

57.

*NAUKOWA KONFERENCJA
PSZCZELARSKA*

Cieszyn 2020

Artykuły pokonferencyjne

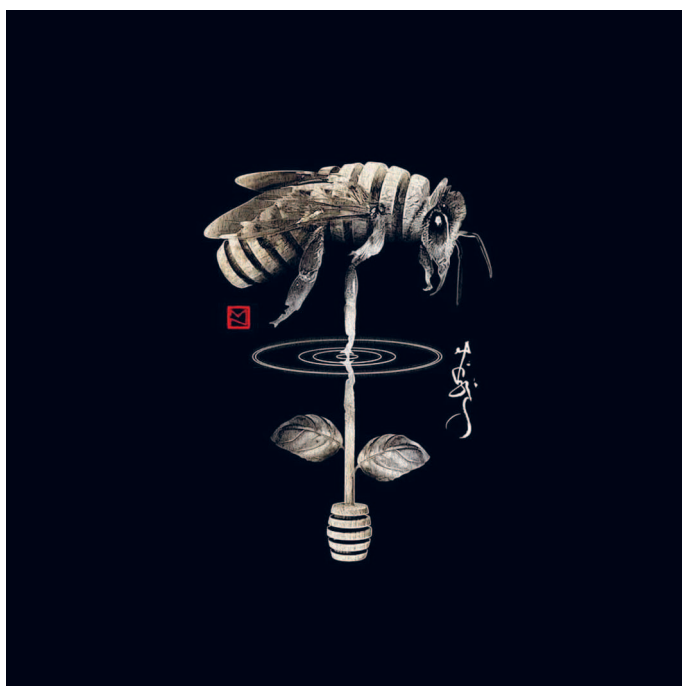


UNIWERSYTET ŚLĄSKI
WYDAWNICTWO

Monografia zawiera niepublikowane wcześniej, oryginalne prace badawcze i przeglądowne przedstawione na 57. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, która odbyła się w marcu 2020 roku w Cieszynie. Głównym celem wydania publikacji jest chęć utrwalenia dorobku naukowego konferencji. Chociaż była to już 57. jej edycja, inicjatywa wydawnicza została podjęta po raz pierwszy. Duża część zawartych w tomie materiałów to wstępne, pilotażowe wyniki z przeprowadzonych badań. Zostały one poddane ocenie recenzenta i – uzyskawszy jego akceptację – są prezentowane czytelnikom. Sprzyja to idei wymiany myśli, co służy zarówno doskonaleniu warsztatu badawczego, jak i poszerzaniu horyzontów myślowych. Wartość naukowa artykułów, potwierdzona recenzjami, stanowi wiarygodne źródło wiedzy dla popularyzatorów nauki. Niniejsza publikacja dostępna jest również w wersji elektronicznej w systemie Open Access.



57. Naukowa Konferencja Pszczelarska,
Cieszyn 2020
Artykuły pokonferencyjne





InHort
INSTYTUT OGRODNICTWA

 **UNIWERSYTET ŚLĄSKI**
W KATOWICACH

57. Naukowa Konferencja Pszczelarska, Cieszyn 2020

Artykuły pokonferencyjne

Redakcja naukowa

MIROŚLAW NAKONIECZNY

AGATA NICEWICZ

ŁUKASZ NICEWICZ

ZBIGNIEW KOŁTOWSKI

Recenzent
GRZEGORZ BORSUK

Spis treści

Wstęp (Miroslaw Nakonieczny, Agata Nicewicz, Łukasz Nicewicz, Zbigniew Kołtowski)	9
Benedikt POLACZEK <i>Apis mellifera lamarckii</i> – egipska pszczoła miodna	11
Agnieszka MURAWSKA, Paweł MIGDAŁ, Adam ROMAN Wpływ pestycydów na behavior pszczoły miodnej (<i>Apis mellifera</i> L.)	19
Paweł MIGDAŁ, Agnieszka MURAWSKA, Anna SZADY, Adam ROMAN Wpływ pola elektromagnetycznego na pszczołę miodną (<i>Apis mellifera</i> L.)	31
Marzena MASIEROWSKA Wykorzystanie ozdobnych roślin okrywowych do wzbogacania wiosennej bazy pożytkowej pszczół w mieście	39
Krystyna POHORECKA, Andrzej BOBER, Marta SKUBIDA Rozwój inwazji <i>Varroa destructor</i> w świetle zabiegów przeciwwarrozowych – studium przypadku pasieki PIWet-PIB	51
Dawid BUCHALIK, Maciej SIUDA, Jerzy WILDE Zwalczanie roztoczy <i>Varroa destructor</i> za pomocą pułapek Müllera	65
Andrzej BOBER, Marta SKUBIDA, Krystyna POHORECKA Badania nad występowaniem <i>Acarapis woodi</i> w Polsce	77
Paweł CHORBIŃSKI, Marek LISZEWSKI Wstępne badania nad nektarowaniem Oxytree (Paulownia Clon in Vitro 112)	83
Paweł CHORBIŃSKI, Marek LISZEWSKI Trzyletnie badania nad wpływem nawożenia dolistnego gryki borem na wybrane parametry jej nektarowania	93

Dariusz TEPEK, Piotr SEMKIW, Piotr SKUBIDA, Zbigniew KOŁTOWSKI, Mikołaj BORAŃSKI Ograniczenie obecności pyłku kukurydzy w produktach pszczelich w kontekście potencjalnej uprawy odmiany MON 810	103
Maja ANTCZAK, Kamila MITROWSKA Badania stabilności nitroimidazoli i tetracyklin w miodzie przechowywanym w warunkach laboratoryjnych	115
Zbigniew KOŁTOWSKI, Piotr SKUBIDA, Teresa SZCZĘSNA, Dariusz TEPEK, Katarzyna JAŚKIEWICZ, Krzysztof RUDZIŃSKI Pilotażowe badania produktów pszczelich z pożytku rzepakowego pod kątem pozostałości środków ochrony roślin	127
Anna JANCZYK, Adam TOFILSKI Wpływ dodatku imidakloprydu do pokarmu larw na użytkowanie skrzydeł pszczół robotnic	137

Table of contents

Introduction (<i>Mirosław Nakonieczny, Agata Nicewicz, Łukasz Nicewicz, Zbigniew Kołtowski</i>)	9
Benedikt POLACZEK <i>Apis mellifera lamarckii</i> – Egyptian honey bee	11
Agnieszka MURAWSKA, Paweł MIGDAŁ, Adam ROMAN Impact of pesticides on honey bee (<i>Apis mellifera</i> L.) behaviour	19
Paweł MIGDAŁ, Agnieszka MURAWSKA, Anna SZADY, Adam ROMAN Effect of the electromagnetic field on the honey bee (<i>Apis mellifera</i> L.)	31
Marzena MASIEROWSKA Enrichment of spring floral resources for urban bees by ornamental ground cover plants	39
Krystyna POHORECKA, Andrzej BOBER, Marta SKUBIDA Control of <i>Varroa destructor</i> infestation and parasite population development – the case study	51
Dawid BUCHALIK, Maciej SIUDA, Jerzy WILDE Eliminating <i>Varroa destructor</i> using the Müller board	65
Andrzej BOBER, Marta SKUBIDA, Krystyna POHORECKA Studies on the occurrence of <i>Acarapis woodi</i> in Poland	77
Paweł CHORBIŃSKI, Marek LISZEWSKI Preliminary study on the nectaring Oxytree (<i>Paulownia Clon in Vitro 112</i>)	83
Paweł CHORBIŃSKI, Marek LISZEWSKI Three-year studies on the influence of boron foliar fertilization of the buckwheat on selected parameters of its nectar production	93

Dariusz TEPEK, Piotr SEMKIW, Piotr SKUBIDA, Zbigniew KOŁTOWSKI, Mikołaj BORAŃSKI Limitation of the presence of corn pollen in bee products in the context of the potential cultivation of MON 810	103
Maja ANTCZAK, Kamila MITROWSKA Stability of nitroimidazoles and tetracyclines in honey stored in laboratory con- ditions	115
Zbigniew KOŁTOWSKI, Piotr SKUBIDA, Teresa SZCZĘSNA, Dariusz TEPEK, Katarzyna JAŚKIEWICZ, Krzysztof RUDZIŃSKI Residues of pesticides in bee products from rapeseed crops. Pilot studies . . .	127
Anna JANCZYK, Adam TOFILSKI The influence of imidacloprid contamination of larval food on honey bee worker wing venation	137

Wstęp

W 2020 roku na Uniwersytecie Śląskim w Katowicach, w jego cieszyńskim kampusie, odbyła się 57. Naukowa Konferencja Pszczelarska. Zaplanowana na 10–12 marca, wraz z towarzyszącymi jej Targami Pszczelarskimi, została za-inaugurowana interesującymi wykładami plenarnymi w cieszyńskim Teatrze im. Adama Mickiewicza. Niestety, już kolejnego dnia po otwarciu – w wyniku decyzji Rektora Uniwersytetu Śląskiego o zawieszeniu działalności Uniwersytetu w trybie stacjonarnym w celu przeciwdziałania rozprzestrzenianiu się wirusa SARS-CoV-2 – w godzinach popołudniowych konferencja została zamknięta.

Wcześniejsza decyzja Komitetu Organizacyjnego i Komitetu Naukowego 57. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej o wydaniu drukiem wykładów i posterów konferencyjnych w postaci recenzowanych artykułów naukowych okazała się w tym kontekście bardzo trafna. Dzięki niej niektóre ze zgłoszonych propozycji, mimo przedwczesnego zakończenia konferencji, mogą dotrzeć do szerokiego kręgu odbiorców.

Należy podkreślić, że głównym celem wydania niniejszej publikacji jest chęć utrwalenia dorobku naukowego konferencji. Choć była to już 57. jej edycja, inicjatywa wydawnicza została podjęta po raz pierwszy. Oprócz wskazanego jej celu zasadniczego działanie to ma także wesprzeć młodych adeptów nauki w nabywaniu umiejętności i kompetencji związanych z prezentowaniem i publikowaniem wyników prac badawczych. Duża część zawartych w publikacji materiałów to wstępne, pilotażowe wyniki z przeprowadzonych badań. Zostały one poddane ocenie recenzenta i – uzyskawszy jego akceptację – są przedstawiane czytelnikom. Być może procedura wydawnicza okaże się dla autora/autorów pomocna w skorygowaniu i ulepszeniu zamysłu projektu badawczego. Druk materiałów pokonferencyjnych sprzyja również wymianie myśli, co zawsze służy doskonaleniu warsztatu badawczego i poszerzaniu horyzontów myślowych oraz jest swoistym przejawem dialogu między mistrzem i uczniem. Innym istotnym argumentem za wydaniem monografii jest umożliwienie, głównie młodym pracownikom nauki, powiększenia uznawanych w ewaluacji indywidualnych osiągnięć naukowych. Drugą grupę artykułów, które znalazły się w prezentowanej monografii, stanowią wyniki wieloletnich badań, które ze względu na swój faktograficzny charakter nie są wystarczająco interesujące dla renomowanych czasopism naukowych, są jednak oczekiwane zarówno przez zawodowych pszczelarzy, jak i amatorów pszczelarstwa. Wartość naukowa tych

artykułów, potwierdzona recenzjami, jest wiarygodnym źródłem wiedzy dla popularyzatorów nauki.

Komitet Naukowy 57. NKP oraz redaktorzy monografii pozostawili autorom decyzję o języku (polskim lub angielskim), w jakim publikowane są ich wyniki badań, przy czym tytuł artykułu i jego streszczenie prezentowane są w dwóch wersjach językowych. Wspólnie z Wydawnictwem Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach postanowiono, że monografia w tradycyjnej wersji papierowej zostanie wydana w nakładzie minimalnym, który zapewni jej archiwizację w bibliotekach i zainteresowanych placówkach naukowych oraz umożliwi dostarczenie jej – jako naukowej, a zarazem materialnej pamiątki – uczestnikom konferencji. Idąc z duchem czasu, zdecydowano, że dorobek 57. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej ukaże się w otwartym dostępie (Open Access), co umożliwi natychmiastowy dostęp do jego treści w wersji elektronicznej na całym świecie.

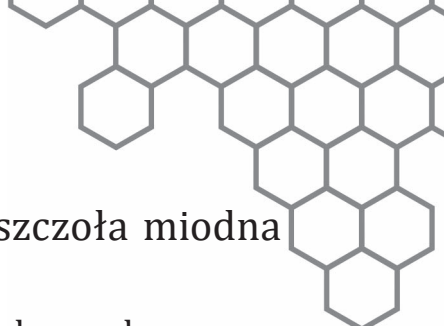
Mamy nadzieję, że niniejszy zbiór zapoczątkuje nową tradycję wydawania materiałów z Naukowych Konferencji Pszczelarskich, co przyczyni się także do podniesienia zarówno prestiżu samej konferencji, jak i jej poziomu merytorycznego. Z całego serca życzymy tego organizatorom 58. Naukowej Konferencji Pszczelarskiej i kolejnych jej edycji.

dr hab. Mirosław Nakonieczny, prof. UŚ

dr Agata Nicewicz

mgr Łukasz Nicewicz

dr hab. Zbigniew Kołtowski, prof. IO



Apis mellifera lamarckii – egipska pszczoła miodna

Apis mellifera lamarckii – Egyptian honey bee

BENEDIKT POLACZEK*  <https://orcid.org/0000-0002-3895-8009>

Institut für Veterinär-Biochemie, Freie Universität Berlin
Oertzenweg 19 b, D-14163 Berlin

* Autor do korespondencji: polaczek@zedat.fu-berlin.de

STRESZCZENIE | W połowie XIX wieku wśród pszczelarzy w Berlinie panowała fascynacja pszczołą egipską¹. Grupa Aklimatyzacyjna zleciła nauczycielowi F.W. Vogelowi import oraz hodowlę pszczoł *Apis mellifera fasciata* w Berlinie. Pierwsze rodziny tego podgatunku sprowadzono do Berlina w 1864 roku. Po dwóch latach hodowli i obserwacji Vogel odkrył żeńskie osobniki podobne zarówno do matek, jak i pszczoł robotnic, które składały jaja. Nazwał je „Halbköniginnen”, co w dosłownym tłumaczeniu oznacza „matki połówkowe”. W 1904 roku egipskie pszczoły miodne zostały ponownie sprowadzone do Niemiec. Przez wiele lat obserwacje nad nimi prowadził Bartel-Reepens. W publikacji z 1915 roku napisał, że nie znalazł takich osobników, jakie zaobserwował Vogel. W połowie lat pięćdziesiątych naukowiec egipski A.H. Kaschef szukał „matek połówkowych” w rodzinach pszczelich w Egipcie. W publikacji z 1959 roku skonstatował, że „takich osobników nie można znaleźć w rodzinach pszczelich w Egipcie”. W latach osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych współpraca między Freie Universität Berlin a Uniwersytetem w Kairze umożliwiła podjęcie ponownych poszukiwań „matek połówkowych”, co pozwoliło na zbadanie ich morfologii i anatomii. Wieloletnia hodowla *A.m. lamarckii* w szklarni w Berlinie potwierdziła istnienie „matek połówkowych”. Badania laboratoryjne dowiodły, że osobniki te znajdują się pomiędzy matkami a robotnicami. „Matki połówkowe” posiadają również zbiorniczek nasienny (*receptaculum seminis*). Bezpośrednia współpraca z naukowcami i pszczelarzami w Egipcie zaowocowała budową nowego ula, dzięki czemu zwiększono produkcję miodu od egipskich pszczoł miodnych, zapewniła również przyszłość tego podgatunku w niektórych oazach na pustyni.

SŁOWA KLUCZOWE | *Apis mellifera lamarckii*, egipska pszczoła miodna, matka połówkowa, ul z mułu Nilu, *receptaculum seminis*

¹ W 1863 roku powstała zorganizowana Grupa Pszczelarzy Charlottenburg, w 1864 roku – Grupa Wuhletalal. Obydwa związki (*Imkervereine*) działają do dziś.

ABSTRACT | In the mid-nineteenth century, among the beekeepers in Berlin, there was a fascination with the Egyptian bee². The Acclimatization Group commissioned the teacher F. W. Vogel to import and breed *Apis mellifera fasciata* in Berlin. The first families were brought to Berlin in 1864. After two years of breeding and observation, Vogel observed female individuals similar to egg-laying mothers and workers. He called them “Halbköniginnen” which literally means “half-mothers”. In 1904 these bees were brought back to Germany. For many years, observations were conducted by Bartel-Reepens. In a publication from 1915 he wrote that he did not find such individuals as Vogel. In the mid-1950s, the Egyptian scientist A. H. Kaschef searched for

“half-mothers” in bee colonies in Egypt. In 1959, he wrote that “such individuals cannot be found in bee colonies in Egypt.” In the eighties and nineties, cooperation was established between FU Berlin and the University of Cairo. It was decided to look for “half-mothers” again, then to examine them morphologically and anatomically. Many years of breeding *A.m. lamarckii* in a greenhouse in Berlin confirmed the existence of such individuals. Laboratory tests have confirmed that these individuals are found between mothers and workers. “Half-mothers” also have a seminal reservoir (*receptaculum seminis*). Direct cooperation with scientists and beekeepers in Egypt has led to the construction of a new hive, increased honey production from these bees, and ensured the future of this bee in some desert oases.

KEYWORDS | *Apis mellifera lamarckii*, Egyptian honey bee, half mother, beehive from the mud of the Nile River, *receptaculum seminis*

² In 1863 the organised Charlottenburg Beekeepers Group was founded, in 1864 the Wuhletal Group. Both associations (*Imkervereine*) are still active today.

Według profesora Ruttnera [1] pszczoła miodna (*Apis mellifera*) osiedliła się na północy Afryki w czasie od 500 000 do 1 000 000 lat temu, po czym opanowała Europę, gdzie dała początek 25 rasom geograficznym (z czego aż 14 znajduje się w okolicach Morza Śródziemnego). Podgatunki pszczoł powstały poprzez izolację przestrzenną, były dostosowane do panujących na danym obszarze warunków klimatycznych, terenowych oraz pożytkowych.

Z 11 podgatunków występujących w Afryce [1] bardzo interesująca jest pszczoła kapsztadzka (*A.m. capensis*). To jedyny gatunek, u którego z jaj robotnic mogą rozwijać się płodne żeńskie osobniki, czyli matki pszczele. U pozostałych pszczoł miodnych warunkiem przeżycia rodziny pszczelej jest zaplemnienie w powietrzu młodej matki.

Przez wiele lat Egipt uznawany był za kolebkę pszczelarstwa. Jednak nowo odkryte dowody archeologiczne wskazują na Anatolię jako miejsce najstarszego pszczelarstwa. Około 7000 lat p.n.e. Anatolia prowadziła handel z Egiptem. Już w IV wieku p.n.e. hodowano pszczoły w Dolnym Egipcie. Po zjednoczeniu Egiptu Górnego z Dolnym symbolami królewskimi były sitowie (Egipt Górny) oraz pszczoła (Egipt Dolny) (ryc. 1).

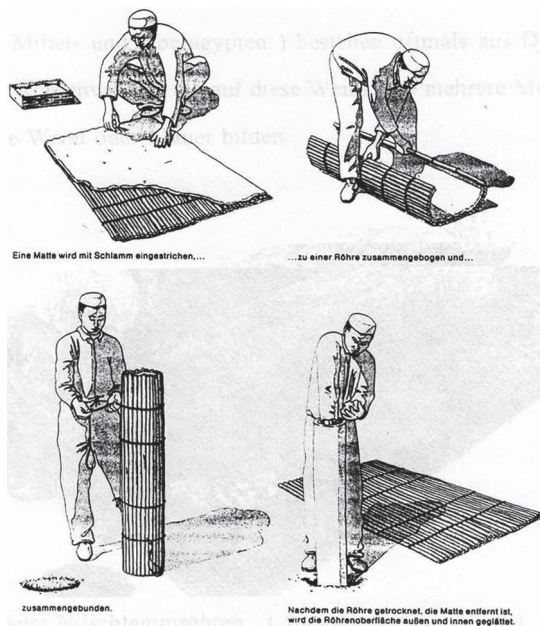
Od ok. 5000 lat pszczoła *A. mellifera lamarckii* (dawniej zwana *fasciata* lub pszczoła Faraona) utrzymywana jest w ulach w kształcie rury, której średnica waha się od 16 cm do 30 cm, a długość od 100 cm do 150 cm (ryc. 2). Rury wykonywane są z mat sitowych, oblepionych od wewnątrz i z zewnątrz mułem z Nilu (ryc. 3) [2]. Po wysuszeniu rur i zamknięciu ich otworów układa się je w stosy (nawet do 300 szt.), po czym osadza w nich pszczoły. Raz w roku do połowy rury wycina się tylne plastry z miodem. Po zamianie otworów wlotowych stronami pszczoły szybko budują brakujące plastry, zapewniając właściwe położenie czerwiu w gnieździe. Po roku z uli tych wycina się drugą część plastrów. Prowadząc taką gospodarkę pasieczną, pszczelarze co roku wymieniają 50% plastrów w rodzinach pszczelich [3, 4].



Ryc. 1. Symbole Egiptu z czasów Faraona; fot. B. Polaczek



Ryc. 2. Oryginalny uł z Egiptu; fot. B. Polaczek



Ryc. 3. Wykonywanie ula rurowego z mat sitowych oraz mułu Nilu
Źródło: [2]. © I. Jung-Hoffmann, 1990.

Po legalnym sprowadzeniu matek *A. mellifera lamarckii* z Egiptu do Berlina wprowadzano je – bez pszczół towarzyszących – do sztucznych rojów. Pszczoły towarzyszące przekazywano zaś do Urzędu Weterynarii w celu sprawdzenia ich zdrowotności. Przed tworzeniem sztucznych rojów w kilku rodzinach pasieki izolowano matki, by otrzymać wygryzające się młode pszczoły w dniu dostawy matek z Egiptu. Użycie starszych pszczół prowadziło do strat matek. Po dwudziestu dniach od uwolnienia matki w rodzinie w ulu zaczęły wygryzać się pszczoły egipskie. Wygryzione pierwsze pszczoły, jako obce dla pszczół rasy kraińskiej, zostawały zażądłone. Wraz ze wzrostem liczby wygryzających się pszczół *lamarckii* zjawisko to szybko zanikało.

Chów i hodowla pszczół egipskich w szklarni (w warunkach kwarantanny) w Berlinie zaowocowały budową nowego drewnianego ula, w którym zastosowano ramki (ryc. 4, 5). Możliwość wielokrotnego użycia ramek pozwoliła na wirowanie miodu, dzięki czemu zbiór miodu z takich rodzin w Egipcie był trzykrotnie większy.



Ryc. 4. Plaster w ramce z licznymi matecznikami, Egipt; fot. B. Schricker



Ryc. 5. Przegląd rodziny pszczelej w Egipcie; fot. B. Schricker

W szklarni pszczoły karmiono zmielonym pyłkiem, który podawano na wytłaczankach kartonowych do transportu jaj (ryc. 6). Pokarmem cukrowym był rozpuszczony miód lub Apiinvert, podawany w specjalnych podkarmiaczkach. Dodatkowo latem podawano pszczołom kwitnące kwiaty w naczyniach szklanych (ryc. 7).



Ryc. 6. Szklarnia z ulami, na stoliku u góry podkarmiaczka na pokarm płynny, na dole karton (wytłaczanka) ze zmielonym pyłkiem; fot. B. Schricker



Ryc. 7. Naturalne dokarmianie pszczół egipskich w szklarni; fot. B. Schricker

Wieloletni chów i hodowla pszczół *A.m. lamarckii* w szklarni Wolnego Uniwersytetu w Berlinie potwierdziły istnienie „matek połówkowych”. W laboratorium porównywano wiele cech matek, pszczół robotnic oraz „matek połówkowych”. Te ostatnie wielkością nie różnią się od robotnic, a ubarwienie mają podobne do matki. Posiadają mniej owłosiony odwłok i jak robotnice mają żółte zabarwienie grzbietowej części tułowia (*scutellum*). Badania laboratoryjne

potwierdziły, że osobniki te pod względem cech morfologicznych są pośrednie pomiędzy matkami a pszczołami robotnicami.

„Matki połówkowe” posiadają zbiorniczek nasienny (*receptaculum seminis*), jego wielkość jest jednak dużo mniejsza niż u prawidłowo rozwiniętych matek. Średnia wielkość zbiorniczka u zbadanych 25 osobników wynosiła 0,65 mm (min. 0,56 mm, maks. 0,88 mm). Natomiast średnica zbiorniczka u prawidłowo rozwiniętych matek to 1,1 mm (min. 1,02 mm; maks. 1,21 mm) [5].

Zarówno u prawidłowo rozwiniętych matek, jak i u „matek połówkowych” w lewym jajniku znajdowała się większa liczba rurek jajnikowych. Matki prawidłowo rozwinięte w lewym jajniku miały $108 \pm 14,9$ rurek jajnikowych, a w prawym $103,6 \pm 13,6$ [3]. „Matki połówkowe” zaś w lewym jajniku miały $48,75 \pm 31,21$ rurek jajnikowych, a w prawym $44,08 \pm 30,62$ [5]. Porównując liczbę rurek jajnikowych, można stwierdzić, że „matki połówkowe” przypominają matki prawidłowo rozwinięte w 44%.

Wszystkie inne cechy morfologiczne i anatomiczne (np. żądło, odnóża, zuwaczki) wskazują na pośrednią pozycję „matek połówkowych” w rodzinie pszczoł *A.m. lamarckii*, stanowią więc one nową kastę pomiędzy matką a robotnicą.

Znalezione w połowie lat dziewięćdziesiątych w Egipcie osobniki potwierdzają istnienie „matek połówkowych” w rodzinie pszczelej. Jakie zadanie spełniają one w naturalnych rodzinach pszczelich, pozostaje nadal pytaniem otwartym. By na nie odpowiedzieć, należy powrócić do badań tych osobników.

Warto również zwrócić uwagę na rolę pszczoły egipskiej w ograniczaniu rozwoju roztoczy *Varroa destructor*. Wprowadzenie roztoczy *V. destructor* do rodzin *A.m. lamarckii* bytujących w szklarni w Berlinie dowiodło, że pszczoły te nie mają problemu z tymi pasożytami [6], gdyż cykl rozwojowy pszczoły robotnicy *A.m. lamarckii* trwa 19,4 dnia, co w dużym stopniu ogranicza możliwości rozmnażania się roztoczy w czerwcu tych pszczoł.

Pszczoły egipskie produkują dużo mniej miodu w porównaniu z pszczołami europejskimi. Osadzone w ulach rurowych nie nadają się do gospodarki wędrowniej. Pszczoły te tworzą małe rodziny, dlatego są idealnymi zapylaczkami roślin w małych oazach na pustyni. Ponadto nie mają problemów z roztoczem *V. destructor* ani innymi chorobami atakującymi pszczoły miodne.

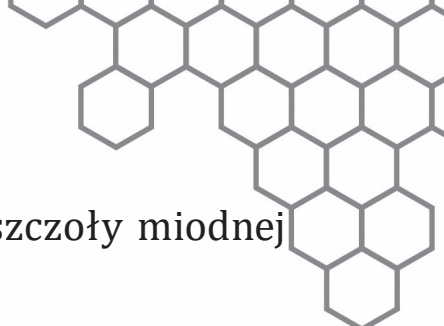
Innym powodem, dla którego trzeba dołożyć wszelkich starań, by ocalić stare, miejscowe podgatunki *Apis mellifera*, jest konieczność zachowania ciągłej malejącej puli genowej pszczoł.

