koroza PR38F10, dodelovalec Intercorn Trading, v letu 2007 je bila na tej njivi oljna ogrščica.

### Gaicho

GERK 2167952 v k. o. Fokovci, površina 1,03 ha, last Molnar Franc, Selo 27 (MID 100293045), koroza PIXXIA, dodelovalec Agrosaat, v letu 2007 je bila na tej njivi tritikala.

### Cruiser

GERK 1230625 v k. o. Nemčavci, površina 1,93 ha, last Cigüt Štefan, Noršinci 62 (MID 100317727), koroza PIXXIA, dodelovalec Agrosaat, v letu 2007 je bila na tej njivi pšenica.

### Kontrola, netretirano seme koroze

GERK št. 662621 v k. o. Prosenjakovci, površina 7,75 ha, last KG Rakičan (MID 100354167), koroza PR38F10, dodelovalec Intercorn Trading, v letu 2007 je bila na tej njivi oljna ogrščica.

Prvo vzorčenje rastlin na vseh poskusnih mestih smo izvedli 24. junija 2008 in nato še 3 v rednih 7 dnevni presledkih. Prvo vzorčenje je bilo izvedeno pred cvetenjem koroze, drugo v začetku cvetenja, tretje v polnem cvetenju in četrto ob koncu cvetenja.

Poskus s čebelami smo izvedli na vseh štirih poskusnih mestih. Del koruznega posevka smo pred cvetenjem pokrili z mrežnikom dimenzij 4m x 4m x 4m. Vanje smo zaprli po dve čebelji družini, po dve pa smo namestili zunaj mrežnika, na koruzno polje. V obeh primerih smo spremljali razvoj družin, smrtnost, vpliv na obnavljanje čebelje družine in obseg zalege. Poskusne družine smo opazovali tudi po cvetenju, predvsem v smislu spremljanja družine, če je v času cvetenja prišlo do odstopanja od pričakovanega obnašanja družin. Na osnovi spremljanja družin smo ugotovili morebiten vpliv prisotnosti različnih insekticidov na posamezne čebele in na družine. Vzorčili smo cvetni prah koroze iz panjev (izkopanec), osmukan cvetni prah (osmukanec) in mrtve oz. izletne čebele.

### Analitika

Za določitev imidakloprida, klotianidina in tiametoksama v vzorcih koruznice, cvetnega prahu in čebel smo vzorce homogenizirali in nato ekstrahirali z mešanico topil (acetona, petroletra in diklorometana). Ekstrakte smo prečistili z gelsko permeacijsko kromatografijo (GPC). Posamezne kemijske komponente smo analizirali s tekočinsko kromatografijo z masno selektivnim detektorjem (LC/MS/MS).

## **3. Rezultati analiz**

V okviru poskusa je bilo zbranih in analiziranih 16 vzorcev koruznice, 17 vzorcev cvetnega prahu, ki so ga nabrale čebele in 16 vzorcev čebel iz družin v mrežnikih in družin izven mrežnikov. Vsi vzorci so bili analizirani na tri substance: klotianidin, imidaklopid in tiametoksam. Skupno je bilo opravljeno 147 analiz vzorcev zbranega materiala.

### Koruznica

Vsebnost aktivnih snovi klotianidin, imidaklopid in tiametoksam je bila pri vseh vzorcih pod mejo detekcije (LOD). Ta je 0,01 mg/kg.

### Cvetni prah

Vsebnost aktivnih snovi klotianidin, imidakloprid in tiametoksam je bila pri vseh vzorcih pod mejo detekcije (LOD), ki je 0,003 mg/kg.

Vrednosti, ki jih je Fitosanitarna uprava RS pridobila od proizvajalcev v postopku registracije preučevanih insekticidov oziroma njihovih aktivnih snovi so naslednje:

Tiametoksam: do največ 0,00717 mg/kg cvetnega prahu.