In memoriam Profesor Burkhard Schricker

Pracę poświęcam pamięci Profesora Burkharda Schrickera, który koordynował badania w Berlinie i w Egipcie, organizował fundusze w Ministerstwie Rolnictwa USA na bezpośrednią pomoc pszczołom i pszczelarzom, ratując pszczołę *Apis mellifera lamarckii* przed wyginięciem.

Wykaz cytowanej literatury

1. Ruttner F. Naturgeschichte der Honigbienen. München: Ehrenwirth Verlag; 1992.
2. Jung-Hoffmann I. Bienenstand und Bienenstock (die Ambrustersammlung). Berlin: Förderkreis der naturwissenschaftlichen Museen Berlins; 1990.
3. Abou Zeid AS. Studies on the Biology of the Egyptian Honeybee *Apis mellifera lamarckii* Cock. PhD Thesis. Freie Universität Berlin. 1989.
4. Vogel FW. Die ägyptische Biene (*Apis fasciata*), ihre Einführung durch den Akklimatisations-Verein in Berlin und ihre glückliche Eingewöhnung und Vermehrung in Deutschland: Gezüchtet und beobachtet. Berlin: Schotte; 1865.
5. Weigand J. Die Halbköniginnen bei der ägyptischen Honigbiene *Apis mellifera lamarckii* Cock. Morphologie der Halbkönigin und ihre Stellung zwischen Arbeiterin und Königin. Magisterarbeit. Freie Universität Berlin. 1993.
6. Röpstorf P. Die ägyptische Honigbiene *Apis mellifera lamarckii* Cock. und die Milbe *Varroa jacobsoni* Oud. Magisterarbeit. Freie Universität Berlin. 1989.



Wpływ pestycydów na behavior pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.)

Impact of pesticides on honey bee (*Apis mellifera* L.) behaviour

AGNIESZKA MURAWSKA^{1*}  <https://orcid.org/0000-0002-8691-2953>

PAWEŁ MIGDAŁ¹  <https://orcid.org/0000-0002-2615-9760>

ADAM ROMAN¹  <https://orcid.org/0000-0003-0966-5992>

¹ Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
ul. Chelmońskiego 38c, 51-630 Wrocław

* Autor do korespondencji: agnieszka.murawska@upwr.edu.pl

STRESZCZENIE | Badania nad wpływem pestycydów na pszczołę miodną (*Apis mellifera* L.) opierają się najczęściej na testach laboratoryjnych określających dawkę śmiertelną (LD₅₀) tych substancji oraz ich toksyczność. Ustalenie dawki letalnej jest istotne w opracowaniu bezpiecznych dla pszczół wytycznych stosowania środków ochrony roślin. Tymczasem kontakt pszczół z subletalnymi dawkami pestycydów może być równie niebezpieczny, powodując mniej zauważalne skutki, takie jak zmiany w behaviorze tych owadów. Większość badań nad wpływem pestycydów na zachowanie pszczoły miodnej dotyczy neonicotynoidów oraz jednorazowej ekspozycji pszczół na daną substancję. Środki ochrony roślin w dawkach subletalnych wpływają negatywnie na aktywność ruchową, zdolność uczenia się i orientację pszczół w terenie. Umiejętności te są niezbędne w funkcjonowaniu rodziny pszczelej, a wszelkie ich zaburzenia mogą skutkować spadkiem kondycji rodziny i wydajności zapyłania.

SŁOWA KLUCZOWE | pszczoła miodna, behavior, pestycydy, neonicotynoidy, pyretroidy

ABSTRACT | Studies on the effects of pesticides on the honey bee (*Apis mellifera* L.) are mainly based on laboratory tests to determine lethal dose and toxicity. Determining the lethal dose is important in the development of bee-safe instructions for the use of plant protection products. The contact of bees with sub-lethal doses of pesticides can be dangerous, resulting in less noticeable effects such as changes in the behavior. Most of the research on the effects of pesticides on honey bee behavior concerns neonicotinoids and single exposure to the substance. Plant protection products in sub-lethal doses have a negative impact on physical activity, learning ability, and field orientation. These skills are necessary for the functioning of a bee family and effective pollination.

KEYWORDS | honey bee, behavior, pesticides, neonicotinoides, pyretroides

Wprowadzenie

Badania nad wpływem pestycydów na pszczołę miodną (*Apis mellifera* L.) opierają się najczęściej na testach laboratoryjnych określających dawkę śmiertelną (LD_{50}) tych substancji oraz ich toksyczność. Ustalenie dawki letalnej jest istotne w opracowaniu bezpiecznych dla pszczół wytycznych stosowania środków ochrony roślin [1]. Kontakt pszczół z subletalnymi dawkami pestycydów również może być niebezpieczny, powoduje bowiem zmiany w behawiorze tych owadów. W określaniu wpływu pestycydów na zachowanie pszczół zwykle bierze się pod uwagę ich aktywność ruchową, zdolność uczenia się oraz orientację w terenie [2–11].

W badaniach aktywności ruchowej przede wszystkim ocenia się zdolność pszczół do lotu oraz długość pokonywanego przez nie dystansu w kierunku światła. Pszczołę obserwuje się przez 5 minut w pojemniku o przezroczystych ścianach. W górnej części pojemnika umieszcza się źródło światła, a pozycję pszczoły zapisuje co 5 sekund [2, 5, 6, 8].

Do badań percepcji zapachu i zdolności uczenia się pszczół wykorzystuje się PER (ang. *proboscis extension reflex*) [4, 7]. Jest to odruch wysunięcia języzka złożonego w trąbkę (*proboscis*) przez owada na skutek dotknięcia czułkiem np. nektaru [12]. Indukuje on zapamiętywanie zapachów kwiatowych rozpraszających się podczas pobierania pokarmu. Badając zdolności uczenia się, unieruchomionej pszczole prezentuje się nieznany jej zapach oraz podaje syrop cukrowy. Owad łączy zapach z otrzymaniem syropu i następnie reaguje wysunięciem języzka natychmiast po prezentacji zapachu [13]. Za pomocą PER ocenia się również wrażliwość na zawartość cukru, prezentując pszczole roztwory o coraz wyższym stężeniu sacharozy, zazwyczaj 0,1%; 0,3%; 1%; 3%; 10%; 30%. Procedura ta dostarcza podstawowych informacji na temat stanu fizjologicznego pszczoły [14].

Do oceny orientacji w terenie pszczół najczęściej wykorzystuje się zjawisko *homingu*, czyli zdolności zwierząt do powrotu do gniazda po znalezieniu się w nowym miejscu [15]. W badaniach tych pszczoły lotne są łapane, a następnie znakowane (mikroczipami RFID lub antenami, których sygnał odbierany jest przez radar harmoniczny), przenoszone w nieznane miejsce i wypuszczane [3, 9–11].

Wpływ neonikotynoidów na behavior pszczoły miodnej

Neonikotynoidy cechują się wyjątkową siłą działania w zakresie ochrony upraw przed owadami ssąco-kłującymi. Na ogół nie są toksyczne dla ssaków, ptaków i ryb, co jest głównym powodem popularności tych środków [16]. Ich toksyczność względem pszczół oraz powiązanie z zespołem masowego ginięcia pszczoły miodnej (ang. *Colony Collapse Disorder* – CCD) były przedmiotem wielu badań w ciągu ostatnich dwudziestu lat. Zapoczątkowały je obserwacje spadku liczebności populacji pszczół, które gniazdowały w pobliżu pól obsiewanych nasionami zaprawionymi neonikotynoidami. Założono wtedy, że zbieraczki były narażone na niskie dawki tych insektycydów podczas pobierania pokarmu, przez co nie potrafiły powrócić do ula [17]. W kilku badaniach potwierdzono, że pszczoły narażone na subletalne dawki neonikotynoidów w pożywieniu mają trudności z rozpoznaniem pożytków, pobieraniem pokarmu oraz orientacją w terenie [10, 18, 19].

W badaniach wpływu imidakloprydu na aktywność ruchową pszczół (tab. 1) zaobserwowano problemy z koordynacją pracy skrzydeł, drgawki, nadmierne pobudzenie lub pozostawanie w bezruchu przez dłuższy czas [2, 8, 20]. W zależności od dawki pestycyd ten może wywoływać wzrost lub spadek aktywności ruchowej. Najniższa zastosowana w badaniach Lambin i wsp. dawka (1,25 ng na pszczołę) wywołała wzrost aktywności ruchowej, podczas gdy wyższe dawki powodowały spadek aktywności [2]. W badaniach Teteers i wsp. imidaklopryd spowodował skrócenie pokonywanego przez pszczoły dystansu [8]. Z kolei tiametoksam nie wpłynął na funkcje motoryczne, niezależnie od dawki i sposobu podawania, a acetamipryd wzmacniał aktywność ruchową [5]. Efektu acetamiprydu nie potwierdzili Aliouane i wsp. [6]. Tiametoksam spowodował pobudzenie pszczół zarówno w ekspozycji chronicznej, jak i jednorazowej [11, 21, 22]. Dodatkowo chroniczne narażenie na tiametoksam znacznie osłabiło zdolność pszczół do lotu: skróciło czas (–54%), odległość lotu (–56%) i jego średnią prędkość (–7%) [11].

Wpływ insektycydów na uczenie się i zapamiętywanie przedstawiono w tabeli 2. Pszczoły miodne po 30 minutach od skarmienia syropem z dodatkiem imidakloprydu cechowały się obniżeniem zdolności uczenia się, co badano za pomocą PER [23]. Acetamipryd miał działanie pobudzające, które objawiało się jako wzrost reakcji na sacharozę, a także wywoływało upośledzenie pamięci po spożyciu [5]. Chroniczny kontakt z tiametoksamem spowodował u pszczół obniżenie zdolności zapamiętywania na 24 godziny [6].

TABELA 1

Wpływ pestycydów na aktywność ruchową pszczoły miodnej

Nazwa pestycydu / zezwolenie na obrót w Polsce jako substancja aktywna w środkach ochrony roślin (aktualna liczba środków ochrony roślin z daną substancją aktywną) [36]	Dawka	Sposób podania	Czas trwania ekspozycji (1 x = jednorazowa)	Wpływ na aktywność ruchową	Źródło	
1	2	3	4	5	6	
imidaklopryd / tak (8)	1,25 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	pobudzenie	[2]	
	2,5–20 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	spadek aktywności		
	0,00005 mg/kg	w agarze (jako pokarm)	1 x	brak skutków	[8]	
	0,0005 mg/kg	w agarze (jako pokarm)	1 x	brak skutków	[8]	
	0,005 mg/kg	w agarze (jako pokarm)	1 x	brak skutków	[8]	
	0,05 mg/kg	w agarze (jako pokarm)	1 x	skrócenie pokonywanego dystansu	[8]	
	0,5 mg/kg	w agarze (jako pokarm)	1 x	skrócenie pokonywanego dystansu	[8]	
Neonikotynoid	0,1 ng/pszczołę	aplikacja na tułów / w syropie cukrowym	1 x	brak skutków	[5]	
	0,5 ng/pszczołę	aplikacja na tułów / w syropie cukrowym	1 x	brak skutków		
	1 ng/pszczołę	aplikacja na tułów / w syropie cukrowym	1 x	brak skutków		
	tiametoksam / nie	1,34 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	pobudzenie, pogorszenie zdolności wzlatywania	[21]
	1,34 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	pobudzenie, wydłużenie czasu lotu	[11]	
	1,42–3,48 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	2 dni	pogorszenie zdolności wzlatywania		
	400 mg/kg	w syropie cukrowym	7 dni	pobudzenie	[22]	

cd. tab. 1

	1	2	3	4	5	6
		0,1 µg/pszczołę	aplikacja na tułów / w syropie cukrowym	1 x	pobudzenie	[5]
	acetamidryd / tak (34)	0,5 µg/pszczołę	aplikacja na tułów / w syropie cukrowym	1 x	brak skutków	[6]
		1 µg/pszczołę	aplikacja na tułów / w syropie cukrowym	1 x	brak skutków	
Pyreteroid	cypermetryna / tak (20)	2,5 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	spadek aktywności	
	tetrametryna / nie	70 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	spadek aktywności	[20]
	tau-fluwalinat / tak (3)	33 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	spadek aktywności	
Inne	fipronil / nie	0,01 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	spadek aktywności	[6]

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [2, 5, 6, 8, 11, 20, 21, 22, 36].

TABELA 2

Wpływ pestycydów na zdolność uczenia się oraz wrażliwość na stężenie sacharozy u pszczoły miodnej

	Nazwa pestycydu / zezwolenie na obrót w Polsce jako substancja aktywna w środkach ochrony roślin (aktualna liczba środków ochrony roślin z daną substancją aktywną) [36]	Dawka / stężenie	Sposób podania	Czas trwania ekspozycji (1 x = jednorazowa)	Wpływ na zdolność uczenia się / wrażliwość na stężenie sacharozy	Źródło
	imidaklopryd / tak (8)	0,12 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	spadek zdolności zapamiętywania	[23]
		1,2 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	spadek zdolności zapamiętywania	
Neonikotynoid	acetamidryd / tak (34)	100 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	wzrost wrażliwości na niskie stężenia sacharozy	[5]
		1000 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	spadek zdolności zapamiętywania	
		100 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	występowanie odruchu PER po kontakcie czułka z wodą	[6]
		0,1 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	12 dni	spadek zdolności zapamiętywania	
	tiametoksam / nie	1 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	12 dni	spadek zdolności zapamiętywania	[6]
		1 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	12 dni	spadek wrażliwości na niskie stężenia sacharozy	

cd. tab. 2

	Nazwa pestycydu / zezwolenie na obrót w Polsce jako substancja aktywna w środkach ochrony roślin (aktualna liczba środków ochrony roślin z daną substancją aktywną) [36]	Dawka / stężenie	Sposób podania	Czas trwania ekspozycji (1 × = jednorazowa)	Wpływ na zdolność uczenia się / wrażliwość na stężenie sacharozy	Źródło
Pyretroid	fluwalinat / nie	10 mg/szalkę	ekspozycja na opary pestycydu	24 h	spadek zdolności zapamiętywania	[28]
	permetryna / nie	0,06 mg/szalkę	ekspozycja na opary pestycydu	24 h	spadek zdolności zapamiętywania	
	fenwalerat / nie	1 mg/szalkę	ekspozycja na opary pestycydu	24 h	spadek zdolności zapamiętywania	
	cypermetryna / tak (20)	0,1 mg/szalkę	ekspozycja na opary pestycydu	24 h	spadek zdolności zapamiętywania	
	flucytrynian / nie	1 mg/szalkę	ekspozycja na opary pestycydu	24 h	spadek zdolności zapamiętywania	
	cyflutryna / nie	0,1 mg/szalkę	ekspozycja na opary pestycydu	24 h	spadek zdolności zapamiętywania	
Inne	lambda-cyhalotryna / tak (25)	0,7459 mg/kg	w syropie cukrowym	3 dni	spadek zdolności zapamiętywania	[1]
		1,4919 mg/kg	w syropie cukrowym	3 dni	spadek zdolności zapamiętywania	
		2,9839 mg/kg	w syropie cukrowym	3 dni	spadek zdolności zapamiętywania	
Inne	fipronil / nie	0,01 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 ×	spadek zdolności zapamiętywania	[6]
	glifosat / tak (94)	2,5 mg/kg	w syropie cukrowym	15 dni	spadek wrażliwości na niskie stężenia sacharozy, spadek zdolności zapamiętywania	[33]
0,5 mg/kg		w syropie cukrowym	15 dni	spadek wrażliwości na niskie stężenia sacharozy, spadek zdolności zapamiętywania		

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [1, 5, 6, 23, 28, 33, 36].

Neonikotynoidy negatywnie wpływają na orientację pszczoł w terenie (tab. 3), a tym samym na ich zdolność powrotu do własnej rodziny pszczelej [3, 9, 24]. W badaniach Bortolotti i wsp. prawie wszystkie pszczoły miodne z grupy kontrolnej wróciły do rodziny i zaczęły wracać do poidła do 5 godzin po wypuszczeniu, natomiast owady karmione syropem z dodatkiem 100 ppb imidakloprydu ponownie latały do poidła dopiero 24 godziny po wypuszczeniu [3]. Pszczoły miodne karmione 500 ppb i 1000 ppb imidakloprydu znik-

nęły po uwolnieniu, nie zaobserwowano ich w ciągu następnych 24 godzin ani w rodzinie, ani w miejscu karmienia [3]. Dodatek w syropie imidaklopyrydu, chlotianidyny lub tiachlopyrydu zakłócał nawigację pszczół miodnych i wydłużał czas lotu, jednak nie wpłynął na sukces powrotu do rodziny pszczelej [10]. W badaniach Tison i wsp. pszczoły miodne poddane chronicznej ekspozycji na subletalne dawki tiachlopyrydu cechowały się mniejszym sukcesem powrotu do rodziny pszczelej niż grupa kontrolna [24].

TABELA 3

Wpływ pestycydów na orientację w terenie pszczoły miodnej

Nazwa pestycydu / zezwolenie na obrót w Polsce jako substancja aktywna w środkach ochrony roślin (aktualna liczba środków ochrony roślin z daną substancją aktywną) [36]	Dawka	Sposób podania	Czas trwania ekspozycji (1 x = jednorazowa)	Wpływ na orientację w terenie	Źródło
Neonikotynoid	0,1 mg/kg	w syropie cukrowym	1 x	opóźnienie ponownych lotów do pojidła	[3]
	0,5 mg/kg	w syropie cukrowym	1 x	pszczoły nie wróciły do ula	
	1 mg/kg	w syropie cukrowym	1 x	pszczoły nie wróciły do ula	
	7,5 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	wydłużenie czasu lotu	[10]
	11,25 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	wydłużenie czasu lotu	
	2,5 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	wydłużenie czasu lotu	
chlotianidyna / tak (1)	2,5 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	wydłużenie czasu lotu	
tiachlopyryd / tak (17)	1250 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	wydłużenie czasu lotu	[24]
	4,5 mg/kg	w syropie cukrowym	29 dni	mniej pszczół wracało do ula	
	deltametryna / tak (33)	2,5 ng/pszczołę	oprysk	1 x	
Pyreteroid	1,28 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	brak skutków	[30]
	6,39 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	mniej lotów do miejsca karmienia	
	12,79 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	brak skutków	
	2,6 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	brak skutków	
	12,98 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	mniej lotów do miejsca karmienia	
esfenwalerat / tak (2)	25,96 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	mniej wylotów do miejsca karmienia	

Nazwa pestycydu / zezwolenie na obrót w Polsce jako substancja aktywna w środkach ochrony roślin (aktualna liczba środków ochrony roślin z daną substancją aktywną) [36]		Dawka	Sposób podania	Czas trwania ekspozycji (1 x = jednorazowa)	Wpływ na orientację w terenie	Źródło
Pyretroid	permetryna / nie	5,23 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	brak skutków	
		26,15 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	brak skutków	
		52,29 ng/pszczołę	aplikacja na tułów	1 x	mniej lotów do miejsca karmienia	
	fipronil / nie	0,001 mg/kg	w syropie cukrowym	1 x	spadek orientacji w labiryncie	[34]
Inne	glifosat / tak (94)	125 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	pokonywanie dłuższej trasy do ula	
		250 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	pokonywanie dłuższej trasy do ula	[32]
		500 ng/pszczołę	w syropie cukrowym	1 x	znaczne wydłużenie czasu lotu, pokonywanie dłuższej trasy do ula	

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [3, 10, 24, 30, 31, 32, 34, 36].

Wpływ pyretroidów na behavior pszczoły miodnej

Pyretroidy są pochodnymi kwasu pyretrynowego, zbliżonego do naturalnie występujących pyretryn produkowanych przez kwiaty złocieni (*Chrysanthemum* L.) i wrotyczy (*Tanacetum* L.) [25]. Do produkcji pyretryny wykorzystuje się suszone kwiaty złocienia dalmatyńskiego (*T. cinerariifolium*) [26]. Pyretroidy, które są środkami trwalszymi od naturalnie występującej pyretryny, powodują u owadów i roztoczy pobudzenie, wyczerpanie, a następnie paraliż i śmierć [27]. Istnieje ryzyko, że ta grupa insektycydów w dawkach subletalnych może oddziaływać na pszczoły podobnie jak neonikotynoidy [20, 28–30].

Wpływ tych substancji na aktywność ruchową przedstawiono w tabeli 1. W dawkach subletalnych, niepowodujących śmierci owadów w ciągu 48 h (SLD₄₈), cypermetryna, tetrametryna oraz tau-fluwalinat przyczyniły się do obniżenia aktywności ruchowej pszczół miodnych, które pokonywały krótszy dystans w porównaniu z pszczołami z grupy kontrolnej. Pestycydy aplikowane były na tułów owadów [20].

Wpływ pyretroidów na uczenie się i zapamiętywanie przedstawiono w tabeli 2. W badaniach Taylor i wsp. z 1987 roku pszczoły miodne były poddane

ekspozycji na opary fluwalinatu, permetryny, fenwaleratu oraz cypermetryny. Następnie badano wpływ wymienionych pyretroidów na zdolność zapamiętywania zapachów i odruchu PER, który został uwarunkowany przez powiązanie prezentowanego pszczołom zapachu z nagrodą w postaci syropu cukrowego. Po czterech próbach 90% pszczół z grupy kontrolnej reagowało na zapach wysunięciem języczka. Fluwalinat spowodował, że 62% badanych pszczół po 4 próbach reagowało wysunięciem języczka, natomiast ekspozycja na permetrynę, fenwalerat i cypermetrynę wywołała reakcję na zapach u kolejno 60%, 56% i 58% pszczół [28]. Lambda-cyhalotryna podawana w syropie cukrowym przez 3 dni doprowadziła do obniżenia zdolności zapamiętywania, która była badana za pomocą odruchu PER po 4 dniach od zakończenia podawania pestycydu. 40% pszczół narażonych na lambda-cyhalotrynę w stężeniu wynoszącym połowę dawki śmiertelnej nie reagowało na zapach, natomiast w grupie pszczół otrzymujących jedną czwartą dawki śmiertelnej na zapach nie reagowało 20% osobników. W grupie kontrolnej 10% pszczół nie wysuwało języczka po prezentacji zapachu [1].

Wpływ pestycydów z grupy pyretroidów na orientację w terenie przedstawiono w tabeli 3. Ekspozycja na subletalne dawki deltametryny spowodowała, że ponad 80% pszczół robotnic potrzebowała trzykrotnie więcej czasu na powrót do ula niż grupa kontrolna [31]. Pszczoły po ekspozycji na lambda-cyhalotrynę, esfenwalerat i permetrynę odbyły o 30–71% lotów mniej niż grupa kontrolna. Robotnice narażone na subletalną dawkę permetryny spędzały ponad 5 razy więcej czasu w miejscu karmienia niż pszczoły z grupy kontrolnej [30]. Lambda-cyhalotryna w stężeniu wynoszącym połowę dawki śmiertelnej spowodowała, że 40% pszczół nie wróciło do ula z odległości 1 km, natomiast 60% badanych osobników nie wróciło z odległości 2 km. W grupie kontrolnej w tym eksperymencie do ula powróciło 90% owadów z odległości 1 km i 80% z odległości 2 km [1].

Wpływ innych pestycydów na behavior pszczoły miodnej

Glifosat, powszechnie stosowany na uprawach herbicyd, wpłynął negatywnie na orientację pszczół w terenie. Pszczoły, którym podawano glifosat, potrzebowały więcej czasu na powrót do ula i pokonywały dłuższy dystans niż pszczoły z grupy kontrolnej [32]. Glifosat zmniejszył też ich wrażliwość na cukier i upośledził zdolność uczenia się (w porównaniu z grupą kontrolną o ok. 25%) [33] (tab. 2 i 3). Fipronil, insektycyd stosowany m.in. jako środek zwalczający pchły i kleszcze zwierząt domowych, podawany drogą pokarmową spowodował obniżenie reakcji na prezentowane stężenia syropu cukrowego nawet o ok. 60%

w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast pszczoły, którym aplikowano pestycyd na tułów, nie wykazywały różnic w tym względzie w porównaniu z grupą kontrolną [6]. Fipronil wpłynął na orientację pszczół w labiryncie w badaniach Decurtye'a i wsp. [34]. Po ekspozycji na fipronil 34% pszczół nie opuściło labiryntu, natomiast w grupie kontrolnej tylko 4% pszczół nie odnalazło drogi wyjścia [34] (tab. 1 i 3).

Podsumowanie


Z punktu widzenia pszczelarzy praktyków badania nad wpływem pestycydów na zachowanie się pszczół są ważne, gdyż ułatwiają rozpoznanie osobników, które miały kontakt z pestycydami, a dzięki temu ewentualne zabranie rodzin pszczelich z plantacji roślin miododajnych, na których zastosowano pestycydy. Działania te pozwolą zapobiec wytruciu pszczół. Dlatego wydaje się konieczne przeprowadzenie większej liczby badań nad wpływem długotrwałej ekspozycji pszczół miodnych na pestycydy.

Wykaz cytowanej literatury

1. Liao C, He X, Wang Z, Barron A, Zhang B, Zheng Z, Wu X. Short-term exposure to Lambda-cyhalothrin negatively affects the survival and memory-related characteristics of worker bees *Apis mellifera*. Arch Environ Contam Toxicol. 2018; 75: 59–65.
2. Lambin M, Armengaud C, Raymond S et al. Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the Honeybee. Arch Insect Biochem Physiol. 2001; 4: 129–134.
3. Bortolotti L, Montanari R, Marcelino J, Medrzycki P, Maini S, Porrini C. Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. Bull Insectology 2003; 56(1): 63–67.
4. Giurfa M, Malun D. Associative mechanosensory conditioning of the proboscis extension reflex in Honeybees. Learn Mem. 2004; 11: 294–302.
5. El Hassani AK, Dacher M, Gary V, Lambin M, Gauthier M, Armengaud C. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). Arch Environ Contam Toxicol. 2008; 54: 653–661.
6. Aliouane Y, El Hassani AK, Gary V, Lambin M, Armengaud C, Gauthier M. Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behaviour. Environ Toxicol Chem. 2009; 28(1): 113–122.

7. Riveros AJ, Gronenberg W. Olfactory learning and memory in the bumblebee *Bombus occidentalis*. *Naturwissenschaften* 2009; 96: 851–856.
8. Teteers B, Johnson MR, Ellis MD, Siegfried BD. Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera*). *Environ Toxicol Chem*. 2012; 31(6): 1349–1354.
9. Matsumoto T. Reduction in homing flights in the honey bee *Apis mellifera* after a sublethal dose of neonicotinoid insecticides. *Bull Insectology* 2013; 66(1): 1–9.
10. Fischer J, Muller T, Spatz AK, Greggers U, Grunewald B, Menzel R. Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees. *PLOS ONE* 9, 2014; 9(3): e91364.
11. Tosi S, Burgio G, Nieh JC. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. *Sci Rep*. 2017; 7: 1201.
12. Takeda K. Classical conditioned response in the honey bee. *J Insect Physiol*. 1961; 6: 168–179.
13. Lozano VC, Armengaud C, Gauthier M. Memory impairment induced by cholinergic antagonists injected into the mushroom bodies of the honeybee. *J Comp Physiol*. 2001; 187: 249–254.
14. Schneider R, Abramson C, Brodshneider R, Crailsheim, Farina W, Fuchs S, Gruenewald B, Hahshold S, Karrer M, Koeniger G, Menzel R, Mujagic S, Radspieler G, Schmickl T, Schneider C, Siegel A, Szopek M, Thenius R. Standards methods for behavioral studies of *Apis mellifera*. *JAR* 2013; 52 (4): 10–24.
15. Zeil J. Visual Homing: An Insect Perspective. *Current Opinion in Neurobiol*. 2012; 22(2): 285–293.
16. Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 2005; 45: 247–268.
17. Decourtye A, Devillers J. Ecotoxicity of Neonicotinoid Insecticides to Bees. [W]: Thany S.H. *Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York: Springer; 2010.
18. Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delegue MH. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2004; 57: 410–419.
19. Henry M, Beguin M, Requier F, Rollin O, Odoux J, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S, Decourtye A. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 2012; 336: 348–350.
20. Charreton M, Decourtye A, Henry M, Rodet G, Sandoz JC, Charnet P, Collet C. A locomotor deficit induced by sublethal doses of pyrethroid and neonicotinoid insecticides in the honeybee *Apis mellifera*. *PLOS ONE* 2015; 10(12).
21. Tosi S, Nieh JC. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, alters honey bee activity, motor functions, and movement to light. *Sci Rep*. 2017; 7: 15132.
22. Migdał P, Roman A, Popiela-Pleban E, Kowalska-Górska M, Opaliński S. The impact of selected pesticides on honey bees. *Pol J Environ Stud*. 2018; 27(2): 787–792.
23. Decourtye A, Armengaud C, Renou M, Devillers J, Cluzeau S, Gauthier M, Pham-Delegue M. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pest Biochem Physiol*. 2004; 78(2): 83–92.

24. Tison L, Hahn ML, Holtz S, Roßner A, Greggers U, Bischoff G, Menzel R. Honey bees' behavior is impaired by chronic exposure to the neonicotinoid thiacloprid in the field. *Environ Sci Technol.* 2016; 50(13): 7218–7227.
25. Casida JE, Quistad GB. International Symposium on “Pyrethrum Flowers: Production, Chemistry, Toxicology and Uses”. New York: Oxford University Press; 1995.
26. Grdisa M, Carovic-Stanko K, Kolak I, Satovic Z. Morphological and biochemical diversity of Dalmatian pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium*) (Trevir). *Sch. Bip.* 2009; 74(2): 73–80.
27. Naumann K. Formation of the Pyrethroid-Ester-Linkage. [W]: Haug G, Hoffmann H. Synthetic Pyrethroid Insecticides: Chemistry and Patents. Chemistry of Plant Protection. Berlin, Heidelberg: Springer; 1990.
28. Taylor KS, Waller GD, Crowder LA. Impairment of a classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. *Apidologie* 1987; 18(3): 243–252.
29. Zhou T, Zhou W, Wang Q, Dai P-L, Liu F, Zhang Y-L et al. Effects of pyrethroids on neuronal excitability of adult honeybees *Apis mellifera*. *Pest Biochem Physiol.* 2011; 100(1): 35–40.
30. Ingram EM, Augustin J, Ellis MD, Siegfried Blair D. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. *Chemosphere* 2015; 135: 272–277.
31. van Damme R, Meled M, Collin ME, Belzunces LP. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. Exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environ Toxicol Chem.* 1995; 14(5): 855–860.
32. Balbuena MS, Tison L, Hahn ML, Greggers U, Menzel R, Farina WM. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *J Experim Biol.* 2015; 218(17): 2799–2805.
33. Herbert LT, Vazquez DE, Arenas A, Farina WM. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *J Experim Biol.* 2014; 217(19): 3457–3464.
34. Decourtye A, Lefort S, Devillers J, Gauthier M, Aupinel P, Tisseur M. Sublethal effects of fipronil on the ability of honeybees (*Apis mellifera* L.) to orientate in a complex maze. Hazards of pesticides to bees – 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group. 2010.
35. Farina WM, Balbuena MS, Herbert LT, Gonalos CM, Vazquez DE. Effects of the herbicide glyphosate on Honey bee sensory and cognitive abilities: Individual impairments with implications for the hive. *Insects* 2019; 10(10): 354.
36. Rejestr środków ochrony roślin dopuszczonych do obrotu zezwoleniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, zaktualizowany 4.05.2020; URL: <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/rejestr-rodkow-ochrony-roslin>.



Wpływ pola elektromagnetycznego na pszczołę miodną (*Apis mellifera* L.)

Effect of the electromagnetic field on the honey bee (*Apis mellifera* L.)

PAWEŁ MIGDAŁ^{1*}  <https://orcid.org/0000-0002-2615-9760>
Agnieszka Murawska¹  <https://orcid.org/0000-0002-8691-2953>
ANNA SZADY²  <https://orcid.org/0000-0003-3969-8090>
ADAM ROMAN¹  <https://orcid.org/0000-0003-0966-5992>

¹ Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław

² Laboratorium Bioobrazowania, Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT –
Polski Ośrodek Rozwoju Technologii
ul. Stabłowicka 147, 54-066 Wrocław

* Autor do korespondencji: pawel.migdal@upwr.edu.pl

STRESZCZENIE | Korzyści wynikające z powszechnego wykorzystywania pola elektromagnetycznego (PEM) możemy obserwować praktycznie wszędzie. Naturalne pole magnetyczne Ziemi odgrywa ważną rolę w nawigowaniu u niektórych zwierząt. Z kolei sztuczne promieniowanie elektromagnetyczne nie pozostaje obojętne wobec organizmów żywych i powoduje w nich szereg zmian behawioralnych, a także fizjologicznych. Stwierdzono, że PEM zarówno o ekstremalnie niskich częstotliwościach, jak i PEM o częstotliwościach radiowych oddziałuje niekorzystnie na rodzinę pszczelą. Osobniki poddane wpływowi promieniowania pola elektromagnetycznego charakteryzowały się mniejszą aktywnością motoryczną bądź spadkiem kondycji rodzin. Zaprezentowane wyniki badań uzyskane przez różnych naukowców wskazują na powiązanie zmian w funkcjonowaniu pszczoły miodnej ze zmieniającym się jej narażeniem na pole elektromagnetyczne.

SŁOWA KLUCZOWE | pszczoła miodna, pole elektromagnetyczne, ekstremalnie niskie częstotliwości, promieniowanie radiowe

ABSTRACT | The benefits of the widespread use of the electromagnetic field (EM field) can be observed almost everywhere. The Earth's natural magnetic field plays an important role in navigating some animals. In turn, artificial electromagnetic radiation is not indifferent to living organisms and causes a number of behavioral and physiological changes. The aim of the study was to review literature reports determining the effects of honey bee exposure to electromagnetic fields. It was found that EM field with extremely low frequencies as well as EM field with radio frequencies adversely affects the bee colony. The presented research results obtained by various

scientists indicate a link between changes in the functioning of the honeybee and changing exposure to the electromagnetic field.

KEYWORDS | honey bee, electromagnetic field, extremely low frequencies, radio radiation

Pole elektromagnetyczne (PEM) jest jednym z czterech podstawowych oddziaływań występujących w przyrodzie. Zjawisko to zachodzi między cząsteczkami obdarzonymi ładunkiem elektrycznym. PEM powstaje w wyniku połączenia pola elektrycznego i magnetycznego [1, 2]. Wszystkie organizmy żywe narażone są na jego oddziaływanie. Wytwarzane jest zarówno przez źródła naturalne, jak i w wyniku działalności człowieka. Źródłem środowiskowego pola elektromagnetycznego jest m.in. Słońce, które generuje fale elektromagnetyczne o szerokim zakresie [1]. Szybki rozwój technologii spowodował, że zwiększył się udział pola elektromagnetycznego pochodzącego ze sztucznych źródeł. Taki rodzaj fal transmitowany jest np. przez linie wysokiego napięcia, promieniowanie antenowe, bezprzewodowy transfer mocy [3, 4]. Ciekawość naukowców wzbudza zarówno pole elektromagnetyczne o niskich częstotliwościach pochodzące z sieci wysokich napięć, jak i promieniowanie o bardzo dużej częstotliwości, wytwarzane przez fale radiowe [5, 6]. Skutki oddziaływania pola elektromagnetycznego podzielić można na termiczne i nietermiczne. Do tych pierwszych należy podwyższenie temperatury komórki, co naraża ją na nieodwracalne zmiany [7]. Badania przeprowadzone na zwierzętach, a dotyczące wpływu PEM na zwiększenie temperatury komórki wykazały, że zachodzi w niej szereg przemian finalnie prowadzących do zmian w jej funkcjonowaniu. Jednak dużo groźniejsze w skutkach są efekty nietermiczne. Z badań wynika, że pole elektromagnetyczne o częstotliwości 50 Hz może zwiększać prawdopodobieństwo wystąpienia wielu chorób, w tym nowotworowych [2, 6].

Pole elektromagnetyczne oddziałuje zarówno na zwierzęta kręgowo, jak i bezkręgowo. Pszczoły miodne, jako organizmy bezkręgowo, w 2019 roku podczas spotkania naukowców z Royal Geographical Society of London z Earthwatch Institute zostały uznane za najważniejsze organizmy na ziemi. A ich ochronę uznano za kluczową dla zachowania rozwoju cywilizacji. Konstatacja ta zyskuje jeszcze na znaczeniu, jeśli weźmie się pod uwagę fakt, że pszczoła miodna (*Apis mellifera* L.) odgrywa istotną rolę gospodarczą. Jedną z najważniejszych funkcji tego gatunku jest zapylenie upraw rolniczych, dzięki czemu pszczoły stanowią jedno z kluczowych ogniw w łańcuchu produkcji żywności. Dodatkowo dzięki zdolności zapylenia przyczyniają się także do rozmnażania roślin i utrzymania bioróżnorodności [8]. Spadek liczebności tego gatunku spowodowany jest wieloma czynnikami, do których zalicza się m.in. jednostki chorobowe, takie jak warroza wywoływana przez inwazję *Varroa*

destructor, choroby wirusowe czy bakteryjne. Elementami pogarszającymi kondycję organizmu pszczoły miodnej jest też nieodpowiednia praktyka rolnicza czy uprawy rolnicze w monokulturach. Wiele różnych czynników, jak: stosowanie na masową skalę pestycydów nowej generacji i nawozów sztucznych, niewłaściwa higiena w ulach, depopulacja rodzin pszczelich, może powodować zjawisko CCD (ang. *Colony Collapse Disorder*) polegające na masowym ginięciu pszczół i zapaści rodzin pszczelich [9]. Jednoznaczna przyczyna występowania CCD nie jest znana. Badania z ostatnich lat wśród czynników zagrażających populacji pszczół wymieniają PEM [10].

Pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskich częstotliwościach (PEM ENC)

Pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości jest wytwarzane m.in. przez sieci elektryczne, oświetlenie czy zwykłe urządzenia elektryczne [11]. Na poziomie gruntu ryzyko związane z polami elektromagnetycznymi o wyjątkowo niskiej częstotliwości (ELF) jest szczególnie słabo poznane, a jego natężenie pod liniami elektroenergetycznymi osiąga ok. 100 μT . Latające owady mogą zbliżyć się do linii wysokiego napięcia, przez co narażone są na oddziaływanie PEM ENC o znacznie wyższych natężeniach – na poziomie 1000 μT [12, 13, 14]. Niektóre badania naukowe wskazują, że oddziaływanie PEM o ekstremalnie niskiej częstotliwości może być dla pszczół czynnikiem stresogennym [13]. Umieszczenie rodzin pszczelich w sąsiedztwie linii przesyłowych może spowodować zmiany w funkcjonowaniu rodzin pszczelich [11]. W badaniach Greenberga i wsp. [15] udowodniono, że pszczoły rozwijające się w rodzinach pszczelich narażonych na oddziaływanie linii energetycznych wykazywały zmniejszoną aktywność motoryczną, spadek produkcji rodzin pszczelich oraz nieprawidłowy przebieg propolisowania powierzchni ścian uli [15]. W innych badaniach tych autorów analizowano skutki oddziaływania na pszczoły pola elektromagnetycznego o częstotliwości 60 Hz. Zbadano mechanizmy zaburzeń w rodzinach pszczół miodnych żyjących pod linią przesyłową 765 kV. Pierwszą kategorię zaburzeń obserwowaną w rodzinie była reakcja pszczół na zwiększony poziom wartości pola elektromagnetycznego wewnątrz ula względem wartości naturalnych. Druga grupa zaburzeń związana była z szokiem wywołanym przez prądy indukowane. W doświadczeniu wykorzystano schemat narażenia tunelowego (zarówno rodziny doświadczalne, jak i kontrolne znajdowały się w tunelu). W tunelu wytwarzano specyficzne warunki doświadczalne, tak aby możliwa była ocena wpływu intensywnego PEM na dysfunkcję rodziny pszczelej (zaburzenie rozwoju, śmiertelność pojedynczych osobników czy zaniepokojenie

rodziny pszczelej). Grupę doświadczalną stanowiły pszczoły eksponowane na pole elektromagnetyczne o częstotliwości 60 Hz w tunelu przewodzącym, w warunkach podwyższonej wilgotności. Stwierdzono wzrost śmiertelności i spadek tempa rozwoju doświadczalnych rodzin pszczelich w porównaniu z grupą kontrolną. Grupę kontrolną umieszczono w tunelu bez oddziaływania sztucznego pola elektromagnetycznego [16].

Rogers i wsp. [17] w swych badaniach potwierdzili te ustalenia. Zauważono, iż narażenie pszczół na oddziaływanie PEM o ekstremalnie niskiej częstotliwości skutkuje wzrostem agresji u osobników oraz zwiększoną ich śmiertelnością [17]. Dodatkowo Shepherd i wsp. [13] wykazali wpływ PEM o ekstremalnie niskich częstotliwościach na zdolność uczenia się rozpoznawania zapachów pszczół. Ekspozycja na PEM ENC powoduje ograniczenie badanych zdolności. Stwierdzono, że zmiana polegająca na wzroście liczby uderzeń skrzydeł podczas lotu w kontrolowanych warunkach spowodowana jest oddziaływaniem wysokiego natężenia pola elektromagnetycznego o ekstremalnie niskiej częstotliwości, występującego w bezpośrednim sąsiedztwie linii przesyłowych. Na poziomie gruntu, poniżej linii energetycznych, PEM charakteryzuje się mniejszymi wartościami natężenia. Zostało potwierdzone, że ekspozycja pszczół na PEM o takich właściwościach prowadzi do spadku liczby lotów do źródła pożywienia, co skutkuje zmniejszeniem stopnia zaspokojenia pokarmowego rodziny pszczelej [18]. Shepherd i wsp. [13] w swoich kolejnych badaniach skupiających się na wpływie PEM ENC na wzrastającą agresję u pszczół i redukcję ich zdolności zapamiętywania sugerują, że narażenie na badany czynnik prowadzi do zmniejszenia wydajności uczenia się pszczół oraz powoduje długotrwale utrzymującą się agresję. Ponadto udowodniono, że pszczoły poddane działaniu ELF 100 μ T charakteryzowały się wyższym poziomem agresji niż pszczoły z grupy kontrolnej, szczególnie dotyczyło to zmiany zachowania w stosunku do pszczół wprowadzonych w ich środowisko [13].

W pracy Lupi i wsp. [19] podjęto próbę określenia wpływu PEM na biomarkery: acetylocholinoesterazy (AChE, EC 3.1.1.7), katalazy (CAT, EC 1.1.1.6), S-tranferazy glutationowe (GST, EC 2.5.1.18) i fosfatazy alkaliczne (ALP, EC 3.1.3.1). Rodziny pszczele poddawane działaniu badanego czynnika umieszczono pod liniami wysokiego napięcia. Zaobserwowano, że stres wywołany polem elektromagnetycznym spowodował nadmierną aktywację wszystkich biomarkerów poddawanych analizie w końcowym okresie sezonu, co potencjalnie mogłoby skutkować trudnościami z zimowłą pszczół (np. problem z zawiązaniem kłębu zimowego) [19]. Badania Wyszowskiej i wsp. [12] zostały przeprowadzone w celu określenia skutków ekspozycji robotnic pszczół miodnych na PEM o niskiej częstotliwości. Zwrócono w nich szczególną uwagę na takie wyróżniki, jak: przeżywalność, ruchliwość oraz aktywność organizmów. W przeciwieństwie do innych doniesień w literaturze, nie został stwierdzony wpływ badanego czynnika na zachowanie pszczół. Autorzy eksperymentu sugerują

jednak, że konieczna jest powtórna ocena warunków i metod przeprowadzonego doświadczenia [20].

Pole elektromagnetyczne o częstotliwościach radiowych (PEM RF)

Pole elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej oscylującej między 100 MHz a 6 GHz wykorzystywane jest głównie do komunikacji bezprzewodowej. Można zauważyć nieustanny wzrost wykorzystania PEM RF o takich właściwościach w telefonii komórkowej (np. GSM) oraz bezprzewodowych sieciach komputerowych (np. Wi-Fi). Wiele urządzeń osobistych działa, wykorzystując te częstotliwości i natężenia. Wszystkie żywe organizmy, a zwłaszcza owady, narażone są na jego oddziaływanie i częściowe wchłanianie, którego stopień zależy głównie od częstotliwości PEM RF [21, 22]. Istnieje wiele doniesień naukowców obrazujących wpływ PEM RF o częstotliwości radiowej na pszczołę miodną, różniących się od siebie parametrami badanego czynnika. Wszystkie z nich wykazują negatywny wpływ sztucznego pola elektromagnetycznego na zachowanie pszczół. W pracy Kimmel i wsp. [24] badano takie parametry, jak zachowanie pszczół w rodzinie pszczelej, wahania wagi ula, a szczególnej analizie poddawano proces powrotu pszczół do ula. Rodziny pszczele eksponowane były na działanie PEM RF o częstotliwości 1800 MHz oraz 1900 MHz. Zaobserwowano, że wszystkie brane pod uwagę wyróżniki uległy zmianie. Stwierdzono zmniejszenie liczebności rodzin pszczelich oraz nieprawidłowości w zachowaniu pszczół. Wykazano, że czas powrotu pszczół narażonych na działanie PEM RF w porównaniu z grupą kontrolną znacznie się wydłużył. Zwrócono również uwagę na zmiany w trajektorii lotu [23, 24]. Sharma i Kumar [25] przeanalizowali skutki, jakie powstają po narażeniu pszczół miodnych na działanie PEM RF w odniesieniu do wydajności reprodukcji matek pszczelich oraz wydajności produkcyjnej rodzin pszczelich. W obu przypadkach zanotowano spadek poziomu badanych wskaźników. Pszczoły robotnice cechowały się zmniejszoną produktywnością w porównaniu z kontrolą [25]. Do podobnych wniosków w swoich badaniach doszli Odemer i Odemer [26]. W doświadczeniu dokonano oceny wygryzania się matek pszczelich z mateczników po 14 dniach ekspozycji oraz sukcesu odbycia lotu godowego po kolejnych 11 dniach trwania doświadczenia. Stwierdzono, że promieniowanie telefonu komórkowego spowodowało spadek wydajności wychowu matek pszczelich, jednak nie oddziaływało negatywnie na odbywanie lotów godowych przez matki pszczele. Zauważono, że jeśli nastąpiło prawidłowe unasiennienie matek pszczelich, to rodziny pszczele rozwijały się prawidłowo. Autorzy doszli do wniosku, że promieniowanie pochodzące z telefonu komórko-

wego może oddziaływać na rozwój poczwerek, jednak zaburzenia te nie wpływają na funkcjonowanie pszczół w późniejszych etapach rozwoju [26]. W badaniach Kumar i wsp. [27] również został przeanalizowany wpływ oddziaływania promieniowania telefonu komórkowego. Eksperyment obejmował dorosłe osobniki *Apis mellifera* L. narażone na działanie PEM RF o częstotliwości 900 MHz. Oceniano zmiany zachodzące w strukturach biomolekuł oraz w zachowaniu pszczół. Stwierdzono istotny wpływ badanych parametrów na behavior oraz fizjologię pszczół miodnych w porównaniu z grupą kontrolną. Zauważono spadek sprawności motorycznej pszczół robotnic oraz wzmożoną wędrówkę w kierunku źródła emisji PEM RF. W początkowej fazie doświadczenia stwierdzono wzrost poziomu biomolekuł (białek, węglowodanów i lipidów). Autorzy zasugerowali, że zjawisko to może być spowodowane aktywacją mechanizmów obronnych do walki ze stresem wynikającym z oddziaływania promieniowania. Na późniejszym etapie badania odnotowano spadek stężenia parametrów wynikający prawdopodobnie z oddziaływania pola elektromagnetycznego [27]. Favre [28] w doświadczeniu, w którym uwzględnił w grupie doświadczalnej różne stadia rozwojowe pszczół, udowodnił, że obecność aktywnych telefonów komórkowych powodowała zwiększenie intensywności wydawania dźwięków przez pszczoły. Zjawisko było widoczne w okresie 25–40 minut po aktywacji emitera w postaci telefonu komórkowego. Sugeruje to, że pszczoły miodne są czułe na pulsacyjne pole elektromagnetyczne. W badaniu dodatkowo zostały przeanalizowane zmiany dźwięków wytwarzanych przez pszczoły zachodzące pod wpływem badanego czynnika. Wykorzystując audiogramy i spektrogramy, udowodniono negatywny wpływ aktywnych telefonów komórkowych na zachowanie pszczół. Pszczoły wydawały dźwięki zbliżone do tych w trakcie pojawiającego się czynnika/emitera [28].

Stopień absorpcji PEM RF u pszczół miodnych został przeanalizowany w badaniach Thielens i wsp. [22]. Doświadczenie zostało przeprowadzone za pomocą symulacji numerycznej połączonej z badaniem w warunkach *in situ* na różnych stadiach rozwojowych i kastach płciowych pszczoły miodnej: larwie, matce, robotnicach oraz trutniu. Obejmowało zakres częstotliwości od 0,6 GHz do 120 GHz, który może być wykorzystywany do konfiguracji zarówno obecnych, jak i przyszłych częstotliwości telekomunikacyjnych. Pomiary w naturalnym miejscu rozwoju badanego gatunku dokonywane w Belgii obejmowały 5 rodzin pszczelich. Średnia wartość absorpcji promieniowania fal elektromagnetycznych o częstotliwości radiowej wzrastała w przedziale częstotliwości 0,6 MHz–6 GHz. Stosunkowo niewielki spadek wartości badanego parametru zauważono w przedziale częstotliwości 12–120 GHz [22].


Wszystkie przywołane badania i analizy wskazują na związek pomiędzy polem elektromagnetycznym a zmianami w behaviorze i fizjologii pszczoły miodnej *Apis mellifera*. Mimo wzrostu zainteresowania tą tematyką nadal nie ma wystarczającej liczby wyników, aby móc jednoznacznie stwierdzić bez-

pośredni wpływ pola elektromagnetycznego na te owady. Tworzący się smog elektromagnetyczny staje się coraz istotniejszym elementem środowiska życia wielu organizmów. Skutki jego wpływu trudne są do określenia, dlatego też ważne jest dalsze badanie tego zagadnienia.

Wykaz cytowanej literatury

1. Żurek J. Pole elektromagnetyczne a człowiek. O fizyce, biologii, medycynie, normach i sieci 5G. [W]: Pawlak R. Pole elektromagnetyczne, fale elektromagnetyczne. Warszawa: Instytut Łączności Państwowy Instytut Badawczy; 2019, s. 8–13.
2. Lewicka M, Dziedziczak-Buczyńska M, Buczyński A. Wpływ promieniowania elektromagnetycznego na organizmy żywe. *Pol Hyperbar Res.* 2008; 4(25): 33–42.
3. Singh PA, Kaur R. Electromagnetic fields: biological implications on various life forms. *Int J Bioassays.* 2014; 3(4): 2030–2040.
4. Bodewein L, Schmiedchen K, Dechent D, Stunder D, Graefrath D, Winter L, Kraus T, Driessen S. Systematic review on the biological effects of electric, magnetic and electromagnetic fields in the intermediate frequency range (300 Hz to 1 MHz). *Environ Res.* 2019; 171: 247–259.
5. Wiaderkiewicz R. Skutki biologiczne ekspozycji na pola elektromagnetyczne – badania eksperymentalne. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 2008; 4(58): 47–65.
6. Bukowicki R, Sanchez A. Protection against electromagnetic field and radiation at low frequency 50 Hz. International Conference on Electromagnetic Fields Environment. Wrocław, 10–12 September 2007.
7. Staebler P. Human exposure to electromagnetic fields: from extremely low frequency (ELF) to radiofrequency. [W]: Staebler P. Biological Effects of Electromagnetic Fields. Waves Series. London: ISTE Ltd; 2017, s. 125–152.
8. Majewski J. Pszczoły w biogospodarce – znaczenie i wartość ekonomiczna. *Stowarzyszenie Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu Roczniki Naukowe* 2016; 18(4): 172–177.
9. Gliński Z, Kostro K. Zespół masowego ginięcia pszczół nową groźną chorobą pszczoły miodnej. *Życie Wet.* 2007; 82(8): 651–653.
10. Panagopoulos JD, Johansson O, Carlo LG. Real versus simulated mobile phone exposures in experimental studies. *Biomed Res Int.* 2015; 8: 1–8.
11. Adair RK. Constraints on biological effects of weak extremely-low-frequency electromagnetic fields. *Phys Rev A.* 1991; 43(2): 1039–1048.
12. Wyszowska J, Shepherd S, Sharkh S, Jackson CW, Newland PL. Exposure to extremely low frequency electromagnetic fields alters the behaviour, physiology and stress protein levels of desert locusts. *Sci Rep.* 2016; 3: 6.
13. Shepherd S, Hollands G, Godley VC, Sharkh SM, Jackson CW, Newland PL. Increased aggression and reduced aversive learning in honeybees exposed to ex-

- tremely low frequency electromagnetic fields. PLOS ONE 2019; URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223614>.
14. Lee JM. Electrical and biological effects of transmission lines: a review. Portland, OR (USA): U.S. Department of Energy Bonneville Power Administration; 1989, s. 77–81.
 15. Greenberg B, Bindokas VP, Frazier MJ, Gauger JR. Response of honeybees, *Apis mellifera* L., to high-voltage transmission lines. Environ Entomol. 1981; 10(5): 600–610.
 16. Bindokas VP, Gauger JR, Greenberg B. Mechanism of biological effects observed in honeybees (*Apis mellifera*, L.) hive dunder extra-high-voltage transmission lines: implications derived from bee exposure to simulate intense electric fields and shocks. Bioelectromagnetic 1988; 9(3): 285–301.
 17. Rogers LE, Beedlow PA, Carlile DW, Gano KA. Environmental studies of a 1100-kV prototype transmission line: an annual report for the 1983 study period. Technical Report. United States; 1984.
 18. Shepherd S, Lima MAP, Oliveira EE, Sharkh SM, Jackson CW, Newland PL. Extremely low frequency electromagnetic fields impair the cognitive and motor abilities of Honey bees. Sci Rep. 2018; URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26185-y>.
 19. Lupi D, Tremolada P, Colombo M, Giacchini R, Benocci R, Parenti P, Parolini M, Zambon G, Vighi M. Effects of pesticides and electromagnetic fields on honeybees: A field study using biomarkers. Int J Environ Res. 2020; 14: 107–122.
 20. Wyszowska J, Grodzicki P, Szczygieł M. Electromagnetic fields and Colony Collapse Disorder of the Honeybee. Przegląd Elektrotech. 2019; 95(1): 137–140.
 21. Thielens A, Bell D, Mortimore DB, Greco MK, Martens L, Joseph W. Exposure of insects to radio-frequency electromagnetic fields from 2 to 120 GHz. Sci Rep. 2018; 8; URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22271-3>.
 22. Thielens A, Grec MK, Verloock L, Martens L, Joseph W. Radio-frequency electromagnetic field exposure of western Honey bees. Sci Rep. 2020; URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56948-0>.
 23. Harst W, Kuhn J, Stever H. Can electromagnetic exposure cause a change in behavior? Studying possible non thermal influences on honeybees – an approach within the framework of educational informatics. Acta Systematica 2006; 6: 1–6.
 24. Kimmel S, Kuhn J, Harst W, Stever H. Effects of electromagnetic exposition on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). Environ Syst Res. 2007; 8: 1–6.
 25. Sharma VP, Kumar NR. Changes in honeybee behaviour and biology under the influence of cellphone radiations. Curr Sci. 2010; 98: 1376–1378.
 26. Odemer R, Odemer F. Effects of radiofrequency electromagnetic radiation (RF-EMF) on honey bee queen development and mating success. Sci Total Environ. 2019; URL: <https://doi.org/10.1101/434142>.
 27. Kumar NR, Sangwan S, Badotra P. Exposure to cell phone radiations products biochemical changes in worker honeybees. Toxicol Int. 2011; 18(1): 70–72.
 28. Favre D. Mobile phone-induced honeybee worker piping. Apidologie 2011; 42: 270–279.