Klotianidin: do največ 0,0062 mg/kg cvetnega prahu

Imidakloprid: do največ 0,0076 mg/kg cvetnega prahu

### Čebele

Vsebnost aktivnih snovi klotianidin, imidakloprid in tiametoksam je bila pri vseh vzorcih pod mejo detekcije (LOD). Ta je 0,003 mg/kg za klotianidin in tiametoksam, za imidakloprid pa 0,004 mg/kg.

## **4. Opazovanja in meritve čebel**

Pri spremljanju 16 čebeljih družin na štirih lokacijah smo merili obseg odkrite in pokrite zalege. Na vsaki lokaciji sta bili po dve družini v mrežniku in po dve družini izven mrežnika.

Pred poskusom so bili dne 7.7.2008 odvzeti vzorci cvetnega prahu v družinah (izkopanec) in vzorci čebel delavk. Družine v mrežnikih so nabirale cvetni prah koruze, družine izven mrežnika pa so nabirale različne cvetne prahove. Rezultati analiz cvetnega prahu iz čebeljih družin, osmukanca v mrežnikih in cvetnega prahu zbranega v družinah izven mrežnikov, so bili na prisotnost pesticidov klotianidin, imidakloprid in tiametoksam negativni (LOD; 0,003 mg/kg). Vzorci so bili ponovno odvzeti v času poskusa 14. 7. 2008 in 21. 7. 2008. Tudi rezultati analiz cvetnega prahu in čebel, z dne 14. 7. 2008, so bili na prisotnost navedenih pesticidov negativni.

Čebelje družine locirane v mrežnikih so se razvijale glede na dane, omejene pogoje razvoja v mrežniku. Družine zaprte v mrežniku s tretirano koruzo so se razvijale primerljivo družinam, ki so bile zaprte v mrežniku z netretirano koruzo. Družine v mrežniku praviloma ne kažejo progresivnega razvoja, kot družine v odprtem okolju. Posamezne delavke se v mrežniku ne vračajo v panj, se zaletajo v stene mrežnika in tam odmrejo. Zato se te družine slabše razvijajo kot družine, ki so locirane na prostem. To je v mrežnikih pričakovani pojav. Sicer pa smo v družinah v mrežnikih pridobili zadostne količine cvetnega prahu, ki so ga čebele zbrale. Pridobili smo tudi mrtvice in izletne čebele. Posamezne delavke odmirajo v okolici panja in ob stenah mrežnika. V mrežnikih, v okolici panjev ni bilo ugotovljeno povečano odmiranje posameznih izletnih čebel, glede na družine izven mrežnikov ali na kontrolni lokaciji, kjer koruza ni bila tretirana.

Preiskave izletnih čebel na prisotnost spor *Nosema* ni pokazala razlik v stopnji okužbe med čebelami različnih poskusnih skupin in lokacij. Družine niso kazale znamenj bolezni, kot je huda gniloba, pohlevna gniloba ali poapnela zalega.

Razvoj čebeljih družin izven mrežnikov je bil primerljiv med posameznimi lokacijami, med katerimi ni bilo razlik. Čebele delavke so izletale na pašo na okoliška zemljišča in rastlinje in tudi na cvetove koruze. Tudi v teh družinah smo zbrali zadostno količino izletnih čebel in mrtvic, ter vzorcev cvetnega prahu. Vzorci cvetnega prahu, ki so ga zbrale čebele v mrežnikih je pripadal izključno koruzi, vzorci cvetnega prahu zbranega izven mrežnikov pa je pripadal različnim družinam rastlin. Najbolj zastopani so bili cvetni prahovi družin nebinovk (sončnica, potrošnik, regrad) in vrbovk.

Tabela 1: Preiskava vzorcev cvetnega prahu in čebel.