Wykorzystanie ozdobnych roślin okrywowych do wzbogacania wiosennej bazy pożytkowej pszczół w mieście*

Enrichment of spring floral resources for urban bees by ornamental ground cover plants

MARZENA MASIEROWSKA*  <https://orcid.org/0000-0003-0527-9779>

Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

* Autor do korespondencji: marzena.masierowska@up.lublin.pl

STRESZCZENIE | Rośliny okrywowe to grupa szybko rozrastających się niskich roślin ozdobnych służących do pokrywania większych powierzchni w zieleni miejskiej. Wiele z nich to rośliny nektaro- i pyłkodajne mogące wzbogacić bioróżnorodność i obfitość pastwisk pszczelich w miastach. Celem pracy jest określenie przydatności 14 gatunków bylin i krzewów okrywowych (*Ajuga reptans*, *Anemone nemorosa*, *Berberis thunbergii*, *Bergenia cordifolia*, *B. lingulata*, *Chaenomeles japonica*, *Geranium macrorrhizum*, *G. platypetalum*, *G. sanguineum*, *Heuchera × bryzoides*, *Lamium galeobdolon*, *Nepeta × faassenii*, *Rosa rugosa*, *Viola odorata*) jako źródła pożytku dla pszczół miejskich w okresie zwiększonych wymagań pokarmowych, jakim jest wiosna. Praca prezentuje i zestawia opublikowane dane na temat ich kwitnienia, koncentracji cukrów w nektarze, wydajności cukrowej i pyłkowej oraz intensywności odwiedzin przez pszczoły. Analizowane taksony to głównie rośliny wczesnowiosenne i wiosenne, kwitnące i dostarczające ciągłego pożytku pyłkowego i nektarowego od początku kwietnia do końca czerwca. Są one chętnie odwiedzane przez pszczoły miodne, a *R. rugosa* przez trzmiele. Do szczególnie cennych pszczelarstwo można zaliczyć: *A. reptans*, *Ch. japonica*, *G. macrorrhizum*, *H. × bryzoides* i *N. × faassenii*. Rośliny okrywowe powinny być częściej stosowane w zieleni miejskiej. Mogą one wzbogacić wiosenną bazę pożytkową pszczół i wykazują duży potencjał miododajny, co ma znaczenie dla pszczelarstwa miejskiego.

SŁOWA KLUCZOWE | nektar, pyłek, pszczoły w mieście, byliny i krzewy ozdobne

ABSTRACT | Ground cover refers to all plants that can cover the ground, including herbs, dwarf trees, decumbent shrubs and vines. They are used for covering large areas of land in urban greenery. Some of them are nectariferous and polleniferous plants and they could enhance a biodiversity and abundance of a bee pasture in cities. This paper aims towards the evaluation of 14 ground cover perennials and shrubs as floral resources for urban bees during spring (a period of their high food demand). The following species are presented: *Ajuga reptans*, *Anemone*

* Badania finansowane w ramach działalności statutowej OKB/DS/1 i OKB/DS/8.

nemorosa, *Berberis thunbergii*, *Bergenia cordifolia*, *B. lingulata*, *Chaenomeles japonica*, *Geranium macrorrhizum*, *G. platypetalum*, *G. sanguineum*, *Heuchera × bryzoides*, *Lamium galeobdolon*, *Nepeta × faassenii*, *Rosa rugosa*, *Viola odorata*. The published data concerning their flowering, a nectar sugar concentration (% w/w), sugars amount secreted in nectar · 10 flowers⁻¹, pollen amount · 10 flowers⁻¹, nectar sugar and pollen yield · 100 m⁻², and insect visitation to flowers were reviewed. The survey revealed that these ground covers are early-spring and spring blooming plants and can continuously supply urban bees in nectar and pollen from beginning of April until end of June. Their flowers are eagerly visited mainly by honey bees. Only in *R. rugosa*, the dominant visitors are bumblebees. The most valuable melliferous plants are *A. reptans*, *Ch. japonica*, *G. macrorrhizum*, *H. × bryzoides* and *N. × faassenii*. Finally, a wider use of ornamental ground covers is recommended as they could enrich spring floral resources for urban bees and could have high potential as honey plants for urban beekeeping.

KEYWORDS | nectar, pollen, urban bees, ornamental perennials and shrubs

Wprowadzenie

Pszczoły to główna grupa owadów świadczących usługi zapyłania zarówno w siedliskach naturalnych, jak i na obszarach zurbanizowanych [1]. Dzięki zapyłaniu kwiatów roślin dzikich i uprawnych oraz produkcji miodu dostarczają one żywności człowiekowi i innym zwierzętom. Jednakże właściwe wypełnianie tych funkcji jest uzależnione od przyjaznej pszczołom strategii w zagospodarowywaniu i utrzymaniu obszarów ich występowania oraz żerowania, również na terenach miejskich. W miastach często spotyka się niewykorzystane pobocza dróg i miejsca ruderalne, ale także trawniki czy dachy, które można zmienić w atrakcyjne, bogate w rośliny nektaro- i pyłkodajne pastwisko pszczele [2, 3]. Obsadzając te powierzchnie cennymi pszczelarsko roślinami ozdobnymi, można znacząco wzbogacić bioróżnorodność i obfitość pożytków pszczelich, a jednocześnie poprawić walory estetyczne [4–6].

Jednym z popularnych trendów we współczesnej architekturze krajobrazu jest stosowanie roślin okrywowych do pokrycia większych powierzchni w zieleni miejskiej [7, 8]. Rośliny okrywowe to grupa szybko rozrastających się niskich roślin ozdobnych (rośliny zielne, niskie drzewa, płożące krzewy i pnącza) tworzących zwarte i gęste runo [9]. Ich funkcje są bardzo zróżnicowane [7]. Najczęściej zastępują one trawniki, co zmniejsza powierzchnie wymagające regularnego koszenia. Stanowią też wypełnienie na rabatach bylinowych i krzewiastych. Ponadto zapobiegają erozji na skarpach oraz pomagają zachować wilgotność gleby wokół dużych drzew [10, 11]. Są szczególnie polecane do nasadzeń w tzw. miejscach problematycznych – silnie ocienionych lub silnie nasłonecznionych. W miastach sadi się je najczęściej: na skarpach, w parkach, na skwerach, wokół drzew, w dużych pojemnikach przy ulicach, na dachach – jako podstawowy składnik kompozycji [10, 11]. Rośliny okrywowe redukują też

zanieczyszczenie powietrza, absorbują pyły i zmniejszają hałas [7]. Niektóre z nich rozwijają kwiaty i owoce, atrakcyjne dla zwierząt, dlatego mogą być wykorzystywane do wzbogacania zasobów pokarmowych, także w przypadku pszczół.

Ekosystemy miejskie cechują specyficzne warunki środowiskowe: zwiększony stres wodny, zanieczyszczenie powietrza, gleby, wody, a przede wszystkim podwyższona temperatura (UHI – Urban Heat Island effect) [12]. Zmiany termiczne powodują, że na terenach miejskich pszczoły miodne, matki trzmieli i pszczoły samotnice wcześniej rozpoczynają swoją aktywność [13]. Jednocześnie wiosna to okres wysokich potrzeb żywieniowych tych owadów, które znacznie tracą na wadze na skutek zimowania w podwyższonej temperaturze [14]. Odpowiednia ilość i jakość wczesnowiosennych i wiosennych pożytków pszczelich decyduje o dalszym rozwoju i aktywności pszczół.

Prezentowany materiał roślinny

W artykule dokonano przeglądu piśmiennictwa dotyczącego kwitnienia, wartości pożytkowej (produkcja nektaru i pyłku) oraz odwiedzin przez pszczoły wybranych gatunków bylin i krzewów okrywowych, w tym opublikowanych badań własnych. Większość badań przeprowadzono na terenie Ogrodu Botanicznego UMCS oraz zieleni miejskiej Lublina [5, 15–22], a także Puław i okolic [23].

Do porównania wybrano 11 gatunków i mieszańców bylin: *Ajuga reptans* L. – dąbrówka rozłogowa, *Anemone nemorosa* L. – zawilec gajowy, *Bergenia cordifolia* (Haw.) Sternb. – bergenia sercowata, *Bergenia lingulata* (Wall.) Engl. – bergenia orzęsiona, *Geranium macrorrhizum* L. – bodziszek korzeniasty, *Geranium platypetalum* Fisch. ex CA Mey. – bodziszek wielkopłatkowy, *Geranium sanguineum* L. – bodziszek czerwony, *Heuchera* × *bryzoides* Lem. – żurawka drżączkowa, *Lamium galeobdolon* (L.) Crantz – jasnota gajowiec, *Nepeta* × *faassenii* Bergm. ex Stearn – kocimiętka Faassena, *Viola odorata* L. – fiołek wonny, oraz 3 gatunki krzewów ozdobnych: *Berberis thunbergii* DC – berberys Thunberga, *Chaenomeles japonica* Lindl. – pigwowiec japoński, *Rosa rugosa* L. – róża pomarszczona. Wyboru dokonano na podstawie list roślin polecanych do zakładania i pielęgnacji terenów zieleni [10, 11]. W badaniach własnych i innych autorów wykorzystano porównywalne, powszechnie stosowane metody botaniki pszczelarskiej. Nektarowanie badano metodą pipetową, a wydajność pyłkową – za pomocą metody eterowej i jej modyfikacji. W przypadku *N. × faassenii* oraz *V. odorata* wartość pszczelarską oszacowano też w oparciu o liczbę zbieraczek pszczoły miodnej [24]. Wydajność cukrową i pyłkową 100 m² monokulturowego nasadzenia wyliczono na podstawie danych zamieszczonych w cytowanych pra-

cach. Monitoring oblotu kwiatów przez pszczoły prowadzano przy bezwietrznej i słonecznej pogodzie, powtarzając go kilkakrotnie w okresie pełni kwitnienia gatunku. Na potrzeby artykułu intensywność odwiedzin przez pszczoły – pszczoła miodna (*Apis mellifera* L.), trzmielce (*Bombus* spp.) i inne dzikie pszczoły, przedstawiono szacunkowo w skali od + (kwiaty oblatywane) do +++ (kwiaty bardzo intensywnie oblatywane).

Kwitnienie

Terminy i długość kwitnienia poszczególnych taksonów zestawiono w tabeli 1. Biorąc pod uwagę okresy kwitnienia, większość z nich można zaszeregować do grupy roślin wczesnowiosennych i wiosennych. Do najwcześniej rozkwitających (początek IV) należą: *B. lingulata* [19], *V. odorata* [24] i *L. galeobdolon* [25]. Nieco później, w połowie IV, zakwita *A. nemorosa* [17], *B. cordifolia* [19] i *B. thunbergii* [22], a pod koniec tego miesiąca mogą rozpocząć swe kwitnienie *G. macrorrhizum* [5], *A. reptans* [23] i *Ch. japonica* [18]. Następnie zakwitają *G. sanguineum* [20], *N. × faassenii* [24] i *R. rugosa* [16]. Natomiast *G. platypetalum* i *H. × bryzoides* to rośliny późnowiosenne, a nawet wczesnoletnie, których początek kwitnienia wypada zwykle na przełomie V i VI, a koniec nawet na połowę VII [19, 21]. Wszystkie gatunki charakteryzują się co najmniej 2-tygodniowym czasem kwitnienia, a u *G. sanguineum*, *H. × bryzoides* i *N. × faassenii* może ono trwać do 3 miesięcy. Okresy kwitnienia kolejnych gatunków zazębiają się, co daje ciągłość pożytku od początku IV do połowy VII. Byliny kwitną dłużej niż krzewy.

TABELA 1

Termin i długość kwitnienia wybranych ozdobnych bylin i krzewów okrywowych
według różnych autorów

Gatunek	Termin kwitnienia	Długość kwitnienia (dni)	Źródło
1	2	3	4
Byliny			
<i>Ajuga reptans</i> dąbrówka rozłogowa	koniec IV–V	15–28	[23, 25]
<i>Anemone nemorosa</i> zawilec gajowy	IV	ok. 14	[17]
<i>Bergenia cordifolia</i> bergenia sercowata	połowa IV–połowa V	22–30	[19]
<i>Bergenia lingulata</i> bergenia orzęsiona	początek IV–połowa V	21–28	[19]

cd. tab. 1

1	2	3	4
<i>Geranium macrorrhizum</i> bodziszek korzeniasty	koniec IV–początek VI	26–34	[5]
<i>Geranium platypetalum</i> bodziszek wielkopłatkowy	koniec V–VI	21–36	[5, 21]
<i>Geranium sanguineum</i> bodziszek czerwony	V–początek VII	50–53	[5, 20]
<i>Heuchera</i> × <i>bryzoides</i> żurawka drżączkowa	koniec V–połowa VII	36–60	[19]
<i>Lamium galeobdolon</i> jasnota gajowiec	IV–V	ok. 30	[25, 26]
<i>Nepeta</i> × <i>faassenii</i> kocimiętka Faassena	V–VI	ok. 60	[24, 25]
<i>Viola odorata</i> fiolka wonny	IV–V	ok. 28	[24–26]
Krzewy			
<i>Berberis thunbergii</i> berberys Thunberga	połowa IV–V	13–18	[15, 22]
<i>Chaenomeles japonica</i> pigwowiec japoński	koniec IV–połowa V	10–16	[18]
<i>Rosa rugosa</i> róża pomarszczona	połowa V–koniec VI	40	[16]

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [5, 15–26].

Rośliny jako źródło nagród kwiatowych dla owadów

Anemone nemorosa i *R. rugosa* to rośliny wyłącznie pyłkodajne. Kwiaty pozostałych gatunków dostarczają owadom zarówno nektaru, jak i pyłku. Nektar jest dostępny dla wszystkich pszczoł, w tym pszczoły miodnej, mimo że niekiedy wydzielina ukryta jest np. w ostrodze kwiatowej (*V. odorata*), na dnie kielicha (*G. macrorrhizum*) lub rurki kwiatowej (*A. reptans*, *L. galeobdolon*, *N. × faassenii*).

Produkcja pyłku

Gatunki prezentowanych roślin różnią się masą pyłku oferowaną owadom zarówno na poziomie kwiatu, jak i ze 100 m² nasadzenia (tab. 2). Najobficiej pyłą kwiaty *R. rugosa*, a najslabiej kwiaty *H. × bryzoides*, co jest związane z liczbą pylników, wynoszącą odpowiednio: 270 i 10 [16, 19]. Do dobrze pyłących zaliczają się kwiaty *Geranium* [5, 20, 21] i *Ch. japonica* [18]. U *Ch. japonica* występuje

tristylii i masy pyłku produkowanego w kwiatach zależą od ich formy morfologicznej. Kwiaty o długich i średnio długich słupkach pyłą obficie niż kwiaty o słupkach krótkich, a ich udział w całkowitej liczbie kwiatów rozwiniętych na krzewie decyduje o jego ostatecznej wydajności pyłkowej [18]. W dostępnych źródłach nie znaleziono szczegółowych danych na temat produkcji pyłku przez kwiaty *L. galeobdolon*, *N. × faassenii* i *V. odorata*.

TABELA 2

Wartość pożytkowa (nektarowanie i produkcja pyłku) oraz intensywność oblotu przez pszczoły wybranych ozdobnych bylin i krzewów okrywowych według różnych autorów

Gatunek [źródło]	% cukrów w nektarze	Masa cukrów w nektarze (mg) · 10 kwiatów ⁻¹	Wydajność cukrowa (kg) · 100 m ⁻² nasadzenia	Masa pyłku (mg) · 10 kwiatów ⁻¹	Wydajność cukrowa (kg) · 100 m ⁻² nasadzenia	Oblot przez pszczoły
Byliny						
<i>Ajuga reptans</i> dąbrówka rozłogowa [23, 24, 25]	36-70	7,2	1,0-1,1	-	0,11	++
<i>Anemone nemorosa</i> zawilec gajowy [17, 25, 26]	-	-	-	3,5	0,05	++
<i>Bergenia cordifolia</i> bergenia sercowata [19]	27,1	20,7	0,26	1,3	0,15	+
<i>Bergenia lingulata</i> bergenia orzęsiona [19]	21,2	15,4	0,13	1,3	0,11	+++
<i>Geranium macrorrhizum</i> bodziszek korzeniasty [5]	43,5	39,9	0,83	25,9	0,51	+++
<i>Geranium platypetalum</i> bodziszek wielkopłatkowy [5, 21]	42,5	8,38	0,10	22,0	0,33	+++
<i>Geranium sanguineum</i> bodziszek czerwony [5, 20]	45,7	7,94	0,08	23,1	0,25	++
<i>Heuchera × bryzoides</i> żurawka drżączkowa [19]	46,1	37,3	6,4	0,3	0,48	++
<i>Lamium galeobdolon</i> jasnota gajowiec [26]	25-38	8,1	do 0,2	-	-	+
<i>Nepeta × faassenii</i> kocimiętka Faassena [24, 25]	34-44	-	1,2-1,6 (5,5)	-	0,13	+++
<i>Viola odorata</i> fiolka wonny [24, 26]	-	-	do 0,2	-	0,06	+++
Krzewy						
<i>Berberis thunbergii</i> berberys Thunberga [15, 22]	58,5-60	8,1-11	-	4,8-7,3	-	+++
<i>Chaenomeles japonica</i> pigwowiec japoński [15, 18]	37-71	4,7-7,2	0,18-0,72	7,8-48,5	0,5-2,4	++
<i>Rosa rugosa</i> róża pomarszczona [16]	-	-	-	191,0	0,15-0,2	+++

Skala intensywności oblotu: + kwiaty oblatywane, ++ kwiaty intensywnie oblatywane, +++ kwiaty bardzo intensywnie oblatywane

Źródło: opracowanie własne na podstawie: [5, 15-26].

Najwyższą ilość pyłku dostarczanego owadom można uzyskać z nasadzeń *G. macrorrhizum*, *Ch. japonica* i *H. × bryzoides* (tab. 2). Dzięki obfitemu kwitnieniu *H. bryzoides* jej wydajność pyłkowa z jednostki powierzchni jest wysoka, pomimo małej ilości pyłku produkowanej przez pojedyncze kwiaty [19]. Niestety, pszczoły miodne nie zbierają tego pyłku [19].

Nektarowanie i wydajność cukrowa

Wartość roślin miododajnych zależy od koncentracji (%) i masy cukrów wydzielonych w nektarze (wydajność cukrowa). Dane o tych cechach u analizowanych taksonów zamieszczono w tabeli 2. Koncentracja cukrów w nektarze u wszystkich prezentowanych gatunków jest wystarczająco wysoka do zwabienia pszczół miodnych, trzmieli i innych dzikich pszczół. Najslabiej skoncentrowany nektar wydzielają kwiaty *Bergenia* [19], podczas gdy wysoka koncentracja cukrów w nektarze jest cechą kwiatów *Geranium*, *A. reptans*, *B. thunbergii* i *Ch. japonica* [5, 20–23]. Największą masę cukrów w nektarze produkują kwiaty *G. macrorrhizum* i *H. × bryzoides*, najmniejszą – *Ch. japonica*. W przypadku tego ostatniego gatunku kwiaty o krótkich słupkach nektarują znacznie lepiej od pozostałych morfotypów i ich udział w całkowitej liczbie kwiatów rozwiniętych na krzewie decyduje o jego ostatecznej wydajności cukrowej [18]. Najlepszą wydajnością cukrową ze 100 m² powierzchni odznaczają się nasadzenia z *H. × bryzoides*, a spośród gatunków typowo wiosennych, w kolejności – *N. × faassenii*, *A. reptans* i *G. macrorrhizum*. Wydajność cukrowa monokulturowych nasadzeń *Ch. japonica* jest bardzo zróżnicowana i zależy od udziału poszczególnych morfotypów kwiatów na krzewach [18].

Oblot przez pszczoły

Kwiaty wybranych gatunków są chętnie odwiedzane przez pszczoły, wśród których dominują robotnice pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.), stanowiące niekiedy powyżej 90% wszystkich owadów wizytujących (*G. macrorrhizum*, *G. platypetalum*, *Ch. japonica*) [5, 18, 21]. Odwiedzane są one też przez różne gatunki trzmieli (*Bombus* spp.) i pszczół samotnic [5, 18, 19, 25, 26]. Na kwiatach *R. rugosa* częściej spotyka się trzmielę niż pszczoły miodne [16]. Pszczoły pobierają nektar z kwiatów wszystkich gatunków nektarodajnych, a u *H. × bryzoides* jest to jedyny zbierany przez nie pożytek [19]. Także w przypadku kwiatów *Bergenia* i *Geranium* pszczoły miodne są zainteresowane głównie nektarem [5, 19, 20, 21], choć trzmielę zbierają także pyłek *G. mac-*

rorrhizum (obserwacje własne). Pyłek *A. nemorosa* jest chętnie zbierany przez pszczoły, w tym pszczołę miodną [17].

Omówienie wybranych taksonów roślin

Rośliny ozdobne nie zawsze są bardzo dobrym źródłem nektaru i pyłku [27], co jednak nie dyskwalifikuje ich jako atrakcyjny pożytek dla owadów zapylających. Prezentowane w artykule gatunki ozdobnych bylin i krzewów okrywowych wabią liczne pszczoły miodne, trzmiele i inne dzikie pszczoły.

Analizowane taksony to głównie rośliny wczesnowiosenne i wiosenne, kwitnące i dostarczające ciągłego pożytku pyłkowego i nektarowego od początku IV do końca VI, a nawet połowy VII (*G. platypetalum*, *G. sanguineum*, *H. × bryzoides*). Wczesnowiosenne i wiosenne pożytki pszczele są bardzo cenne dla pszczół z siedlisk miejskich, gdyż wiele z nich, w tym pszczoła miodna, matki trzmieli oraz pszczoły samotne z rodzaju *Andrena*, *Osmia* i *Halictus*, wczesnie rozpoczyna tu swoją aktywność [13]. Jednocześnie wiosna to generalnie okres dużych potrzeb pokarmowych tych owadów. W ekosystemach miejskich głównym źródłem pożytku w IV i V są wieloletnie chwasty [28], których wartość estetyczna jest co najmniej problematyczna. Stosowanie nasadzeń z wiosennych roślin okrywowych, obok drzew i krzewów takich jak *Crataegus monogyna*, *Malus sylvestris*, *Acer* spp., *Salix* spp., *Cotoneaster* spp., może zwiększyć dostępność wczesnych pożytków dla pszczół miodnych i dzikich.

Produkcja pyłku i nektaru przez kwiaty prezentowanych taksonów jest zróżnicowana. Jednak nawet gatunki, których pojedyncze kwiaty nie nektarują albo/i nie pylą zbyt obficie, mogą dostarczyć znaczącego pożytku z powierzchni nasadzenia dzięki obfitemu kwitnieniu poszczególnych roślin i gęstości ich sadzenia (*H. × bryzoides*). Wydajność cukrowa ze 100 m² monokultury analizowanych taksonów jest zbliżona do *Acer ginnala*, *Crataegus monogyna* czy *Lonicera tatarica* uznawanych za wiosenne rośliny miododajne, wzbogacające pastwisko pszczele [6, 15, 29]. Wydajność pyłkowa z nasadzenia gatunków *Geranium* jest podobna do wydajności takich krzewów ozdobnych jak *Cotoneaster divaricatus* czy *C. dammeri* [16]. Wśród przedstawianych bylin i krzewów okrywowych do szczególnie cennych pszczelarsko można zaliczyć *A. reptans*, *Ch. japonica*, *G. macrorrhizum*, *H. × bryzoides* i *N. × faassenii*. Należy podkreślić, że wczesnowiosenne rośliny pożytkowe odgrywają bardzo ważną rolę stymulatorów rodzin pszczelich, niezależnie od poziomu ich zasobów nektaru i pyłku [24]. Dlatego też cennymi bylinami okrywowymi są oblatywane przez pszczoły gatunki *Bergenia*, *A. nemorosa* i *V. odorata*, kwitnące już od początku IV.

Zebrane wyniki pokazują, że ozdobne rośliny okrywowe są wartościowymi gatunkami pszczelarskimi, na co wskazują parametry produkcji nektaru i pyłku oraz intensywność oblotu przez owady pszczołowe, w tym pszczoły miodne. Warto również zaakcentować, że ich wykorzystanie w zieleni miejskiej zaspokaja dodatkowo potrzeby estetyczne mieszkańców miast.

Wnioski


1. Kwitnienie prezentowanych ozdobnych roślin okrywowych przypada w większości na miesiące kwiecień i maj, czyli na okres wyjątkowo dużego zapotrzebowania pszczół na nektar i pyłek.
2. Rośliny okrywowe mogą znacząco wzbogacić wiosenną bazę pożytkową pszczół dzikich i miodnych oraz powinny być szerzej wykorzystywane przy planowaniu nasadzeń miejskich.
3. Opisane w artykule gatunki roślin sadzone na znacznych obszarach wykazują duży potencjał miododajny, co nie jest bez znaczenia dla rozwijającego się na terenie miast pszczelarstwa.