Št. vzorca	Kraj poskusa	Vzorec	Lokacija	Datum
1	Kontrola -Prosenjakovci	žive čebele, mrtvice	zunaj	7.7.2008
2		žive čebele, mrtvice	mrežnik	7.7.2008
3		izkopanec	zunaj	7.7.2008
4		izkopanec	mrežnik	7.7.2008
5	Prosenjakovci	žive čebele, mrtvice	zunaj	7.7.2008
6		žive čebele, mrtvice	mrežnik	7.7.2008
7		izkopanec	zunaj	7.7.2008
8		izkopanec	mrežnik	7.7.2008
9	Fokovci	žive čebele, mrtvice	zunaj	7.7.2008
10		žive čebele, mrtvice	mrežnik	7.7.2008
11		izkopanec	zunaj	7.7.2008
12		izkopanec	mrežnik	7.7.2008
13	Nemčavci	žive čebele, mrtvice	zunaj	7.7.2008
14		žive čebele, mrtvice	mrežnik	7.7.2008
15		izkopanec	zunaj	7.7.2008
16		izkopanec	mrežnik	7.7.2008
17	Kontrola -Berkovci	žive čebele, mrtvice	zunaj	15.7.2008
18		žive čebele, mrtvice	mrežnik	15.7.2008
19		osmukanec, izkopanec	zunaj	14.7.2008
20		osmukanec, izkopanec	mrežnik	14.7.2008
21	Prosenjakovci	žive čebele, mrtvice	zunaj	15.7.2008
22		žive čebele, mrtvice	mrežnik	15.7.2008
23		osmukanec, izkopanec	zunaj	14.7.2008
24		osmukanec, izkopanec	mrežnik	14.7.2008
25	Fokovci	žive čebele, mrtvice	zunaj	15.7.2008
26		žive čebele, mrtvice	mrežnik	15.7.2008
27		osmukanec, izkopanec	zunaj	14.7.2008
28		osmukanec, izkopanec	mrežnik	14.7.2008
29	Nemčavci	žive čebele, mrtvice	zunaj	15.7.2008
30		osmukanec, izkopanec	zunaj	14.7.2008
31		osmukanec, izkopanec	mrežnik	14.7.2008

<b>Št. vzorca</b>	<b>Kraj poskusa</b>	<b>Vzorec</b>	<b>Lokacija</b>	<b>Datum</b>
32	Berkovci	žive čebele	zunaj	21.7.2008
33		žive čebele	mrežnik	21.7.2008
34		osmukanec	zunaj	21.7.2008
35		osmukanec	mrežnik	21.7.2008
36	Prosenjakovci	žive čebele	zunaj	21.7.2008
37		žive čebele	mrežnik	21.7.2008
38		osmukanec	zunaj	21.7.2008
39		osmukanec	mrežnik	21.7.2008
40	Fokovci	žive čebele	zunaj	21.7.2008
41		žive čebele	mrežnik	21.7.2008
42		osmukanec	zunaj	21.7.2008
43		osmukanec	mrežnik	21.7.2008
44	Nemčavcil	žive čebele	zunaj	21.7.2008
45		osmukanec	zunaj	21.7.2008

Tabela 2: Rezultati kemijske analize v vzorcih cvetnega prahu in čebel delavk.

	Konc. (mg/kg)		
	imidaklopid	klotianidin	tiametoksam
Meja detekcije (mg/kg):	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>
Številka vzorca			
KONTROLA: cvetni prah: 3, 4, 7, 8, 11, 12, 15, 16, 08-3611.	-	-	-
KONTROLA čebele: 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 08-3610.	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-
25	-	-	-
26	-	-	-
27	-	-	-
28	-	-	-
29	-	-	-
30	-	-	-
31	-	-	-
32	-	-	-
33	-	-	-
34	-	-	-
35	-	-	-
36	-	-	-
37	-	-	-
38	-	-	-
39	-	-	-
40	-	-	-
41	-	-	-
42	-	-	-
43	-	-	-
44	-	-	-
45	-	-	-

- pod mejo detekcije metode

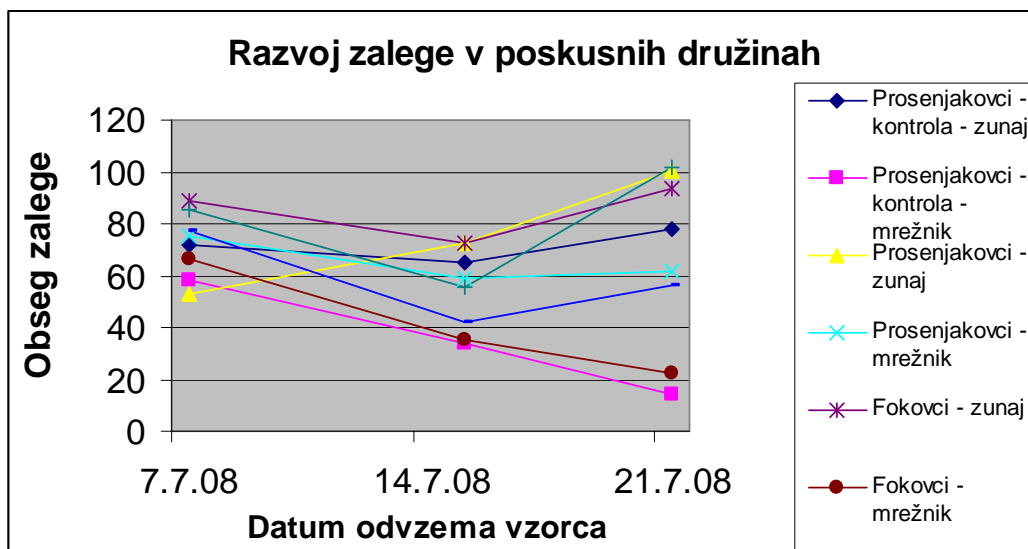
Tabela 3: Rezultati kemijske analize koruznice.

		konc. (mg/kg)		
		imidakloprid	klotianidin	tiametoksam
Meja detekcije metode (mg/kg):		<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>
Analitska št.	Oznaka vzorca			
08-2229	Kontrola 1	-	-	-
08-2230	Poncho 1	-	-	-
08-2231	Gaicho 1	-	-	-
08-2232	Cruiser 1	-	-	-
08-2298	Kontrola 2	-	-	-
08-2299	Poncho 2	-	-	-
08-2300	Gaicho 2	-	-	-
08-2301	Cruiser 2	-	-	-
08-2462	Kontrola 3	-	-	-
08-2463	Poncho 3	-	-	-
08-2464	Gaicho 3	-	-	-
08-2465	Cruiser 3	-	-	-
08-2618	Kontrola 4	-	-	-
08-2619	Poncho 4	-	-	-
08-2620	Gaicho 4	-	-	-
08-2621	Cruiser 4	-	-	-

- pod mejo detekcije metode

Tabela 4: Skupno število izvedenih analiz zbranih vzorcev koruznice, cvetnega prahu in čebel.

Izvedene analize				
Material+kontrole (število)	imidakloprid	klotianidin	tiametoksam	Skupno št. analiz
Koruznice (12+4)	16	16	16	16 x 3
Cvetni prah (15+2)	17	17	17	17 x 3
Čebele (14+2)	16	16	16	16 x 3
<b>Skupaj:</b>	<b>49</b>	<b>49</b>	<b>49</b>	<b>147</b>



Graf 1: razvoj zalege v čebeljih družinah v mrežnikih in izven mrežnikov.

## 5. Končne ugotovitve

Na osnovi vseh opravljenih poskusov in izvedenih kemijskih analiz preiskovanih aktivnih snovi v delih koruze, v cvetnem prahu, ki so ga nabrale čebele in v čebelah, ni bilo mogoče določiti ostankov aktivnih snovi klotianidin, imidakloprid in tiametoksam. Meje detekcije za posamezne aktivne snovi so bile nižje od dopustnih vrednosti, ki so bile določene v postopku registracije preučevanih insekticidov. Akutni vplivi tretirane koruze ali cvetnega prahu tretirane koruze na posamezne čebele in na čebelje družine niso bili ugotovljeni.

Sodelavci na projektu:

Dr. Aleš Gregorc - nosilec
Zoran Čergan
Marjan Kokalj
Mitja Nakrst
Dr. Špela Velikonja Bolta
Zunanji sodelavec: Ludvik Lazar

Nosilec naloge:  
Dr. Aleš Gregorc

Direktor:  
Dr. Andrej Simončič