Wykaz cytowanej literatury

1. Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc Royal Soc B-Biol Sci.* 2007; 274(1608): 303–313.
2. Matteson KC, Grace JB, Minor ES. Direct and indirect effects of land use on floral resources and flower-visiting insects across an urban landscape. *Oikos.* 2013; 122(5): 682–694.
3. Larcher F, Devecchi M, Battisti L, Vercelli M. Urban horticulture and ecosystem services: challenges and opportunities for greening design and management. *Italus Hortus* 2017; 24 (1): 33–39.
4. Garbuzov M, Ratnieks FL. Quantifying variation among garden plants in attractiveness to bees and other flower-visiting insects. *Funct Ecol.* 2014; 28(2): 364–374.
5. Masierowska M, Stawiarz E, Rozwałka R. Perennial ground cover plants as floral resources for urban pollinators: A case of *Geranium* species. *Urban For Urban Green.* 2018; 32: 185–194.
6. Jachuła J, Denisow B, Strzałkowska-Abrańek M. Floral reward and insect visitors in six ornamental *Lonicera* species – Plants suitable for urban bee-friendly gardens. *Urban For Urban Green.* 2019; 44; URL: <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2019.126390>.

7. Xiaomei S, Xi X, Shaocai L. Investigation and evaluation of ground covers in Botanical garden of Chengdu. *J Landsc Res.* 2014; 6(3/4): 50–53.
8. Joniec M, Dutkiewicz M. Możliwości zastosowania wybranych gatunków roślin okrywowych w architekturze krajobrazu. *Teka Kom Arch Urb Stud Krajobr – OL PAN* 2011: 13–21.
9. Dawison E. Ground covers for Arizona landscape. Arizona: The University of Arizona, College of Agriculture; 1999.
10. Borowski J, Fortuna-Antoszkiewicz B, Łukaszkiwicz J, Rosłon-Szeryńska E, Sitariski M, Suchocka M, Wysocki C. Standardy kształtowania zieleni Warszawy. Warszawa: Polskie Towarzystwo Dendrologiczne; 2016; URL: <http://konsultacje.um.warszawa.pl/sites/konsultacje.um.warszawa.pl/files/>.
11. Muras P. Standardy zakładania i pielęgnacji podstawowych rodzajów terenów zieleni w Krakowie na lata 2017–2030. Kraków; 2016; URL: https://dialogspoleczny.krakow.pl/wp-content/uploads/2017/04/5_ANEKS_III_-STANDARDY_TZ-Muras-Poprawiony-01-02-2017.pdf.
12. Pickett ST, Cadenasso ML, Grove JM, Boone CG, Groffman PM, Irwin E, Pouyat RV. Urban ecological systems: Scientific foundations and a decade of progress. *J Environ Manage.* 2011; 92(3): 331–362.
13. Hicks DM, Ouvrard P, Baldock KC, Baude M, Goddard MA, Kunin WE, Osgathorpe LM. Food for pollinators: quantifying the nectar and pollen resources of urban flower meadows. *PLOS ONE* 2016; 11(6).
14. Fründ J, Zieger SL, Tschardt T. Response diversity of wild bees to overwintering temperatures. *Oecologia* 2013; 173(4): 1639–1648.
15. Szklanowska K. Nektarowanie i wydajność miodowa niektórych drzew i krzewów w warunkach Polski. *Pszczel Zesz Nauk.* 1978; 22: 117–118.
16. Szklanowska K. Wydajność pyłkowa niektórych ozdobnych drzew i krzewów z rodziny różowatych (Rosaceae). *Pszczel Zesz Nauk.* 1992; 36: 65–73.
17. Szklanowska K. Pollen flows of crowfood family (Ranunculaceae L.) from some natural plant communities. [W]: Banaszak J (red.). *Changes in Fauna of Wild Bees in Europe.* Bydgoszcz: Pedagogical University Press; 1995, s. 189–200.
18. Denisow B. The blooming and melliferous value of tristilous flowers of Japanese quince (*Chaenomeles japonica* Lindl.). *J Apic Sci.* 2002; 46(2): 15–22.
19. Masierowska M. Biologia kwitnienia, nektarowanie i wydajność pyłkowa trzech gatunków bylin z rodziny skalnicowatych (f. Saxifragaceae). *Ann UMCS Lublin-Polonia, Sectio EEE* 2002; 10: 35–43.
20. Masierowska M. Kwitnienie oraz wartość pożytkowa bodziszka czerwonego (*Geranium sanguineum* L.), Geraniaceae. *Acta Agrobot.* 2006; 59: 165–175.
21. Masierowska M. Floral phenology, floral rewards and insect visitation in an ornamental species *Geranium platypetalum* Fisch. and CA Mey., Geraniaceae. *Acta Agrobot.* 2012; 65: 23–36.
22. Stawiarz E, Masierowska M, Wróblewska A. Wzbogacanie miejskich pożytków pszczelich przez krzewy z rodzaju berberys (*Berberis* L.). 56 Naukowa Konferencja Pszczelarska, Kazimierz Dolny, 5–6 marca 2019, s. 97.
23. Jabłoński B, Kołtowski Z. Nectar secretion and honey potential of honey plants growing under Poland's conditions. Part XIII. *J Apic Sci.* 2002; 46(1): 25–30.

24. Ostrowska W. Obserwacje fenologiczne i pszczelarskie roślin nektaro- i pyłkodajnych w warunkach przyrodniczych Siejnika. Maszynopis; 1981.
25. Sulborska A. Rośliny pożytkowe. Klecza Dolna: Wydawnictwo Bee & Honey; 2019.
26. Lipiński M. Pożytki pszczele, zapylenie i miododajność roślin. Wyd. 4. Warszawa: PWRiL, Stróże: Sądecki Bartnik Press; 2010.
27. Jabłoński B. Potrzeby zapylenia i wartość pszczelarska owadopylnych roślin uprawnych. Puławy: Oddz. Pszczelnictwa ISK; 1997.
28. Denisov B. Pollen production of selected ruderal plant species in the Lublin area. Lublin: Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie; 2011.
29. Jabłoński B, Kołtowski Z. Nektarowanie i wydajność miodowa roślin miododajnych w warunkach Polski. Cz. 9. Pszczel Zesz Nauk. 1996; 40(1): 59–65.



Rozwój inwazji *Varroa destructor* w świetle zabiegów przeciwwarrozowych – studium przypadku pasieki PIWet-PIB*

Control of *Varroa destructor* infestation and parasite population development – the case study

KRYSTYNA POHORECKA^{1*}  <https://orcid.org/0000-0003-3987-6141>

ANDRZEJ BOBER¹  <https://orcid.org/0000-0001-6664-099X>

MARTA SKUBIDA¹  <https://orcid.org/0000-0002-9959-443X>

¹Zakład Chorób Pszczoł, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach

al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

* Autor do korespondencji: krystyna.pohorecka@piwet.pulawy.pl

STRESZCZENIE | Jednym z największych wyzwań dla światowego pszczelarstwa jest ograniczenie inwazji pasożytniczych roztoczy *Varroa destructor*. Od kilkudziesięciu lat gatunek ten powoduje duże straty w populacji pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.). Zwalczanie inwazji roztoczy odbywa się powszechnie przy użyciu produktów leczniczych weterynaryjnych. Z tego względu konieczne jest monitorowanie skuteczności preparatów dopuszczonych do stosowania w pasiekach. Celem artykułu jest ocena populacji roztoczy *V. destructor* po zastosowaniu nowych produktów leczniczych weterynaryjnych PolyVar Yellow[®] (flumetryna, 275 mg/pasek) i VarroMed (wodny roztwór kwasu szczawowego i mrówkowego) oraz preparatu stosowanego w krajowych pasiekach od kilkunastu lat – Biowar 500[®] (amitraz, 500 mg/pasek). Przedmiotem zaprezentowanych badań jest także wpływ zabiegów gospodarki pasiecznej (przerwanie czerwienia matek, podział rodzin) na poziom inwazji roztoczy *V. destructor* w leczonych rodzinach. Wszystkie preparaty oceniano w grupach liczących po 10 rodzin pszczelich, zasiedlających jeden korpus ula wielkopolskiego. W roku 2018 zabiegi zwalczania roztoczy rozpoczęto 3 września za pomocą preparatów PolyVar Yellow[®] i Biowar 500[®], trwały one 8 tygodni. W roku 2019 rodziny otrzymały PolyVar Yellow[®], VarroMed i Biowar 500[®], a zabiegi rozpoczęto w pierwszej dekadzie sierpnia. Ekspozycja roztoczy na preparat PolyVar trwała 3 miesiące, a na preparat Biowar 500 – 10 tygodni. Zabiegi nakrapiania na pszczoły preparatu VarroMed wykonano pięciokrotnie latem i jeden raz jesienią. Dawka preparatu wprowadzanego do ula podczas pojedynczego zabiegu była skorelowana z siłą rodziny, uzależnioną od liczby obsiadanych przez pszczoły plastrów, i wynosiła 33–44 ml zawiesiny/rodzinę w okresie letnim i 25–30 ml w okresie jesiennym. Po zakończeniu aplikacji testowanych leków we wszystkich rodzinach zastosowano

* Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu nr S/352.

preparat kontrolny – Apiwarol®. Przez cały okres trwania zabiegów leczniczych i kontrolnych liczono martwe pasożyty spadające do szufladek w osiatkowanej dennicy. Najwyższą skuteczność stwierdzono dla zabiegów wykonanych preparatem Biowar 500®, średnio wynosiła ona 99,0% w 2018 roku i 96,8% w roku 2019. Zastosowanie preparatu PolyVar Yellow® skutkowało obniżeniem populacji roztoczy średnio o 89,9% w roku 2018 i o 71,8% w roku 2019. Mimo wcześniejszego terminu rozpoczęcia zabiegów w roku 2019 i dłuższego ich trwania skuteczność obydwu preparatów była niższa w porównaniu z rokiem 2018. Wyraźne różnice zaobserwowano także w dynamice osypywania się roztoczy, która w roku 2019 była istotnie słabsza, zarówno w rodzinach leczonych Biowarem, jak i PollyVarem. Trzykrotne podanie rodzinom preparatu VarroMed latem pozwoliło zniszczyć średnio 34,4% pasożytów, natomiast w efekcie wykonania 5 zabiegów w rodzinach zginęło średnio 65,1% pasożytów. Średnia skuteczność jednokrotnej aplikacji preparatu w listopadzie wyniosła 82,3%.

Mimo intensywnych i długookresowych zabiegów przeciwwarozowych w badanych latach stwierdzono wysoki, nieróżniący się istotnie, poziom inwazji *V. destructor*, dochodzący w niektórych rodzinach do kilku tysięcy roztoczy. Tworzenie odkładów oraz co najmniej trzytygodniowa przerwa w czerwieniu matek miały wpływ na obniżenie poziomu inwazji, aczkolwiek całkowita populacja roztoczy w tych grupach rodzin nie różniła się istotnie od populacji pasożytów w rodzinach, w których matki czerwily bez przerwy, bądź w rodzinach, z których nie zabierano plastrów z czerwim i pszczołami. Wyniki wskazują na konieczność weryfikacji dotychczasowej wiedzy na temat biologii pasożyta w zakresie zagadnień dotyczących reprodukcji i reinwazji.

SŁOWA KLUCZOWE | *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, zwalczanie, akarycydy, skuteczność

ABSTRACT | One of the greatest challenges for global beekeeping is to limit the invasion of *Varroa destructor* parasitic mites. For several decades, this species has caused high losses in the population of honeybees (*Apis mellifera* L.). Control of mite infestation is commonly carried out with the veterinary medicinal products. Therefore, it is necessary to monitor the effectiveness of preparations authorized for use in apiaries. Field trials were conducted in 2018 and 2019 to evaluate the effectiveness of three acaricides against *V. destructor* (active substances in veterinary medicinal products). The experimental apiary was composed of Wielkopolski hives (frame 360 mm width × 260 mm height). All hives (one hive chamber) were occupied by *A. mellifera* colonies naturally infested with *V. destructor*. The study was carried out on 10 colonies in each group. The honeybee colonies had not received any treatment before the field trials. In 2018 field trials were conducted to evaluate the effectiveness of PolyVar Yellow® (flumethrin, 275 mg/strip) and Biowar 500® (amitraz, 500 mg/strip). Two strips of PolyVar were applied in each of the ten colony during a period of 8 weeks in September–October. The second group of colonies were treated with Biowar 500® for the same period. The fallen mites were recorded every 7 day. On the 60th day, a control treatment with Apiwarol® (amitraz, 12,5 mg/tablet) was given. In 2019, two strips of PolyVar Yellow® were applied in each colony during a period of 14 weeks in August–October. The treatments with Biowar 500 were applied during a period of 10 weeks in August–September. VarroaMed treatment was conducted by trickling. In each occupied bee space, 3–4 ml solution was trickled directly onto the bees. The treatments were carried out five times in August and once in November. The fallen mites were recorded during PolyVar, Biowar and VarroMed treatments and after a control treatments with Apiwarol®. In 2018, the treatment's average effectiveness varied among colonies (min 57.4%, max 100.0% for PolyVar and min 94.7%, max 100.0% for Biowar). The average effectiveness of the treatment was 89.9% and 99.0% respectively. In 2019, the treatments used in the study reduced high infestations of *V. destructor*, although they did not eliminate the infestation. PolyVar Yellow® effectiveness has been demonstrated with values from 33.3% to 95.7% (mean value 71.8%). VarroaMed effective-

ness has been demonstrated with values ranging from 28.8% to 94.9% (mean value 65.1%) in August and from 46.9% to 100.0% (mean value 82.3%) in November.

The average effectiveness of Biowar treatment was higher (96.8%, ranging from 85.4% to 99.7%). In spite of intensive and long-term treatments, in both years a high level of *V. destructor* invasion was found. The number of mites in honeybee colonies ranged from 57 to 5572 in 2018 and from 121 to 9150 in 2019. The smallest population of mites was recorded in nuclei and in the colonies with interrupted egg laying of queens. The obtained results indicate the need to verify the existing knowledge about parasite biology in terms of reproduction and reinvasion issues.

KEYWORDS | *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, control, acaricides, effectiveness

Wprowadzenie

Stały spadek populacji pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.), utrzymujący się od kilkunastu lat w wielu regionach świata, budzi uzasadnioną obawę o prawidłowe plonowanie roślin entomofilnych [1, 2]. Obecnie dla pszczoły miodnej szczególne zagrożenie stanowią roztocza *Varroa destructor*, zewnętrzne pasożyty odżywiające się ciałem tłuszczowym i hemolimfą wszystkich stadiów rozwojowych pszczoł [3, 4]. Niedożywienie pszczoł spowodowane utratą składników pokarmowych skutkuje zaburzeniami anatomicznymi, fizjologicznymi i behawioralnymi. W wyniku immunosupresji wzrasta podatność pszczoł na zakażenie drobnoustrojami [5]. Szczyt rozwoju inwazji *V. destructor* przypada na okres wychowu pokolenia pszczoł zimowych (sierpień), a nielezione lub nieprawidłowo leczone rodziny pszczoły zazwyczaj giną w okresie jesienno-zimowym, w ciągu 2–3 lat [6, 7]. W krajowych pasiekach *V. destructor* jest bezpośrednią przyczyną zagłady ok. 50% przygotowanych do zimowania rodzin pszczelich [8]. Dla zachowania prawidłowej kondycji i produktywności rodzin niezbędne jest rokroczne zwalczanie roztoczy. Ograniczanie inwazji *V. destructor* odbywa się najczęściej przy użyciu produktów leczniczych weterynaryjnych [9]. Efektywność tych zabiegów uwarunkowana jest rodzajem stosowanego preparatu, dawką leku, liczbą zabiegów, okresem ich wykonania. Ponieważ asortyment produktów leczniczych weterynaryjnych jest ograniczony, ciągłe stosowanie tych samych substancji czynnych i odkładanie się ich pozostałości w produktach pszczelich stwarza ryzyko pojawiania się opornych populacji pasożyta [10, 11]. Priorytetowe zatem są zarówno badania skuteczności nowych produktów leczniczych, jak i monitorowanie skuteczności preparatów stosowanych w pasiekach od wielu lat. Wyniki badań prowadzonych w warunkach pasiecznych są oczekiwane przez całe środowisko pszczelarskie, ponieważ przedmiotowa wiedza pozwala na weryfikację sposobów zwalczania roztoczy, a w razie konieczności – na ich korektę.

Celem podjętych badań była ocena skuteczności przeciwarozowej dwóch nowych produktów leczniczych weterynaryjnych: PolyVar Yellow® (Bayer) i VarroMed (BeeVital GmbH), oraz preparatu Biowar 500® (Biowet), stosowanego w krajowych pasiekach od kilkunastu lat. Przedmiotem pracy była także ocena wpływu określonych zabiegów gospodarki pasiecznej (przerwa w czerwieniu matek, tworzenie odkładów) na rozwój populacji roztoczy *V. destructor*.

Materiały i metody

Stanowiska badawcze

Ocenę skuteczności zabiegów przeciwarozowych wykonano w warunkach polowych w latach 2018 i 2019. Stacjonarna pasieka PIWet-PIB usytuowana jest na niewielkiej polanie w zalesionej części terenu należącego do instytutu, w znacznej odległości (2–3 km) od innych pasiek. Rodziny pszczele zasiedlają ule typu wielkopolskiego, wyposażone w osiatkowane dennice z szufladkami. Pasieka liczy trzydzieści pni, z których dziewięć utworzono w maju 2019 roku poprzez podział rodzin ubiegłorocznych (odebranie 2 plastrów z czerwem krytym i pszczołami oraz 2 plastrów z zapasem pokarmu). W większości rodzin znajdują się matki sztucznie unasienione *Apis mellifera carnica*. Podczas ostatniego sezonu matki pszczele zostały wymienione w ponad połowie rodzin. Od kilku lat w pasiece prowadzony jest monitoring terenowej skuteczności produktów leczniczych weterynaryjnych dopuszczonych do obrotu na terenie kraju.

Wykorzystane metody

Metoda wykorzystywana do oceny skuteczności leków bazuje na pomiarach liczby martwych pasożytów osypujących się do szufladek dennicowych na skutek aplikacji ocenianych produktów, a następnie podaniu kontrolnego.

W roku 2018 przeprowadzono ocenę skuteczności warroabójczej preparatu leczniczego weterynaryjnego PolyVar Yellow® (substancja czynna – flumetryna, 275 mg/pasek) oraz preparatu Biowar 500® (substancja czynna – amitraz, 500 mg/pasek). Postacią farmaceutyczną obydwu preparatów są plastikowe paski, przy czym paski Biowaru umieszcza się wewnątrz ula, pomiędzy plastrami gniazdowymi rodziny pszczelej, natomiast paski PolyVar Yellow® mocuje się na otworze wylotowym, na zewnętrznej ścianie ula, blokując pszczołom możliwość innego, niż poprzez otwory w paskach, wyjścia i powrotu do gniazda.

Obydwa produkty cechują się kontaktowym oddziaływaniem na pasożyty znajdujące się na ciele dorosłych pszczoł.

W roku 2018 do badań polowych przygotowano 20 rodzin pszczelich (zwięzono gniazda), tak aby każda rodzina zajmowała jeden korpus gniazdowy. Przez dwa tygodnie poprzedzające termin rozpoczęcia aplikacji preparatów przeciwwarrozowych w każdej z rodzin liczone martwe roztocze *V. destructor* osypujące się w wyniku naturalnej śmiertelności do szufladek dennicowych uli. Na podstawie sumy osypanych roztoczy wyliczono średni dobowy osyp roztoczy w każdej z rodzin. Rodziny podzielone zostały na dwie homologiczne pod względem średniego dobowego osypu roztoczy grupy liczące po 10 rodzin. Zabiegi lecznicze rozpoczęto 3 września 2018 roku. Na otworach wylotowych 10 uli umieszczono po dwa paski preparatu PolyVar Yellow® w sposób zgodny z zaleceniami producenta. W drugiej grupie rodzin zastosowano po dwa paski preparatu Biowar 500®. W okresie aplikacji obydwu preparatów, który wyniósł 8 tygodni, w odstępach tygodniowych liczone martwe pasożyty, które spadały do szufladek dennicowych. W celu ustalenia liczby pasożytów, które pozostały w rodzinach po usunięciu PolyVaru i Biowaru, w obydwu grupach zastosowano ten sam preparat kontrolny – Apiwarol® (substancja czynna – amitraz, 12,5 mg/tabletkę). Dawka Apiwarolu wynosiła 1/tabletkę/zabieg/rodzinę. Zabiegi odymiania wykonano trzykrotnie w odstępach tygodniowych. Po każdym zabiegu liczone osypane pasożyty *Varroa*. Ostatni zabieg miał miejsce 13 listopada.

Latem 2019 roku zabiegi zwalczania roztoczy wykonano przy użyciu preparatu PolyVar Yellow®, Biowar 500® oraz VarroMed (wodny roztwór kwasu szczawowego i mrówkowego). Do tego celu, w sposób analogiczny jak w roku 2018, przygotowano 30 rodzin pszczelich, które podzielono na 3 grupy liczące po 10 rodzin. Populacja pszczoł w każdej z rodzin obsiadała 10 plastrów pojedynczego korpusu gniazdowego. Zabiegi zwalczania roztoczy we wszystkich grupach rozpoczęto w pierwszej dekadzie sierpnia. W pierwszej grupie rodzin zastosowano PolyVar Yellow®. Każda rodzina otrzymała po dwa paski preparatu umieszczone na otworach wylotowych uli na okres 3 miesięcy. W drugiej grupie rodzin zabiegi zwalczania roztoczy *Varroa* wykonano za pomocą Biowaru 500®. W rodzinach umieszczono po dwa paski preparatu na 10 tygodni. W obydwu grupach w każdej z rodzin liczone co tydzień martwe pasożyty, które spadały do szufladek dennicowych. Zwalczanie inwazji roztoczy *V. destructor* w trzeciej grupie rodzin przeprowadzono przy użyciu preparatu VarroMed (wodny roztwór kwasu szczawowego i mrówkowego). Latem aplikacja preparatu polegała na nakropieniu zawiesiny na pszczoły znajdujące się w uliczkach międzyplastrowych, wykonano ją pięciokrotnie w odstępach sześciu dni. Martwe pasożyty liczone były w takich samych odstępach czasowych przed wykonaniem kolejnego zabiegu. Jesienią, w połowie listopada, kiedy w większości rodzin nie było już czerwiu, wykonany został jeden zabieg nakrapiania leku na pszczoły. Dawka preparatu wprowadzanego do ula pod-

czas pojedynczego zabiegu była skorelowana z populacją dorosłych pszczoł i wynosiła od 33 ml do 44 ml zawiesiny/rodzinę w okresie letnim i od 25 ml do 30 ml w okresie jesiennym. Po ukończeniu aplikacji ocenianych preparatów we wszystkich rodzinach przeprowadzono trzy zabiegi zwalczania pasożytów z zastosowaniem preparatu kontrolnego Apiwarol®. Pasożyty, które zginęły w trakcie odymiania rodzin, liczone były w analogiczny sposób.

Na podstawie sumy martwych roztoczy znalezionych w każdej z rodzin po zastosowaniu ocenianego produktu leczniczego oraz kontrolnego określono odsetek pasożytów, o jaki w wyniku działania preparatu leczniczego została zredukowana populacja roztoczy, stanowiący wskaźnik skuteczności warroabójczej (S) tych środków według wzoru:

$$S(\%) = \frac{N \cdot 100}{N + M}$$

gdzie:

N = suma martwych roztoczy znalezionych w okresie aplikacji ocenianego produktu leczniczego

M = suma martwych roztoczy znalezionych po wykonaniu zabiegów kontrolnych.

Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną wykonano w celu porównania populacji roztoczy w grupach rodzin leczonych ocenianymi preparatami, poziomu inwazji w latach prowadzenia badań oraz populacji roztoczy w rodzinach z matkami, które miały przerwę w czerwieniu, i w grupie rodzin, w której matki czerwiły bez przerwy. Analizy te wykonano za pomocą testu t (dla populacji o rozkładzie normalnym) i testu U Manna-Whitneya (dla populacji o dowolnych rozkładach). Porównanie populacji roztoczy w odkładach, rodzinach, z których utworzono odkłady, i w rodzinach niedzielonych wykonano, wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Wartość przyjętego poziomu istotności to $\alpha = 0,05$ (Statistica™, data analysis software system, wersja 10).

Wyniki

W roku 2018 w ciągu 8 tygodni leczenia preparatem PolyVar Yellow® w rodzinach zginęło od 84 do 5051 roztoczy. Redukcja populacji roztoczy w poszczególnych rodzinach mieściła się w zakresie od 57,4% do 100,0%, średnio 90,0% (tab. 1). Po zakończeniu leczenia w rodzinach pozostało od 25 do 1406 pasożytów. W 2019 roku, w okresie, w którym paski preparatu znajdowały

się na otworach wylotowych uli, osypało się od 67 do 7589 pasożytów, stanowiących od 33,3% do 95,7% wszystkich znalezionych roztoczy. Populacja pasożytów zmniejszyła się średnio o 71,8%. Po zabiegach kontrolnych osypało się jeszcze od 32 do 1340 roztoczy (tab. 1). Dynamika redukcji poziomu inwazji różniła się znacznie. W roku 2018 już po 2 tygodniach od założenia pasków PolyVaru zginęło średnio 77,0% pasożytów. W roku 2019 zaobserwowano bardzo powolną redukcję populacji roztoczy, a podobny odsetek martwych roztoczy stwierdzono dopiero po 10. tygodniu od rozpoczęcia zabiegów (ryc. 1).

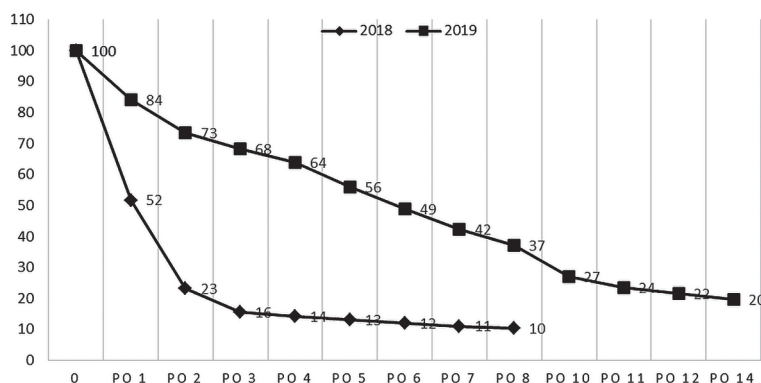
TABELA 1

Skuteczność warroabójcza produktu weterynaryjnego wyrażona odsetkiem roztoczy *V. destructor*, które zginęły w okresie ekspozycji rodzin pszczelich na działanie preparatu, w stosunku do całkowitej populacji roztoczy stwierdzonej w rodzinach po aplikacji PolyVar Yellow® i preparatu kontrolnego

Lp. rodziny	2018		2019	
	A*	B**	A*	B**
1.	57,4	1406	33,3	1340
2.	75,0	28	55,4	54
3.	90,3	541	60,5	224
4.	92,4	147	74,0	453
5.	94,8	206	75,7	323
6.	97,0	26	79,0	50
7.	97,5	92	79,7	32
8.	97,5	25	82,5	323
9.	98,0	52	82,6	32
10.	100,0	0	95,7	342
Suma		2523		3173
Średnia	89,9	252,3	71,8	317,3

* odsetek roztoczy usuniętych z rodzin podczas 8 tygodni aplikacji PolyVar Yellow®

** liczba roztoczy, które osypały się po zastosowaniu preparatu kontrolnego



Ryc. 1. Dynamika redukcji populacji roztoczy w okresie aplikacji preparatu PolyVar Yellow® wyrażona odsetkiem martwych pasożytów znalezionych po kolejnych tygodniach leczenia

W grupie rodzin leczonych PolyVarem w 2018 i 2019 roku poziom inwazji nie różnił się istotnie ($p = 0,366$). W obu badanych latach poziom inwazji był bardzo zróżnicowany w poszczególnych rodzinach. W roku 2018 całkowita populacja roztoczy mieściła się w zakresie od 112 do 5592 samic *V. destructor*, a w roku 2019 – w zakresie od 121 do 7931 pasożytów, w rodzinach średnio znaleziono 2402 i 1612 pasożytów.

W grupie rodzin leczonych w roku 2018 preparatem Biowar 500[®] w ciągu 8 tygodni łącznie osypało się od 54 do 3274 roztoczy, które stanowiły od 94,7% do 100,0% ich całkowitej populacji. Aplikacja leku spowodowała redukcję populacji roztoczy średnio o 99,0%. W leczonych rodzinach pozostało maksymalnie 25 martwych roztoczy (tab. 2). Natomiast w roku 2019 podczas okresu leczenia Biowarem w szufladkach znaleziono od 357 do 9043 martwych roztoczy. W efekcie z rodzin usuniętych zostało od 85,4% do 99,7% pasożytów.

TABELA 2

Skuteczność warroabójcza produktu weterynaryjnego Biowar 500[®] wyrażona odsetkiem roztoczy *V. destructor*, które zginęły w okresie ekspozycji rodzin pszczoł na działanie preparatu, w stosunku do całkowitej populacji roztoczy stwierdzonej w rodzinach po aplikacji Biowaru 500[®] i preparatu kontrolnego

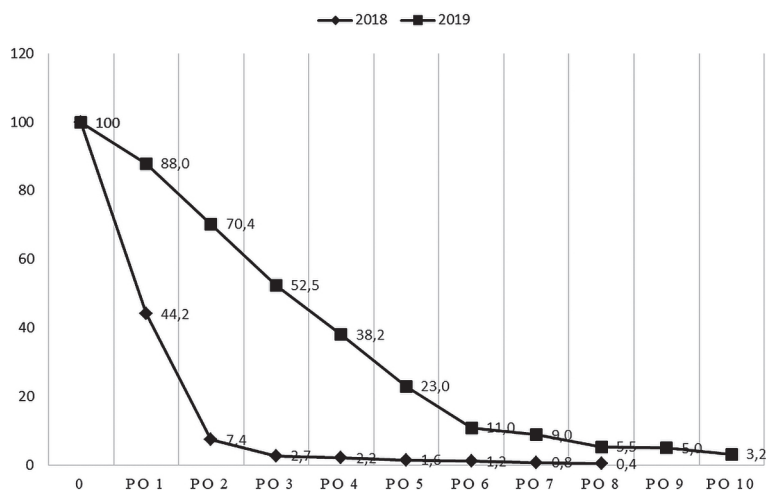
Lp. rodziny	2018		2019	
	A*	B**	A*	B**
1.	94,7	3	85,4	207
2.	98,6	9	94,1	251
3.	98,6	25	96,7	12
4.	99,2	8	97,1	55
5.	99,3	8	97,2	43
6.	99,8	2	98,0	9
7.	99,8	5	98,8	107
8.	99,8	6	99,0	11
9.	99,9	4	99,2	5
10.	100,0	0	99,7	3
Suma		70		703
Średnia	99,0	7	96,8	70,3

* odsetek roztoczy usuniętych z rodzin podczas 8 tygodni aplikacji Biowar 500[®]

** liczba roztoczy, które osypały się po zastosowaniu preparatu kontrolnego

Średnia skuteczność Biowaru w roku 2019 kształtowała się na poziomie 96,8%, przy czym po zabiegach kontrolnych osypało się jeszcze średnio po 70 roztoczy/rodzinę. Tempo zmniejszania się populacji roztoczy na skutek działania tego preparatu różniło się w poszczególnych latach i kształtowało się podobnie, jak w grupach rodzin leczonych PolyVarem (ryc. 2). W roku 2018 po 2 tygodniach od aplikacji Biowaru rodziny zostały uwolnione od 92,6% pa-

sożyków, w roku 2019 podobną skuteczność uzyskano dopiero po 8 tygodniach. Całkowita populacja roztoczy w rodzinach leczonych Biowarem mieściła się w zakresie się od 57 do 3278 pasożytów (średnio 1386) w roku 2018 i od 369 do 9150 roztoczy (średnio 2164) w roku 2019 i nie różniła się istotnie w poszczególnych latach ($p = 0,791$).



Ryc. 2. Dynamika redukcji populacji roztoczy w okresie aplikacji preparatu Biowar 500® wyrażona odsetkiem martwych pasożytów znalezionych po kolejnych tygodniach leczenia

Skuteczność stosowania preparatu VarroMed w drugiej połowie lata, w okresie intensywnego wychowu pokolenia pszczoł zimowych, czyli w rodzinach z czerwem, oceniona została po 3 i po 5 zabiegach nakrapiania roztworu na pszczoły. Po wykonaniu 3 zabiegów w szufladkach dennicowych stwierdzono od 52 do 1563 roztoczy, a po 5 zabiegach od 222 do 2855 pasożytów. Skuteczność 3 zabiegów wahała się od 7,9% do 74,4%, średnio 34,4%, natomiast po wykonaniu 5 zabiegów w rodzinach zginęło od 28,8% do 94,9% pasożytów, średnio 65,1%. Po pięciokrotnym nakropieniu pszczoł preparatem w rodzinach pozostało od 102 do 851 roztoczy. Skuteczność jednokrotnej aplikacji preparatu w listopadzie wahała się od 46,9% do 100,0%, średnio wyniosła 82,3%, a w rodzinach stwierdzono jeszcze obecność od 1 do 132 roztoczy (tab. 3).

Średni poziom inwazji *V. destructor* stwierdzony we wszystkich rodzinach pszczelich w latach 2018 i 2019 był wysoki i nie różnił się istotnie ($p = 0,854$). W roku 2018 w 20 rodzinach objętych badaniami znaleziono ogółem blisko 38 000 pasożytów (średnio po 1984), a w kolejnym roku w 30 rodzinach łącznie obecnych było niemal 54 000 pasożytów (średnio po 1799) (tab. 4).

TABELA 3

Skuteczność warroabójcza produktu weterynaryjnego VarroMed wyrażona odsetkiem roztoczy *V. destructor*, które zginęły w okresie ekspozycji rodzin pszczelich na działaniu preparatu, w stosunku do całkowitej populacji roztoczy stwierdzonej w rodzinach po aplikacji preparatu VarroMed i kontrolnego

Lp. rodziny	A*	B**	C***	D****	E***
1.	7,9	28,8	549	47,0	132
2.	12,2	49,1	837	58,5	27
3.	23,5	58,1	319	59,7	56
4.	32,4	65,4	839	77,3	60
5.	34,2	65,8	226	88,4	14
6.	37,6	66,4	310	95,2	1
7.	37,8	72,2	648	97,9	2
8.	42,1	73,3	231	99,1	1
9.	42,2	77,0	851	100,0	0
10.	74,4	94,9	102	100,0	0
Suma			4912		293
Średnia	34,4	65,1	491,2	82,3	29,3

* odsetek roztoczy usuniętych z rodzin podczas 3 aplikacji VarroMed w sierpniu

** odsetek roztoczy usuniętych z rodzin podczas 5 aplikacji VarroMed w sierpniu

*** liczba roztoczy, które osypały się po zastosowaniu preparatu kontrolnego

**** odsetek roztoczy usuniętych z rodzin podczas 1 aplikacji VarroMed w listopadzie

TABELA 4

Całkowita populacja roztoczy *V. destructor* w rodzinach pszczelich w dwóch kolejnych latach, określona na podstawie sumy martwych pasożytów osypanych po wszystkich zabiegach leczniczych i kontrolnych

Statystyka opisowa populacji <i>V. destructor</i>	2018 <i>N</i> = 20	2019 <i>N</i> = 30
Min.	57	121
Maks.	5592	9150
Średnia	1894	1799
Mediana	1487	1204
Suma z <i>N</i>	37 889	53 844

Populacja roztoczy w odkładach była najniższa, ale wahała się od 158 do 2010 (średnio 885); w rodzinach, z których utworzono odkłady, pasożytowało od 121 do 9150 roztoczy (średnio 1900); natomiast w rodzinach, z których nie wykonano odkładów, stwierdzono od 567 do 7931 pasożytów (średnio 2398) (tab. 5). Wykazane różnice nie były jednak istotne statystycznie ($p = 0,263$). Mniej roztoczy było także w grupie rodzin, w których wystąpiła, trwająca minimum 3 tygodnie, przerwa w czerwieniu matek pszczelich (średnio 1036 roztoczy), w porównaniu z rodzinami, w których matki czerwily bez przerwy

(średnio 2301 roztoczy), aczkolwiek i w tych grupach rodzin liczebność populacji roztoczy nie różniła się istotnie ($p = 0,058$) (tab. 6).

TABELA 5

Całkowita populacja *V. destructor* w odkładach utworzonych w maju 2019 roku w rodzinach macierzystych, z których zabrano plastry z czerwem, oraz w rodzinach, z których nie zabierano plastrów z czerwem i pszczołami, określona na podstawie sumy martwych pasożytów osypanych po wszystkich zabiegach

Statystyka opisowa populacji <i>V. destructor</i>	Odkłady $N = 9$	Rodziny, z których w maju zabrano po 2 plastry z czerwem krytym i pszczołami do odkładów $N = 9$	Rodziny, z których nie zabrano plastrów z czerwem ani pszczoł $N = 12$
Min.	158	121	567
Maks.	2010	9150	7931
Średnia	885	1900	2398
Mediana	771	866	1831

TABELA 6

Całkowita populacja roztoczy *V. destructor* w rodzinach, w których wystąpiła przerwa w czerwieniu matek, i w rodzinach, w których matki czerwiły bez przerwy, określona na podstawie sumy martwych pasożytów osypanych po wszystkich zabiegach

Statystyka opisowa populacji <i>V. destructor</i>	Rodziny, w których przerwa w czerwieniu matek wyniosła ponad 3 tygodnie $N = 12$	Rodziny z matkami czerwiącymi bez przerwy $N = 18$
Min.	158	121
Maks.	2010	9150
Średnia	1036	2301
Mediana	821	1530

Dyskusja

Wyniki badań prowadzonych w warunkach pasiecznych są oczekiwane przez całe środowisko pszczelarskie, ponieważ przedmiotowa wiedza pozwala w razie potrzeby korygować dotychczasowy sposób prowadzenia zabiegów warroabójczych w ciągu całego sezonu. Uzyskane rezultaty nie napawają jednak optymizmem. Skuteczność nowego produktu leczniczego PolyVar Yellow® okazała się niższa niż Biowaru, mimo dłuższego okresu ochrony rodzin. O ile w roku 2018 skuteczność zabiegów w większości rodzin przekroczyła 90%, pomimo iż preparat podano rodzinom w terminie późniejszym niż zalecany, o tyle podczas następnego sezonu, w którym okres ochrony rodzin trwał 3 miesiące, tylko w jednej rodzinie odsetek osypanych roztoczy przekroczył 90% populacji. W obydwu badanych latach w rodzinach leczonych PolyVarem pozostało średnio ponad 200

pasożytów. Tak duża ich liczba stwarza wysokie ryzyko szybkiego przyrostu populacji w następnym sezonie i uzyskania poziomu inwazji określanego jako próg szkodliwości już w maju [5]. Dużej trudności nastrocza wytłumaczenie przyczyny widocznych różnic w dynamice osypywania się roztoczy w 2018 i 2019 roku. Zwłaszcza jeśli weźmie się pod uwagę, że warunki atmosferyczne panujące podczas ekspozycji pszczoł na lek były w obydwu badanych latach zbliżone, w podobnym stopniu umożliwiały więc pszczołom zachowanie aktywności lotnej, niezbędnej do kontaktu z substancją czynną zawartą w paskach. Badacze nadal próbują znaleźć odpowiedź na to pytanie. Skuteczność PolyVaru ocenianego w warunkach pasiecznych panujących w kraju okazała się niższa od uzyskanej w rodzinach butujących w Holandii, gdzie populacja roztoczy została zredukowana o 99,9% [12].

Wyniki oceny skuteczności zabiegów nakrapiania preparatu VarroMed są zbliżone do efektów stwierdzonych przy dotychczasowym sposobie aplikacji wodnego roztworu kwasu szczawowego w syropie cukrowym bądź w postaci preparatu BeeVital Hive Clean [13, 14]. Wykonanie latem maksymalnej liczby zalecanych zabiegów w rodzinach z dużą ilością czerwiu jest niewystarczające do obniżenia populacji pasożytów do poziomu bezpiecznego dla rodzin pszczelich, a w związku z tym konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych zabiegów.

Wyniki oceny skuteczności preparatu Biowar potwierdziły rezultaty wcześniejszych badań [15, 16]. Po kilkunastu latach stosowania Biowaru w pasiekach we wszystkich przeprowadzonych ocenach charakteryzował się wysoką i wyrównaną skutecznością. Po raz pierwszy jednak odnotowano inną dynamikę w osypywaniu się roztoczy. Podobnie jak w przypadku PolyVaru, tak i w grupie rodzin leczonych Biowarem odsetek roztoczy, jaki ginął w kolejnych tygodniach, był niski, przez co redukcja populacji roztoczy do końcowego poziomu trwała długo.

Przedstawione wyniki budzą niepokój również ze względu na zaobserwowany wysoki poziom inwazji roztoczy w latach badań, mimo tego, że od kilku lat w pasiece prowadzone jest bardzo restrykcyjne zwalczanie pasożytów w ramach monitorowania skuteczności produktów leczniczych weterynaryjnych. W badaniach tego typu, poza ocenianym lekiem, stosowane są preparaty kontrolne, których aplikacja trwa do czasu, kiedy w szufladkach dennicowych nie znajduje się martwych pasożytów. Oznacza to bowiem, że w rodzinach zniszczona została niemal cała populacja roztoczy, co dodatkowo zostało zweryfikowane obserwacją liczby roztoczy osypanych w okresie zimowania (ocena naturalnej śmiertelności pasożytów). Opisywany dotychczas cykl rozwojowy pasożyta nie tłumaczy tak dużego przyrostu populacji roztoczy w ciągu sezonu [5, 17]. Przypuszczenie, że przyrost ten jest głównie wynikiem napływu pasożytów z innych pasiek (reinwazja), wymaga weryfikacji dotychczasowej wiedzy na temat biologii tego gatunku roztoczy.

Wnioski

Intensywne zwalczanie roztoczy *V. destructor*, w którego wyniku populacja pasożyta w zimujących rodzinach ogranicza się do pojedynczych osobników, nie zapewnia utrzymania niskiego poziomu inwazji we wszystkich rodzinach w następnym sezonie pszczelarskim. Poza liczbą pasożytów usuniętych podczas zabiegów przeciwwarrozowych istotnym wskaźnikiem ich skuteczności jest także liczba roztoczy, które pozostają w rodzinach. W rodzinach silnie porażonych nawet wysoka skuteczność aplikowanych preparatów leczniczych nie gwarantuje wystarczającej ochrony, ponieważ liczba roztoczy, które pozostają w rodzinach pszczelich, spowoduje szybki przyrost populacji pasożytów w następnym sezonie. Zabiegi z zakresu gospodarki pasiecznej skutkujące okresowym brakiem czerwiu oraz podziałem rodzin powodują istotnie niższy przyrost populacji roztoczy w sezonie, a tym samym zwiększają efektywność zabiegów przeciwwarrozowych. Zróżnicowanie skuteczności warroabójczej leczniczych produktów weterynaryjnych w ciągu dwóch lat badań wskazuje na konieczność stałego monitorowania liczby roztoczy w rodzinach pszczelich. Wysoki poziom inwazji *V. destructor* stwierdzany w kolejnych latach, pomimo corocznych, intensywnych i długookresowych zabiegów, skłania do weryfikacji dotychczasowego stanu wiedzy o biologii pasożyta. Wyniki przedstawione w pracy powinny zostać uwzględnione przez pszczelarzy praktyków przy planowaniu zwalczania roztoczy w sezonie.

Wykaz cytowanej literatury

1. Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol Evol.* 2010; 25: 345–353.
2. Goulson D, Lye GC, Darvill B. Decline and conservation of bumble bees. *Annu Rev Entomol.* 2008; 53: 191–208.
3. Anderson DL, Trueman JWH. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp Appl Acarol.* 2000; 24: 165–189.
4. Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery JD, Cohen A, van Engelsdorp D. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019; 116: 1792–1801.
5. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol.* 2010; 103: 96–119.
6. Korpela S, Aarhus A, Fries I, Hansen H. *Varroa jacobsoni* Oud. in cold climates: population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *J Apic Res.* 1992; 31: 157–164.


7. Le Conte Y, Ellis M, Ritter W. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses. *Apidologie* 2010; 41: 353–363.
8. Pohorecka K, Skubida M, Bober A, Zdańska D. Podsumowanie wyników pięcioletniego monitoringu stanu zdrowotnego rodzin pszczoł w krajowych pasiekach. Materiały z 56 Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Kazimierz Dolny, 5–6 marca 2019, s. 47–49.
9. Bąk B, Wilde J, Siuda M. Efficiency of *Varroa destructor* management with medications used in Poland. *Med Wet.* 2013; 69(12): 744–748.
10. Maggi MD, Ruffinengo SR, Negri P, Eguaras MJ. Resistance phenomena to amitraz from populations of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* of Argentina. *Parasitol Res.* 2010; 107(5): 1189–1192; URL: <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1986-8>.
11. Rinkevich FD. Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the Varroa Mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. *PLOS ONE* 2020; 15(1): e0227264; URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227264>.
12. Blacquièrè T, Altreuther G, Krieger KJ. Evaluation of the efficacy and safety of flumethrin 275 mg bee-hive strips (PolyVar Yellow®) against *Varroa destructor* in naturally infested Honey bee colonies in a controlled study. *Parasitol Res.* 2017; 116: 109–122.
13. Rademacher E, Harz M, Schneider S. Effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Insects* 2017; 8: 84; URL: <https://doi.org/10.3390/insects8030084>.
14. Pohorecka K, Węgrzynowicz P, Geruła D, Panasiuk B. Beevital Hive Clean – wpływ na *Varroa destructor* i rodzinę pszczoł. Materiały z 51 Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, 11–12 marca 2009, s. 81–83.
15. Chuda-Mickiewicz B, Prabucki J, Samborski J, Rostecki P. Evaluation of varroacidal efficacy of Biowar preparation. *J Apic Sci.* 2007; 46: 47–53.
16. Semkiw P, Skubida P, Pohorecka K. The amitraz strips efficacy in control of *Varroa destructor* after many years application of amitraz in apiaries. *J Apic Sci.* 2013; 57(1): 107–121.
17. Frey E, Rosenkranz P. Autumn invasion rates of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) into honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies and the resulting increase in mite populations. *J Econ Entomol.* 2014; 107: 508–515; URL: <https://doi.org/10.1603/EC13381>.



Zwalczanie roztoczy *Varroa destructor* za pomocą pułapek Müllera*

Eliminating *Varroa destructor* using the Müller board

DAWID BUCHALIK^{1*}  <https://orcid.org/0000-0001-6457-7376>

MACIEJ SIUDA¹  <https://orcid.org/0000-0002-1903-8688>

JERZY WILDE¹  <https://orcid.org/0000-0002-3137-7957>

¹ Katedra Pszczelnictwa, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

ul. Słoneczna 48, 10-957 Olsztyn

* Autor do korespondencji: dawid.buchalik@uwm.edu.pl

STRESZCZENIE | Coraz częściej w pszczelarstwie poszukuje się nowych metod walki z roztoczami *Varroa destructor*. Pułapka Müllera jest jedną z nich, umożliwia zwalczanie roztoczy od maja do lipca. Celem pracy było zbadanie skuteczności pułapki Müllera w walce z warrozą oraz sprawdzenie jej wpływu na rodzinę pszczelą.

Badanie prowadzono na 16 rodzinach pszczelich. Rodziny pszczele zostały podzielone na dwie grupy. W pierwszej pułapka została umieszczona między gniazdem a miodnią, zaś w grupie drugiej (kontrolnej) zamiast pułapki zastosowano kratę odgradową. Co dwa tygodnie przenoszono plastry z zasklepionym czerwem z gniazda do miodni. Roztocza, które wydostały się z komórek pszczelich wraz z wygryzającymi się pszczołami, starały się przedostać do gniazda, a pułapka Müllera miała za zadanie im to uniemożliwić.

Wykazano brak statystycznie istotnych różnic między grupą badaną a kontrolną w przypadku porażenia czerwem i pszczoł. Podczas pierwszego miodobrania stwierdzono istotnie obniżoną ($p < 0,05$) wydajność miodową rodzin, które posiadały pułapkę, w stosunku do rodzin bez pułapki. W grupie badanej nad pułapką zawsze pojawiały się mateczniki ratunkowe, które należało usuwać z plastrów.

SŁOWA KLUCZOWE | *Varroa destructor*, pułapka Müllera, pułapka na roztocza, warroza, zwalczanie roztoczy

ABSTRACT | In apiculture, there is a constant search for new methods of fighting the *Varroa destructor* dust mites. The Muller board enables fighting the dust mites at the beginning of the beekeeping season. The purpose of this study was to examine the efficiency of the Muller board in fighting the varroasis and to evaluate its influence on a bee colony.

The study was conducted on 16 bee colonies which were divided into two groups. In the first group, the mites trap board was placed between the nest and the honey super. In the second

* Badania sfinansowano w ramach projektu DLA MŁODYCH NAUKOWCÓW, nr tematu: 11.620.037–300.

(control) group, the queen excluder was put between the nest and the honey super. Every two weeks honeycombs were taken from the nest together with maggots to the honey super. The mites that succeeded to leave the bee cells together with the bees that are biting out both want to enter the nest – the mites trap board is to prevent them from doing so.

According to the research, there are no statistically important differences between the examined group and the control group when it comes to the infestation of maggots and bees. During the first honey harvest, there was a visible decrease in efficiency ($p < 0.05$) of colonies protected with the mites trap, compared to the colonies where the trap was not placed. In the examined group that was protected with the trap, the appearance of rescue beehive nurseries was recorded. They had to be extracted from the honeycombs.

KEYWORDS | *Varroa destructor*, Muller board, mites trap board, varroasis, fighting mites

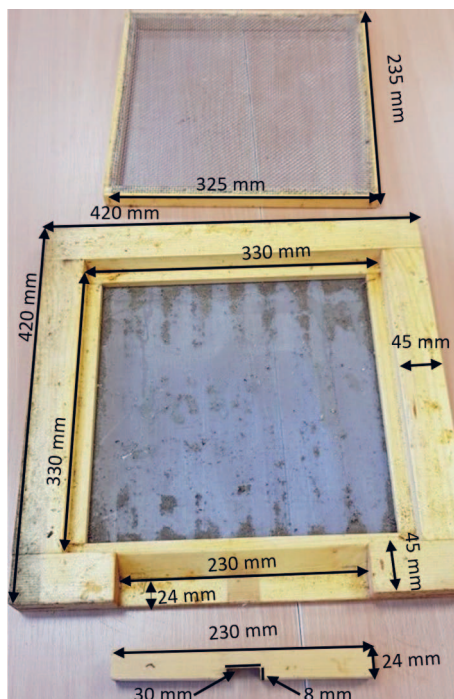
Wprowadzenie

Coraz częściej roztocza *Varroa destructor* wykazują oporność na powszechnie stosowane akarycydy [4, 15]. Chemiczne i organiczne metody walki z tymi pasożytami mogą również negatywnie wpływać na pszczoły i ich czerw [9, 11, 12]. Aby zmniejszyć zużycie akarycydów i uniknąć gromadzenia się ich pozostałości w produktach pszczelich, pszczelarze coraz częściej poszukują alternatywnych metod zwalczania roztoczy *Varroa destructor*, takich jak kwasy organiczne i olejki eteryczne [10, 14]. Stosowanie olejków eterycznych i kwasów organicznych w celu wyeliminowania ryzyka wykształcenia oporności u roztoczy *Varroa* oraz zmniejszenia pozostałości akarycydów w produktach pszczelich daje różne wyniki [21].

Wykorzystanie kwasu szczawiowego jako środka do zwalczania roztoczy *Varroa* było szeroko badane. Skuteczność stosowania kwasu szczawiowego w rodzinach z czerwiem waha się między 39% a 50%, zaś w rodzinach bez czerwiu sięga nawet 99% [7, 8]. Skuteczność kwasu szczawiowego została potwierdzona obserwacjami w różnych warunkach klimatycznych, okazała się ona mniejsza w rodzinach z czerwiem [1, 17]. Przeciwno roztoczom *Varroa* powszechnie stosuje się również kwas mrówkowy [19]. Wpływa on na roztocza, które znajdują się na pszczołach i w zasklepionych komórkach czerwiu. Dzięki temu może być stosowany do zwalczania roztoczy w rodzinach, w których znajduje się czerw. Tymol jest substancją lotną, monoterpemoidem oraz naturalnym składnikiem tymianku (*Thymus vulgaris*), który jest szeroko stosowany w leczeniu rodzin pszczelich i zwalczaniu roztoczy [3, 6, 13]. Jednym z preparatów zawierających tymol jest Thymovar [16].

Do mechanicznych metod walki z roztoczami *Varroa* wykorzystuje się izolator Chmary, który stosuje się najczęściej w maju i czerwcu [21]. Kolejną biomechaniczną metodą walki z roztoczami jest pułapka Müllera, którą skon-

struował Christian Schmid. Pułapkę umieszcza się między gniazdem a miodnią. Metoda ta polega na przeniesieniu plastrów z czerwiem krytym z gniazda do miodni. Z plastrów tych wraz z wygryzającymi się pszczołami wydostają się również roztocza *Varroa*. Zadaniem pułapki jest wyłapywanie pasożytów, które starają się przedostać z miodni do gniazda. Podobnie jak izolator Chmury, stosuje się ją w okresie produkcyjnym, co zdecydowanie wydłuża czas, w jakim pszczelarze mogą walczyć z roztoczami. Izolator Chmury ma za zadanie przetrwać czerwienie matki pszczelej i doprowadzić do naturalnej śmierci roztocza *Varroa* [20]. Z kolei zasada działania pułapki jest następująca. Plastry z zasklepionym czerwiem przenosi się z gniazda do miodni znajdującej się nad pułapką. Roztocza, które wychodzą z komórek plastra po wygryzieniu się pszczół, kierują się z powrotem do gniazda, gdzie znajduje się czerw otwarty. Siatka o średnicy oczek 2 mm pozwala roztoczom przejść do pszczół znajdujących się nad pułapką, siatka jest odpowiednikiem dna ula. Kolejna siatka o średnicy oczek 0,2 mm uniemożliwia roztoczom przejście do gniazda. Roztocza zostają uwięzione między siatkami (ryc. 1).



Ryc. 1. Budowa pułapki Müllera; fot. D. Buchalik

Celem pracy było sprawdzenie skuteczności pułapek Müllera w wyłapywaniu roztoczy *Varroa*. Zbadano ponadto wpływ stosowania pułapek na wydajność miodową rodzin pszczelich.

Materiał i metody

Stanowiska badawcze

Skuteczność pułapek na roztocza *Varroa* badano w pasiece Katedry Pszczelnictwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Doświadczenie rozpoczęto 30 maja, a zakończono 23 lipca 2019 roku.

Metody

W badaniu wykorzystano pułapkę na roztocza *Varroa destructor* projektu Müllera. Jej budowa dostosowana była do budowy ula wielokorpusowego i składała się z drewnianej ramy nałożonej na korpus gniazdowy (ryc. 2). Na ramie umieszczono kolejny korpus, który stanowił miodnię. Do ramy przymocowana była siatka o średnicy oczek 0,2 mm. W drewnianej ramie osadzono kolejną mniejszą ramę wyposażoną w siatkę o średnicy oczek 2 mm (ryc. 3). Pułapka posiadała wylot wykonany z drewnianej belki (ryc. 4).



Ryc. 2. Pułapka Müllera na roztocza *Varroa destructor* dostosowana do wielkości ula; fot. D. Buchalik

Badanie prowadzone było na 16 rodzinach pszczelich, które podzielono na dwie grupy. W pierwszej – wyposażonej w pułapki na roztocza – co 14 dni przenoszono plastry z zasklepionym czerwiem z gniazda do korpusu znajdującego się nad pułapką. W grupie drugiej plastry z zasklepionym czerwiem przenoszono nad winidurówą kratę odgradową.

W obu grupach co 7 dni kontrolowano roztocza opadłe na wkładki umieszczone w dennicy. W tym czasie sprawdzano liczbę roztoczy, które opadły na



Ryc. 3. Pułapka na roztocza znajdująca się między gniazdem rodziny pszczelej a miodnią; fot. D. Buchalik



Ryc. 4. Wylot pułapki; fot. D. Buchalik

pułapkę Müllera. Podczas kontroli pułapek i wkładek wykonywano również przegląd rodzin i usuwano powstałe mateczniki.

W trakcie doświadczenia z każdej rodziny pszczelej 4 razy pobrano wycinek czerwiu 5×5 cm w celu oceny jego porażenia roztoczymi. W dniu zakładania i ściągania pułapek Müllera pobrano również próby pszczoł do

oceny porażenia rodzin roztoczami. Próby pszczoł przebadano metodą flotacji, określając ekstensywność porażenia.

Podczas doświadczenia przeprowadzono dwa miodobrnięcia i oceniono wpływ stosowania pułapek na wydajność miodową.

Po zakończeniu doświadczenia 23 lipca 2019 roku kontynuowano obserwacje rodzin pszczelich do 21 października 2019 roku. W badanych rodzinach wykonano zabiegi przeciwko roztoczom *Varroa destructor* 16 sierpnia 2019 roku.

Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica™ (data analysis software system). Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Rozkład cech określono za pomocą zmodyfikowanego testu *t*, natomiast istotność różnic obliczono, wykorzystując wielokrotny test rozstępu Duncana. Obliczono istotność różnic między liczbą złapanych roztoczy *Varroa* a liczbą roztoczy opadłych na dno ula oraz porównano wydajność miodową obydwu grup.

Wyniki

Podczas doświadczenia zebrano 74 roztocza, które znaleziono na wkładkach znajdujących się w dennicy obu grup. W pułapkach Müllera znaleziono 409 roztoczy.

Liczba pasożytów opadłych na wkładki w dennicy ula rodzin z badanej grupy wyniosła 31 sztuk, natomiast w grupie kontrolnej były to 43 sztuki. Różnice między grupami były statystycznie istotne (tab. 1). Natomiast porównując liczbę roztoczy złapanych w pułapki Müllera (409 roztoczy), liczbę roztoczy opadłych na dno ula w grupie badanej oraz w grupie kontrolnej, nie wykazano różnic statystycznych (tab. 2).

TABELA 1

Roztocza opadłe na podkładki znajdujące się w dennicy ula

Grupa	Liczba rodzin	Średnie	Odch. st.
1. (z pułapką)	8	17,3A	10,6
2. (kontrolna)	8	31,5B	7,9
Ogółem	16	24,4	11,6

A, B – oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy średnimi z grup przy $p > 0,01$

TABELA 2

Roztocza złapane w pułapce i opadłe na dno ula			
Grupa	Liczba rodzin	Średnie	Odch. st.
1.a – roztocza opadłe na dno ula	8	3,9	4,5
1.b – roztocza złapane w pułapce	8	51,1	106,3
2. – roztocza opadłe na dno ula	8	5,4	5,0
Ogółem	24	20,1	62,9

Po zakończeniu użytkowania pułapek Müllera zastosowano akarycydy. Leczenie rozpoczęto 16 sierpnia 2019 roku i dalej sprawdzano liczbę opadających roztoczy. Obserwacje zakończono 21 października 2019 roku. W grupie pierwszej na podkładkę w dennicy opadło 3424 roztocza, zaś w grupie kontrolnej – 4366 (tab. 3).

TABELA 3

Roztocza opadłe na podkładki po zakończeniu doświadczenia			
Grupa	Liczba rodzin	Średnia	Odch. st.
1. (z pułapką)	8	416,12	222,82
2. (kontrolna)	8	530,0	271,80
Ogółem	16	473,06	247,19

W trakcie doświadczenia cztery razy skontrolowano porażenie pszczoł. W grupie badanej pszczoły pobierano pod oraz nad pułapką Müllera. Analiza wyników nie wykazała statystycznie istotnych różnic między grupami (tab. 4).

TABELA 4

Porażenie pszczoł			
Grupa	Liczba rodzin	Średnie	Odch. st.
1.a – pszczoły pod pułapką	32	3,1	5,5
1.b – pszczoły nad pułapką	24	1,0	2,0
2. (kontrolna)	32	3,1	5,4
Ogółem	88	2,5	4,8

W celu oceny porażenia czerwii pszczelego trzykrotnie pobrano próby z badanych rodzin pszczelich. Przebadano 11 601 komórek pszczelich, w których znaleziono 44 roztocza. Analiza statystyczna nie wykazała statystycznie istotnych różnic między badanymi grupami (tab. 5).

TABELA 5

Porażenie czerwiu			
Grupa	Liczba rodzin	Średnie	Odch. st.
1. (z pułapką)	32	0,4	0,9
2. (kontrolna)	32	0,3	0,7
Ogółem	64	0,3	0,8

W pasiece dwukrotnie przeprowadzono miodobranie. Podczas pierwszego, które odbyło się 15 czerwca, z rodzin pszczelich znajdujących się w badanej grupie pozyskano 63 kg miodu, natomiast z rodzin kontrolnych zebrano 140 kg. Różnice między grupami były statystycznie istotne. Kolejne miodobranie wykonano 23 lipca. Z grupy pierwszej uzyskano 75 kg miodu, natomiast z grupy kontrolnej – 112 kg. Różnice między grupami nie były statystycznie istotne. Po ostatnim miodobraniu usunięto pułapki z grupy pierwszej (tab. 6).

TABELA 6

Produkcja miodu				
Grupa	Liczba rodzin	Pierwsze miodobranie	Drugie miodobranie	Razem odch.st.
1. (z pułapką)	8	7,9A	9,4±	17,3A ±10,6
2. (kontrolna)	8	17,5B	14,0±	31,5B ±7,9
Ogółem	16	12,7	11,7±	24,4 ±11,6

A, B – oznaczają różnice istotne statystycznie pomiędzy średnimi z grup przy $p > 0,01$

Podczas kontroli zaobserwowano powstawanie mateczników ratunkowych nad pułapką w grupie badanej. Zauważono również, że pszczoły znajdujące się nad pułapką chętnie wracały do rodziny pszczelej przez wylot znajdujący się w dennicy, co doprowadziło do braku pszczół nad pułapką w dwóch rodzinach. Problem ten znikł w momencie pojawienia się nowego pokolenia pszczół nad pułapką.

Dyskusja

Pułapkę Müllera stosuje się od maja do lipca, w czasie rozwoju rodzin pszczelich oraz pożytku. W tym okresie w rodzinach pszczelich dochodzi do namnażania się roztoczy [18]. Stosowanie kwasu szczawowego jest skuteczne w rodzinach bezczerwionych [7, 8].

Używane do walki z roztoczami olejki eteryczne, takie jak Thymovar, nie mogą być wykorzystywane w rodzinach pszczelich przed miodobraniem oraz

w jego trakcie [5], natomiast w stosunku do pułapki Müllera nie ma takich ograniczeń.

Stosowanie izolatora Chmary daje lepsze rezultaty w walce z warrozą niż pułapki Müllera. Jednak zarówno izolator Chmary, jak i pułapka Müllera zmniejszają wydajność miodową rodzin pszczelich [20].

Badając ekstensywność porażenia pszczoł, zauważyć można, że utrzymuje się ono na tym samym poziomie u pszczoł znajdujących się pod pułapką w grupie badanej i w grupie kontrolnej. Porażenie pszczoł nad pułapką jest niższe. Wyniki doświadczenia z 2018 roku pokazują, że 3,86% z 2480 złapanych roztoczy było żywych [2]. Na podstawie tych obserwacji można przypuszczać, iż roztocza opuszczały korpus nad pułapką wraz z pszczołami i wracały z nimi do rodni. Przypuszczenie to mogą potwierdzić obserwacje, podczas których zauważono, że pszczoły opuszczały korpus nad pułapką i wracały do rodziny przez wylot znajdujący się w dennicy ula.

W trakcie kontroli porażenia czerwiu analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic. Zdaje się to potwierdzać wysunięte wcześniej przypuszczenie, że pszczoły wracające do rodziny wchodziły głównym wylotem, przenosząc roztocza.

Wyniki pierwszego i drugiego miodobrania różniły się istotnie statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Oddzielenie miodni od rodni pułapką spowodowało, że pszczoły z miodni wylatywały wylotem znajdującym się w pułapce i wracały do rodziny pszczelej wylotem znajdującym się w dennicy. Powodowało to znaczny ubytek pszczoł nad pułapką. Było to również przyczyną niskiej wydajności miodowej rodzin badanej grupy z pułapką Müllera. Sukcesywne przenoszenie plastrów z rodni do miodni oraz wygryzające się młode pszczoły spowodowały poprawę wyniku podczas drugiego miodobrania w grupie pierwszej.

Biorąc pod uwagę ekstensywność porażenia pszczoł oraz czerwiu, mimo różnic w liczbie roztoczy opadłych na wkładki znajdujące się w dennicy ula, należy uznać pułapki Müllera na roztocza *Varroa destructor* za nieskuteczne. Stosowanie pułapki znacznie pogarsza wydajność miodową rodzin pszczelich podczas pierwszego miodobrania w stosunku do rodzin bez pułapki, co negatywnie wpływa na wyniki ekonomiczne produkcji.

Wnioski

Użycie pułapek zwiększa czasochłonność pracy z rodzinami pszczelimi ze względu na licznie powstające mateczniki ratunkowe na plastrach z przeniesionym czerwiem nad pułapkę.

Stosowanie pułapek Müllera przeciwko roztoczom *Varroa destructor* jest mało skuteczne. Być może modernizacja budowy pułapki w przyszłości polepszy jej skuteczność w walce z roztoczami *Varroa*.

Wykaz cytowanej literatury

1. Floris I, Cabras P, Garau VL, Minelli EV, Satta A, Troullier J. Persistence and effectiveness of pyrethroids in plastic strips against *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and mite resistance in a Mediterranean area. *J Econ Entomol.* 2001; 94: 806–810.
2. Miozes-Koch R, Slabezki Y, Efrat H, Kalev H, Kamer Y, Yakobson DA. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the varroa mite using bioassay and biochemical methods. *Exp Appl Acarol.* 2000; 24: 35–43.
3. Gregorc A, Pogačnik A, & Bowen ID. Cell death in honey bee (*Apis mellifera*) larvae treated with oxalic or formic acid. *Apidologie* 2004; 35: 453–460.
4. Gregorc A, Smodiš Škerl MI. Toxicological and immunohistochemical testing of honey bees after oxalic and rotenone treatments. *Apidologie* 2007; 38: 296–305.
5. Haarmann T, Spivak M, Weaver D, Weaver B, Glenn T. Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. *J Econ Entomol.* 2002; 95: 28–35.
6. Gregorc A, Poklukar J. Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal treatments for *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Vet Parasitol.* 2003; 111: 351–360.
7. Melathopoulos AP, Gates J. Comparison of two thymol-based acaricides, Api Life Var® and Apiguard™, for the control of varroa mites. *Am Bee J.* 2003; 43: 489–493.
8. Siuda M, Wilde J, Bąk B. Zwiększenie efektywności zwalczania *Varroa* poprzez okresowe ograniczenie czerwienia matki w izolatorze Chmary. 55 Naukowa Konferencja Pszczelarska, Kazimierz Dolny, 6–7 marca 2018, s. 51–52.
9. Gregorc A, Planinc I. Acaricidal effect of oxalic acid in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 2001; 32: 333–340.
10. Gregorc A, Planinc I. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. *Vet J.* 2002; 163: 306–310.
11. Brødsgaard CJ, Jansen SE, Hansen CW, Hansen H. Spring treatment with oxalic acid in honey bee colonies as varroa control. *DIAS Report Horticulture* 1999; 6: 16.
12. Nanetti A, Massi A, Mutinelli F, Cremasco S. L'acido ossalico nel controllo della varroasi: Note preliminary (Control of varroa with oxalic acid, preliminary notes). *Apitalia* 1995; 22: 29–32.
13. Satta A, Floris I, Eguaras M, Cabras P, Garau VL, Melis M. Formic acid based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean area. *J Econ Entomol.* 2005; 98: 267–270.
14. Fassbinder C, Grodnitzky J, Coats J. Monoterpenoids as possible control agents for *Varroa destructor*. *J Apic Res.* 2002; 41: 83–88.

15. Gregorc A, Jelenc J. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies using Apilife-Var. Zbornik Veterinarske fakultete – Univerza Ljubljana 1996; 33: 231–235.
16. Imdorf A, Bogdanov S, Ibanezchoa R, Calderone N. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* (Oud.) in honey bee colonies. Apidologie 1999; 30: 209–228.
17. Mutinelli F, Baggio A, Capolongo F, Piro R, Prandin L, Biasion L. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. Apidologie 1997; 28: 461–462.
18. Schmid C. Biotechnische Behandlung der Bienenvölker gegen die Varroamilbe; URL: <https://www.bienenschmid.at/varroa-bek%C3%A4mpfung-mit-mullerbrett/> (dostęp: 21.10.2020).
19. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of *Varroa destructor*. J Invertebr Pathol. 2010; 103: 96–119.
20. Gregorc A, Adamczyk J, Kapun S, Planinc I. Integrated varroa control in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies with or without brood. J Apic Res. 2016; 55(3): 253–258.
21. Buchalik D, Siuda M, Wilde J. Zastosowanie pułapek Müllera na roztocza *Varroa destructor*. 56 Naukowa Konferencja Pszczelarska, Kazimierz Dolny, 5–6 marca 2019, s. 38–39.



Badania nad występowaniem *Acarapis woodi* w Polsce*

Studies on the occurrence of *Acarapis woodi* in Poland

ANDRZEJ BOBER^{1*}  <https://orcid.org/0000-0001-6664-099X>

MARTA SKUBIDA¹  <https://orcid.org/0000-0002-9959-443X>

KRYSTYNA POHORECKA¹  <https://orcid.org/0000-0003-3987-6141>

¹Zakład Chorób Pszczół, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

* Autor do korespondencji: andrzej.bober@piwet.pulawy.pl

STRESZCZENIE | *Acarapis woodi* jest czynnikiem etiologicznym choroby roztoczowej pszczoł zwanej również akarapidozą. W Polsce od 1988 roku nie odnotowano ani jednego przypadku akarapidozy, w związku z czym zaprzestano dalszego prowadzenia rutynowych badań w tym kierunku. W kontekście ponownego stwierdzenia inwazji *A. woodi* w Europie celowe było przeprowadzenie aktualnej oceny sytuacji epizootycznej w zakresie występowania tego gatunku roztoczy w krajowych pasiekach. Do przedmiotowej oceny pobrano próbki pszczoł robotnic pochodzące z pasiek zróżnicowanych pod względem wielkości, zlokalizowanych na terenie 16 województw. W latach 2018–2019 ogółem przebadano 224 próbki pszczoł. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem tzw. metody krążków tułowiowych, zwanej także metodą maceracji. W żadnej próbce nie stwierdzono występowania *Acarapis woodi*.

SŁOWA KLUCZOWE | *Apis mellifera*, *Acarapis woodi*, akarapidoza, sytuacja epizootyczna

ABSTRACT | *Acarapis woodi* is an aethiological factor of the acarine disease also called acarapisosis. Since 1988 in Poland there have been no incidents of acarapisosis, so routine diagnostics have no longer been performed. In light of the reappearance of *A. woodi* in Europe it was crucial to reassess the epizootic situation concerning the presence of its invasion in Poland. The aim of the study was an assessment of *A. woodi* infestation in Polish apiaries. For this purpose samples of worker bees from apiaries of different sizes, from all 16 voivodeships were collected. Between 2018 and 2019, 244 samples were inspected. The examination was performed using the thoracic discs method, also called the maceration method. *Acarapis woodi* was absent in all the examined samples.

KEYWORDS | *Apis mellifera*, *Acarapis woodi*, acarapisosis, epizootic situation

* Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu nr S/307.

Wprowadzenie

Akarapidoza (akarapisoza, akarioza, choroba roztoczowa, infestacja roztoczy tchawkowych) jest chorobą dorosłych osobników (matek pszczelich, pszczół robotnic i trutni) pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.) i innych pszczół z rodzaju *Apis* [1]. Choroba jest wynikiem inwazji roztoczy z gatunku *Acarapis woodi*, którego polska nazwa to świrdraczek pszczeli [2]. W literaturze anglojęzycznej roztocze określane są mianem „honey bee tracheal mites”, w skrócie HBTM. Roztocz ma w przybliżeniu 150 μm i jest wewnętrznym pasożytem układu oddechowego, żywi się hemolimfą i rozwija głównie w tchawkach. Negatywne oddziaływanie pasożyta na organizm zainfekowanej pszczoły jest wypadkową kilku czynników, z których wymienić należy częściowe lub nawet całkowite zatkanie tchawek na skutek obecności w nich pasożyta, uszkodzenie ścian tchawek mogące stanowić wrota dla zakażeń wirusowych czy w końcu wyczerpanie związane z utratą hemolimfy. Upośledzenie przepływu powietrza w układzie oddechowym pszczoły w znacznym stopniu obniża możliwość wymiany gazowej, niezwykle istotnej do właściwego funkcjonowania tkanek, w obrębie szczególnie ważnych dla pszczoły struktur, takich jak mięśnie skrzydeł czy układ nerwowy, prowadząc do zaburzeń w ich działaniu. Wyczerpanie pszczół sprzyja rozwojowi innych patogenów. Konsekwencją wymienionych procesów chorobowych jest skrócenie długości życia pszczoły [3].

Choroba, ze względu na możliwość jej globalnego szerzenia się i związane z tym niebezpieczeństwo dla rodzin pszczelich, jest przedmiotem międzynarodowych wytycznych i krajowych regulacji prawnych. Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt (OIE) w kodeksie zdrowia zwierząt lądowych wskazuje, że władze weterynaryjne krajów importujących pszczoły powinny wymagać przedstawienia międzynarodowego świadectwa weterynaryjnego potwierdzającego, że pszczoły miodne pochodzą z pasiek położonych w kraju lub strefie wolnej od akarapidozy lub z pasieki, która przynajmniej raz w roku poddawana jest badaniu klinicznemu, obejmującemu co najmniej 10% rodzin [4]. Badaniu takiemu winno także towarzyszyć pobieranie próbek do badań laboratoryjnych w kierunku wykrywania *A. woodi*, a ich wynik ma potwierdzać brak występowania pasożyta.

W Polsce – na mocy Ustawy o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt – choroba roztoczowa znajduje się w wykazie chorób zakaźnych zwierząt podlegających obowiązkowi rejestracji [5].

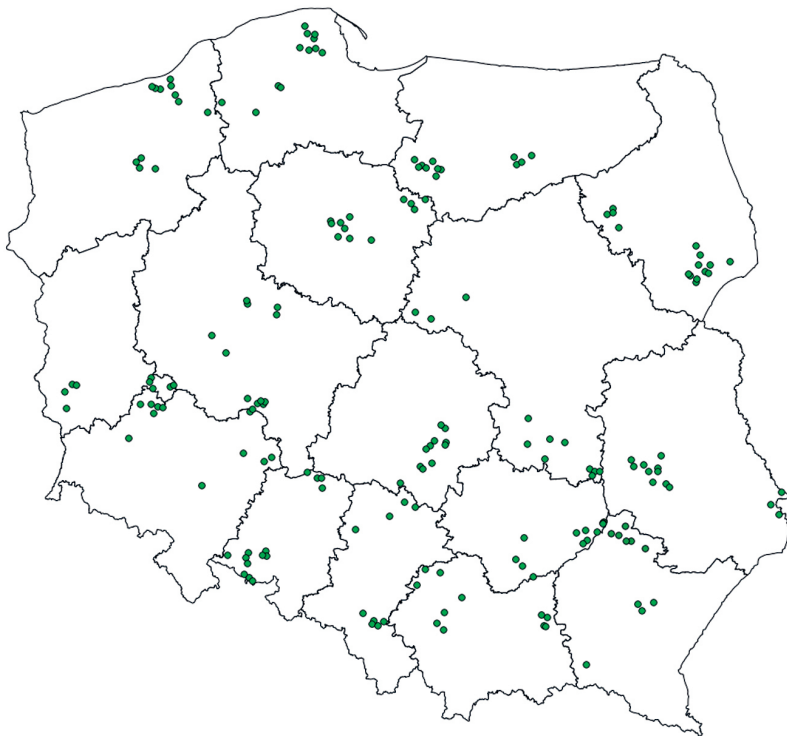
Analiza aktualnej sytuacji epizootycznej w Europie, przeprowadzona w oparciu o nieliczne doniesienia naukowe oraz informacje udostępniane przez OIE, wskazuje, że obecnie akarapidoza notowana jest sporadycznie w Portugalii, Hiszpanii, Francji, Wielkiej Brytanii, Finlandii oraz w Rosji [6, 7]. W Polsce ostatni przypadek akarapidozy odnotowano w 1988 roku, co zdeterminowało

zaprzestanie dalszego prowadzenia rutynowych badań w tym kierunku [8]. Pojawienie się inwazji *A. woodi* w wymienionych państwach oraz na obszarze Rosji sąsiadującym z województwami: warmińsko-mazurskim, pomorskim i podlaskim, czyni zasadne przeprowadzenie badań przesiewowych celem ponownej oceny sytuacji epizootycznej inwazji *Acarapis woodi* w Polsce.

Materiały i metody

Stanowiska badawcze

Badaniami objęto pasieki o różnej wielkości, zlokalizowane na terenie wszystkich regionów administracyjnych kraju, tj. województw (ryc. 1). W każdej pasiece próbki pszczoł robotnic pobierano z jednej, losowo wybranej rodziny pszczelej. Próbkę były pobierane w dwóch terminach: po okresie zimowania rodzin pszczelich bądź po zakończeniu okresu produkcyjnego.



Ryc. 1. Lokalizacja pasiek, z których pobrano próbki do badań (mapa wykonana w programie Quantum GIS, wersja 1.7.4)

Wykorzystane metody

Analizy laboratoryjne wykonano na próbkach liczących po 70 owadów celem wykrycia niskiego (5%) poziomu inwazji (z 95% wiarygodnością). Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem tzw. metody krążków tułowiowych (TDM – *Thoracic Disc Method*), zwanej także metodą maceracji [9]. Z każdego owada, stanowiącego składową próbkę, wypreparowywano krążek zawierający mięśnie tułowiowe i pierwszą parę tchawek. Następnie wypreparowane krążki umieszczano w próbówce, zalewano 10% KOH i gotowano w łaźni wodnej przez 30 minut w celu wytrawienia mięśni. Po procesie gotowania krążki przenoszono na sito i delikatnie przepłukiwano wodą destylowaną. W dalszej kolejności krążki przenoszono na płytki Petriego zawierające 20 ml wody destylowanej i oglądano z wykorzystaniem mikroskopu stereoskopowego Olympus SZX 16 (obiektywy: SDF PLAPO 0.5XPF, SDF PLAPO 1.6XPF). Każdy pień tchawkowy oglądano, stosując zmienne powiększenia od 63 do 115 razy.

Analiza statystyczna wyników

Nie prowadzono analizy statystycznej wyników.

Wyniki

Ogółem w latach 2018 i 2019 przebadano po 14 próbek z każdego województwa, co dało łączną liczbę 224 próbek. W żadnej z próbek nie stwierdzono obecności roztoczy *Acarapis woodi*.

Dyskusja

Brak występowania inwazji *A. woodi* w Polsce może wynikać z faktu corocznego wykonywania zabiegów przeciwwarzozowych. Do zwalczania inwazji roztoczy *Varroa destructor* stosowane są produkty lecznicze weterynaryjne zawierające substancje aktywne, na które wrażliwe są także roztocze *A. woodi*. Amitraz, tymol czy kwas mrówkowy były stosowane w terapii akarapidozy przed pojawieniem się roztoczy z gatunku *V. destructor*. Ponieważ publikacje dotyczące występowania *A. woodi* w Europie nie zawierają informacji dotyczących pro-

duktów leczniczych weterynaryjnych stosowanych na tych obszarach do zwalczania roztoczy *V. destructor*, trudno wyjaśnić przyczyny pojawienia się inwazji świrdraczka pszczelego [6, 10].

Wnioski

Na podstawie wyników badań przesiewowych można uznać, że roztocze *A. woodi* nie występują aktualnie w krajowych pasiekach, a zatem nie stanowią zagrożenia zdrowotnego dla populacji pszczoły miodnej w Polsce. Tym niemniej przedmiotowe badania powinny być okresowo powtarzane ze względu na bardzo duży potencjał szerzenia się chorób powodowanych przez pasożytnicze roztocze.


Wykaz cytowanej literatury

1. Kojima Y, Toki T, Morimoto T, Yoshiyama M, Kimura K, Kadowaki T. Infestation of Japanese Native Honey Bees by Tracheal Mite and Virus from Non-native European Honey Bees in Japan. *Microb Ecol.* 2011; 62: 895–906.
2. Delfinado-Baker M, Baker EW. Notes on honey bee mites of the genus *Acarapis* hirst (Acari: Tarsonemidae). *Int J Acarol.* 1982; 8(4): 211–226.
3. Morse RA, Flottum K. Honey Bee Pests, Predators, & Diseases. Third Edition. Medina, Ohio: A.I. Root Company, 1997, s. 255–277.
4. Terrestrial Animal Health Code, OIE 2019, tom 2, rozdz. 9.1.; URL: <https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-code/access-online/>.
5. Dz.U. z 2018 r., poz. 1967; z 2020 r., poz. 148, 285.
6. OIE World Animal Health Information Database (WAHID) Interface 2017; URL: www.oie.int.
7. Zinatullina ZY, Dolnikova TY, Domatskaya TF, Domatsky AN. Monitoring diseases of honey bees (*Apis mellifera*) in Russia. *Ukr J Ecol.* 2018; 8(3): 106–112.
8. Tomaszewska B, Chorbiński P. Akarapidoza – rys historyczny i współczesność. *Med Weter.* 1995; 51(3): 143–145.
9. Sammataro D, de Guzman L, George S, Ochoa R, Otis G. Standard methods for tracheal mite research. *J Apic Res.* 2013; 52(4): 1–20.
10. Garrido-Bailon E, Bartolome C, Prieto L, Botias C, Martinez-Salvador A, Meana A, Martin-Hernandez R, Higes M. The prevalence of *Acarapis woodi* in Spanish honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Exp Parasitol.* 2012; 132(4): 530–536.

Wstępne badania nad nektarowaniem Oxytree (Paulownia Clon in Vitro 112)*

Preliminary study on the nectaring Oxytree (Paulownia Clon in Vitro 112)

PAWEŁ CHORBIŃSKI^{1*}  <https://orcid.org/0000-0001-9278-0988>

MAREK LISZEWSKI²  <https://orcid.org/0000-0002-3703-3119>

¹ Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

ul. C.K. Norwida 25, 50-375 Wrocław

² Instytut Agroekologii i Produkcji Roślinnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

ul. C.K. Norwida 25, 50-375 Wrocław

* Autor do korespondencji: pawel.chorbinski@upwr.edu.pl

STRESZCZENIE | W 2015 roku wprowadzono do uprawy w Polsce nowe, szybko rosnące drzewo o handlowej nazwie Oxytree (Clon in Vitro 112). Paulownia Clon in Vitro 112 to drzewo, które powstało w warunkach laboratoryjnych w wyniku skrzyżowania i klonowania dwóch gatunków: *Paulownia elongata* i *P. fortunei*. Mieszaniec ten jest uznawany za odpowiedni do produkcji biomasy i rekultywacji. Według informacji producenta Oxytree (drzewo tlenowe) możliwe jest uzyskanie nawet 700 kg miodu z ha uprawy tej rośliny.

W 2016 roku zostało założone ściśle doświadczenie polowe w układzie losowanych podbloków (split-plot) z dwoma czynnikami zmiennymi: nawadnianiem i agrotkaniną. Doświadczenie założono na glebie piaszczystej klasy V. W jego ramach 19 maja 2016 roku sadzonki Oxytree zostały posadzone w rozstawie rzędów – 4 m i w odległości 4 m pomiędzy roślinami. Jesienią 2018 roku drzewa zawiązały pąki kwiatostanowe, a w kwietniu 2019 zakwitły pierwsze kwiaty.

Kwiaty paulowni zaizolowano w celu uniknięcia odwiedzin owadów, a nektarowanie oznaczono metodą pipetową według Jabłońskiego. Zebrany nektar ważono, a następnie oznaczano w nim koncentracje cukrów w refraktometrze Abbego i obliczano masę cukru według wzoru: masa cukru = (masa nektaru × % cukrów) / 100. Uzyskany wynik przeliczono następnie dla 1 kwiatu paulowni.

Badane rośliny posiadały od 38 do 42 kwiatostanów, w których liczba pąków kwiatowych wahała się od 32 do 46. Potencjalnie jedna roślina mogła rozwinąć do 1566 kwiatów. Wyliczona dostępność surowca cukrowego z jednej rośliny wyniosła 0,27 kg cukru, a przy obsadzie 625 sztuk roślin na ha – 167 kg cukru. Wykazano, że stężenie cukrów w kwiatach było stosunkowo wysokie i wahało się od 35% do 52,5%, a wydajność cukrowa jednego kwiatu wyniosła od 28 mg do 38,5 mg/dzień.

SŁOWA KLUCZOWE | paulownia, Oxytree, nektarowanie, wydajność cukrowa

* Badania finansowane przez Oxytree Poland sp. z o.o. w ramach projektu B090/0015/16.

ABSTRACT | In 2015, a new, fast-growing tree, Oxytree (Clon in Vitro 112) was introduced to cultivation in Poland. Paulownia Clon in Vitro 112 is a tree that arose in laboratory conditions as a result of crossing and cloning of two species of *Paulownia elongata* and *P. fortunei*. This hybrid is considered suitable for biomass production and remediation. According to the manufacturer's information on Oxytree (oxygen tree), it is possible to obtain up to 700 kg per ha of sugar yield.

In 2016, strict field experiments were established in a split-plot system with two variable factors: irrigation and geotextile. The experiment was established on sandy soil, classified as V soil belonging, 4 m row spacing and 4 m distance between plants. In the autumn of 2018, the trees formed inflorescence buds, and in April 2019 the first flowers bloomed.

The paulownia flowers were insulated to avoid visiting insects, and nectar production was determined using the Jabłoński pipette method. The collected nectar was weighed and then the sugar concentration in the Abbe refractometer was determined and the sugar mass was calculated according to the formula: $\text{sugar mass} = (\text{nectar mass} \times \% \text{ sugars}) / 100$. The obtained result was then calculated for 1 paulownia flower.

The plants evaluated had from 38 to 42 inflorescences, in which the number of flower buds ranged from 32 to 46. Potentially one plant could develop up to 1566 flowers. The calculated availability of raw sugar from one plant was 0.27 kg of sugar, and with 625 plants per hectare – 167 kg of sugar. It was shown that the concentration of flower sugars was relatively high and ranged from 35% to 52.5%, and sugar yields of one flower was from 28 mg to 38.5 mg/day.

KEYWORDS | paulownia, Oxytree, nectaring, mass of sugar

Wprowadzenie

Od kilku lat bardzo dynamicznie wzrasta w Polsce zainteresowanie uprawami wywodzącego się z Azji rodzaju *Paulownia*. Gatunki te są znane przede wszystkim z dynamicznego wzrostu i dużej adaptowalności do różnych warunków klimatycznych [1]. Wzrost ich popularności przyczynił się do rozprzestrzenienia rodzaju w wielu krajach na świecie i doprowadził do stworzenia hybryd uprawianych głównie w krajach południowej Europy.

W 2015 roku wprowadzono do uprawy w Polsce nowe, szybko rosnące drzewo o handlowej nazwie Oxytree (Clon in Vitro 112). Paulownia Clon in Vitro 112 to drzewo, które powstało w warunkach laboratoryjnych w Hiszpanii, w wyniku skrzyżowania i klonowania dwóch gatunków *Paulownia elongata* i *P. fortunei*. Mając na uwadze dynamiczny wzrost paulowni w warunkach naturalnych i dużą zdolność adaptacji, zaczęto rozważać możliwość wykorzystania Oxytree w szybkiej produkcji surowca drzewnego w uprawie. Mieszaniec ten jest także uznawany za odpowiedni do produkcji biomasy i rekultywacji [2].

Paulownie uważane są za rośliny atrakcyjne dla pszczół i innych zapylaczy. Kwiaty pojawiają się przed rozwinięciem się liści, a kwitnienie trwa ok. dwóch tygodni – od połowy kwietnia do początków maja [3]. Badania Chaudhry'ego wykazały, że *P. elongata* zakwita wcześniej niż *P. fortunei*, kwiaty rozwijają

się kolejno w kwiatostanie, a całkowity okres kwitnienia rośliny może trwać nawet do 6 tygodni [4]. Obserwacje prowadzone na roślinach macierzystych wykazały, że kwiaty ich są chętnie odwiedzane przez poszukujące nektaru: pszczołę miodną, trzmielę, miesiarki, osy i bzygi [5, 6]. Kwitnąca uprawa *Paulownia tomentosa* umożliwia pozyskanie nawet 700 kg miodu z hektara, a zgodnie z informacją producenta, maksymalna wydajność Oxytree jest porównywalna [7, 8].

Celem badań było określenie warunków nektarowania Oxytree jako rośliny pożytkowej dla pszczoły miodnej.

Materiały i metody

Stanowisko badawcze

Badania przeprowadzono na glebie piaszczystej klasy V (Wrocław/Pawłowice). Sadzonki Oxytree zostały posadzone 19 maja 2016 roku (po ostatnich przymrozkach) w tzw. cynek, w rozstawie rzędów – 4 m i w odległości 4 m pomiędzy roślinami. Przedplonem dla Oxytree był ziemniak, uprawa roli obejmowała orkę przedzimową, wiosną glebę doprawiono broną ciężką i agregatem uprawowym z broną wirnikową oraz wałem ugniatającym. Nawożenie przed posadzeniem drzew obejmowało: potas w ilości 70 kg K_2O , w postaci 60% soli potasowej, oraz fosfor w dawce 40 kg P_2O_4 , w formie 46% superfosfatu potrójnego – w przeliczeniu na ha. W pierwszym roku badań azot aplikowano przed posadzeniem w postaci 46% mocznika w dawce 40 kg/ha oraz pogłównie, w odstępach miesięcznych, w dawkach 20 kg/ha, w formie saletry amonowej wzbogaconej w magnez. Łącznie zastosowano 100 kg N/ha. W kolejnych latach wegetacji kontynuowano – po ruszeniu wegetacji – dokarmianie roślin azotem w dawkach 20 kg/ha, w formie saletry amonowej, w odstępach miesięcznych. Łączne dawki N w latach 2017, 2018 wyniosły odpowiednio: 80 i 60 kg/ha. Przed zimą stosowano siarczan potasu (KALISOP: 50% K_2O i 45% SO_3) w ilości 100 kg/ha.

Wykorzystane metody

Ścisłe doświadczenie polowe zostało założone w układzie losowanych podbloków (split-plot) z dwoma czynnikami zmiennymi: nawadnianiem i agrotkaniną. Wykonano podstawowe pomiary biometryczne (wysokość roślin, obwód w tzw. pierśnicy, liczba kwiatostanów i kwiatów na roślinie). Pierśnica (obwód pnia na

wysokości 130 cm) u drzew wielopniowych (rozgałęziających się tuż nad ziemią) została ustalona jako średni obwód dla danego drzewa.

Dane meteorologiczne za lata 2016–2018 pozyskano ze stacji meteorologicznej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w Pawłowicach (koło Wrocławia). Do opisu wpływu warunków atmosferycznych na rozwój Oxytree posłużono się współczynnikiem Sielianinowa, obliczonym za pomocą wzoru: $K = P / (0,1 \cdot T)$, gdzie: K – współczynnik hydrotermiczny Sielianinowa, P – suma opadów w poszczególnych miesiącach, T – suma średnich temperatur dziennych w poszczególnych miesiącach [9].

Nektarowanie badano na trzyletnich drzewach, nieprzycinanych w celu wyprowadzenia pędu głównego. Jesienią 2018 roku drzewa zawiązały pąki kwiatostanowe, a w kwietniu 2019 zakwitły pierwsze kwiaty. Kwiaty paulowni zaizolowano w celu uniknięcia odwiedzin owadów, pierwsze pobieranie nektaru rozpoczęto po 3 dniach izolacji, kolejne 3 – w odstępach trzydniowych. Przy pobieraniu nektaru posłużono się metodą pipetową według Jabłońskiego [10]. Zebrany nektar ważono, a następnie oznaczano w nim koncentracje cukrów w refraktometrze Abbego i obliczano masę cukru według wzoru: masa cukru = (masa nektaru × % cukrów) / 100. Uzyskany wynik przeliczono następnie dla 1 kwiatu paulowni. Łącznie badaniem objęto 21 kwiatów pochodzących z 3 drzew, z których czterokrotnie pobrano nektar do analizy.

Analiza statystyczna wyników

Do porównań wyników uzyskanych z poszczególnych kwiatów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) poprzedzoną testem normalności rozkładu zmiennych metodą Shapiro-Wilka. Wszystkie analizy prowadzono na poziomie istotności 5% przy użyciu pakietu Statistica™ (data analysis software system), wersja 12, firmy StatSoft, Inc. (2014).

Wyniki

Gleba w poszczególnych sezonach wegetacyjnych była zasobna w podstawowe makroskładniki, poza magnezem (tab. 1). W latach 2016 i 2018 stwierdzono niską i bardzo niską zawartość magnezu w glebie (0–30 cm).

TABELA 1

Odczyn gleby oraz zawartości makroelementów w profilu glebowym (0–30 cm)			
Wyszczególnienie	I rok badań	II rok badań	III rok badań
pH (w 1M KCl)	obojętny (6,9)	lekko kwaśny (5,9)	kwaśny (5,4)
Fosfor	40 mg/100g	37,6 g/100g	22,2 mg/100g
P ₂ O ₅	bardzo wysoka	bardzo wysoka	bardzo wysoka
Potas	12,3 mg/100g	12,7 mg/100g	22,5 mg/100g
K ₂ O	średnia	średnia	bardzo wysoka
Magnez	2,6 mg/100g	5,02 mg/100g	1,9 mg/100g
Mg	niska	średnia	bardzo niska

Sezon 2016 roku okazał się bardzo nietypowy pod względem przebiegu pogody, w porównaniu z innymi latami (tab. 2). Podczas wegetacji Oxytree zanotowano zarówno okresy bardzo deficytowe w opady (maj, sierpień), jak i obfitujące w nie (lipiec, październik). Sezon 2017 można uznać za obfity w opady, choć były one rozłożone nierównomiernie. Notowano okresy posuchy (maj, czerwiec, sierpień), jak i stany mocnego uwilgotnienia gleby (lipiec, wrzesień, październik). Ciepły i wilgotny październik 2017 roku sprzyjał przedłużeniu wegetacji paulowni. Sezon 2018 roku był wyjątkowo ciepły i deficytowy w opady.

TABELA 2

Warunki meteorologiczne oraz współczynniki hydrotermiczne Sielanianowa w latach 2016–2018 wg obserwacji stacji meteorologicznej (AsterMet) w Pawłowicach koło Wrocławia

Miesiąc	Temperatura (°C)				Opady (mm)			Współczynnik Sielanianowa (K)			
	2016	2017	2018	Średnia 1981–2015	2016	2017	2018	Średnia 1981–2015	2016	2017	2018
IV	8,7	7,9	13,7	8,9	46,4	57,0	19,0	33,6	1,79	2,41	0,46
V	15,3	14,2	17,1	14,4	5,30	24,1	54,3	54,1	0,11	0,55	1,02
VI	18,6	18,5	18,8	17,3	44,6	52,5	36,6	67,4	0,80	0,95	0,65
VII	19,5	19,0	20,1	19,6	114,3	112,2	79,1	78,0	1,89	1,91	1,27
VIII	17,9	19,4	21,1	18,6	27,1	43,6	20,3	65,3	0,49	0,72	0,31
IX	16,4	13,3	15,8	13,7	44,7	65,7	38,4	44,9	0,91	1,65	0,81
X	8,5	12,0	10,4	9,1	83,8	71,4	45,3	33,7	3,19	1,92	1,40
Średnia/suma (IV–X)	15,0	14,9	16,7	14,5	366,2	426,5	293,0	377,0	–	–	–

$K = P / (0,1 \cdot T)$, K – współczynnik hydrotermiczny Sielanianowa, P – suma opadów w poszczególnych miesiącach, T – suma średnich temperatur dziennych w poszczególnych miesiącach

W oparciu o wyniki i obserwacje po trzecim roku prowadzenia doświadczenia w warunkach gleby lekkiej można stwierdzić, że rośliny Oxytree charakteryzują się dużą dynamiką wzrostu, niezależnie od wariantów uprawy. W 2018 roku obwód pnia Oxytree na wysokości 130 cm (tzw. pierśnica) wyniósł średnio 33,6 cm (tab. 3). W trzecim roku wegetacji rośliny pod koniec

wegetacji osiągnęły wysokość średnio 613 cm. Potwierdzają się doniesienia o małych wymaganiach Oxytree w stosunku do jakości gleby. Nie stwierdzono szkodników i chorób, które stanowiłyby zagrożenie dla Oxytree. Rośliny te są wytrzymałe na silne podmuchy wiatru i stabilne (silne ukorzenie i sztywne pędy, mocno osadzone liście na pędzie). Oxytree dobrze znosiło okresy suszy glebowej, zwłaszcza w sezonie 2018. Wówczas rośliny były już mocno ukorzone i dobrze sobie radziły z brakiem opadów w miesiącach letnich.

TABELA 3

Cechy biometryczne 3-letnich drzew Oxytree (nieprzycinanych po pierwszym roku)

Drzewo/cecha	Wysokość roślin (cm)	Liczba konarów	Obwód w piersnicy (cm)	Liczba kwiatostanów	Liczba kwiatów w kwiatostanie
1	650	2	40,0; 34,5	42	38,25 ±2,11
2	560	2	27,0; 31,0	38	38,56 ±2,36
3	630	2	40,0; 29,0	40	40,19 ±2,63

Obwód w piersnicy – dwie piersnice dla dwóch konarów (średnia)

Badania prowadzono na drzewach trzyletnich w terminie od 8 do 25 kwietnia 2019 roku. Oceniane rośliny posiadały od 38 do 42 kwiatostanów, w których liczba pąków kwiatowych wahała się od 32 do 46 (tab. 3, ryc. 1). Potencjalnie jedna roślina mogła rozwinąć do 1566 kwiatów. Ponieważ było to pierwsze kwitnienie Oxytree, nie wszystkie policzone kwiatostany rozwinęły pąki kwiatowe do pełnych kwiatów. Dotyczyło to szczególnie pąków umieszczonych na samym szczycie kwiatostanu.



Ryc. 1. Kwiatostan Oxytree

W badaniach stwierdzono, że średnia zsumowana masa nektaru uzyskanego z 1 kwiatu Oxytree wyniosła 384,37 mg ($\pm 124,60$), średnie stężenie cukru w nektarze – 44,37% ($\pm 8,03$), a wydajność cukrowa – 170,54 mg ($\pm 55,28$). Wyliczona dostępność surowca cukrowego z jednej rośliny wyniosła 0,27 kg cukru, a przy obsadzie 625 sztuk roślin na hektar – 167 kg cukru. Porównując stężenie cukru w nektarze pomiędzy kwiatami, wykazano, że było ono stosunkowo wysokie i wahało się od 35% do 52,5%, a wydajność cukrowa jednego kwiatu wyniosła od 28 mg do 38,5 mg/dzień. W analizie statystycznej nie wykazano istotnych różnic w badanych parametrach zarówno pomiędzy kwiatami, jak i drzewami, przy poziomie istotności $p = 0,05$.

Dyskusja

Oxytree odznacza się szybkim tempem wzrostu i wysoką wydajnością biomasy [2]. Drzewo osiągnęło wysokość 5–6 m, uzyskując przy tym obwód pnia w pierśnicy (na wysokości 130 cm) 33,6 cm, już w trzecim roku. Szybkie przyrosty biomasy Oxytree w warunkach Polski potwierdzają inni autorzy [11]. Mieszaniec ten jest uznawany za odpowiedni do produkcji biomasy i rekultywacji [12, 13, 14].

Paulownia zaczyna wytwarzać kwiatostany w końcu lipca lub na początku sierpnia. Rosną one aż do jesieni i są dobrze widoczne po opadnięciu liści na końcach pędów. Wiosną zakwitają stopniowo, zaczynając od dolnych partii kwiatostanu. W wykorzystanej do badań plantacji Paulowni Clon in Vitro 112 zakwitły drzewa 3-letnie, na których przed zakwitnięciem uśredniona liczba kwiatostanów wynosiła 40 sztuk. Chaudhry w badaniach nad 3-letnimi drzewami na terenie Pakistanu uzyskał wartości: *P. elongata* – 88 sztuk, *P. fortunei* – 61 sztuk, a u *P. tomentosa* – 35,5 [4]. Jednak sezon wegetacyjny w Pakistanie jest dużo dłuższy niż w Polsce, dlatego można uznać, że uzyskane wartości dla Oxytree nie odbiegają od normy. Podkreślić trzeba, że znaczna część wykształconych kwiatostanów nie rozwinęła kwiatów, spowodowane było to prawdopodobnie niskimi sumami opadów deszczu w sezonie 2018 roku, w którym następowało wytwarzanie i formowanie kwiatostanów (tab. 2). Również ich umiejscowienie na szczytach pędów uwrażliwia je na niskie temperatury wiosną. Ciepły i wilgotny październik 2018 roku sprzyjał przedłużeniu wegetacji Oxytree, a zawiązki kwiatów nie zdrewniały odpowiednio przed przymrozkami.

Kwiaty Oxytree pod względem stężenia cukru w nektarze (średnio 44,3%) cechują się dużą atrakcyjnością dla pszczół. Ten parametr jest uzależniony od wilgotności powietrza. Konieczne jest wykonanie badań na większej licz-

bie kwiatów, aby uzyskać wyczerpującą charakterystykę nektarowania kwiatów paulowni w okresie kwitnienia. Uzyskana w doświadczeniu potencjalna dostępność surowca cukrowego, dla 1 ha 3-letniej uprawy wynosząca 167 kg cukru, daje w przeliczeniu ok. 200 kg miodu. Podawana przez producenta możliwość uzyskania 700 kg miodu dotyczy drzew co najmniej 4-letnich na dobrze utrzymanych plantacjach.

Paulownia może być wartościową rośliną nektarodajną, ale raczej jako nasadzenia soliterowe. Uprawy przemysłowe na pozyskanie drewna okrągłego będą w pierwszym i drugim sezonie obojętne dla pszczół, średnio atrakcyjne w trzecim, a atrakcyjne w czwartym sezonie. Tylko w pierwszym cyklu produkcyjnym drzewa mogą osiągnąć wiek 6 lat, w następnym są ścinane po 4 latach. Powoduje to, że taka uprawa nie ma stałej corocznej wartości pszczelarskiej.


Wnioski

1. Oxytree charakteryzuje się szybkimi przyrostami biomasy, nawet w warunkach gleby lekkiej.
2. W pierwszych latach rozwoju może dojść do przemarznięcia górnych odcinków pędów oraz zawiązków kwiatów.
3. Kwiaty Oxytree cechuje wysoka zawartość cukrów w nektarze.
4. Oxytree jest rośliną o wysokiej wydajności miodowej z hektara w przypadku upraw co najmniej 4-letnich.

Wykaz cytowanej literatury

1. Jakubowski M, Tomczak A, Jelonek T, Grzywiński W. Wykorzystanie drewna i możliwości uprawy drzew z rodzaju Paulownia. *Acta Sci Pol Silv Colendar Ratio Ind Lignar.* 2018; 17(4): 291–297; URL: <https://doi.org/10.17306/J.AFW.2018.4.26>.
2. Świechowski K, Liszewski M, Bąbelewski P, Koziel JA, Białowiec A. Fuel properties of torrefied biomass from pruning of Oxytree. *Data* 2019; 4(2): 55; URL: <https://doi.org/10.3390/data4020055> 2306-5729.
3. Duncan WH, Duncan MB. *Trees of the southeastern United States.* Athens, GA: The University of Georgia Press; 1988.
4. Chaudhry MA. Phenological and morphological studies on different *Paulownia* species growing at Peshawar. *Pakistan J Forest.* 1993; 43(4): 221–226.
5. Singh AP. Nectar feeding insects on *Paulownia fortunei* blossoms: Evaluating potential nototribic pollinators. *Indian Forest.* 2000; 126: 1179–1186.


6. Shankar U, Abrol DP. Plants for Bees: *Paulownia fortunei*. Bee World 2015; 92(3): 90–91; URL: <https://doi.org/10.1080/0005772X.2015.1118974>.
7. Hill DB, Webster TC. Apiculture and forestry (bees and trees). Agroforest Syst. 1995; 29: 313–320.
8. Zastosowanie Oxytree [online]. Oxytree. Dostępne w Internecie: <https://oxytree.pl/zastosowanie-oxytree/>.
9. Radomski C. Agrometeorologia. Warszawa: PWN; 1987.
10. Jabłoński B. Metodyka badań obfitości nektarowania kwiatów i oceny miododajności roślin. Skierniewice: Wydawnictwo ISK; 2003.
11. Lisowski J, Porwisiak H. Cechy biometryczne drzewa Oxytree w pierwszym roku wegetacji. Zesz Nauk WSA w Łomży 2017; 67: 56–64.
12. Liszewski M, Bąbelewski P. Plantacja Oxytree – drugi rok badań. Biomasa 2018; 8(48): 36–38.
13. Bąbelewski P, Halarewicz A, Liszewski M, Bączek P. Mieszaniec *Paulownia elongata* × *P. fortunei*, jako propozycja do nasadzeń na terenach zurbanizowanych. III Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Problemy ochrony roślin na terenach zurbanizowanych”, Wrocław–Pawłowice, 13–14 czerwca 2017, s. 26–27.
14. Woźniak M, Gałązka A, Frąc M. Paulownia – szybko rosnące, wielofunkcyjne drzewo bioenergetyczne. Kosmos. Probl N Biol. 2018; 67(4): 781–789.



Trzyletnie badania nad wpływem nawożenia dolistnego gryki borem na wybrane parametry jej nektarowania*

Three-year studies on the influence of boron foliar fertilization of the buckwheat on selected parameters of its nectar production

PAWEŁ CHORBIŃSKI^{1*}  <https://orcid.org/0000-0001-9278-0988>

MAREK LISZEWSKI²  <https://orcid.org/0000-0002-3703-3119>

¹Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

ul. C.K. Norwida 25, 50-375 Wrocław

²Instytut Agroekologii i Produkcji Roślinnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

ul. C.K. Norwida 25, 50-375 Wrocław

* Autor do korespondencji: pawel.chorbinski@upwr.edu.pl

STRESZCZENIE | Mikroelementy, takie jak bor, miedź, żelazo i mangan, mogą mieć wpływ na polepszenie nektarowania gryki, dzięki czemu wzrasta ilość zapylnych kwiatów, a tym samym również plon orzeszków. Celem badań było ustalenie wpływu nawożenia dolistnego borem na ilość produkowanego nektaru, koncentrację cukrów oraz masę cukrów w przeliczeniu na 10 kwiatów gryki oraz na jednostkę powierzchni (ha).

Badania prowadzono w latach 2017–2019 metodą losowanych bloków z odmianą gryki Kora, na glebie lekkiej, klasy bonitacyjnej – V. W doświadczeniu zostały przebadane dwa warianty nawożenia dolistnego borem: w dawce zalecanej przez producenta (1 l/ha – grupa B1) oraz w dawce podwojonej (2 l/ha – grupa B2). W badaniach uwzględniono także grupę kontrolną (bez nawożenia borem). Dokarmianie dolistne borem zostało wykonane poprzez zastosowanie nawozu mikroelementowego firmy ADOB (ADOB Bor) w fazie początku kwitnienia gryki. Nektarowanie gryki oznaczono metodą pipetową według Jabłońskiego w pięciu terminach. Zebrany w laboratorium nektar ważono, a następnie oznaczano w nim koncentracje cukrów w refraktometrze Abbego i obliczano masę cukru według wzoru: masa cukru = (masa nektaru × % cukrów) / 100. Uzyskany wynik przeliczono następnie dla 10 kwiatów gryki. W każdym terminie liczono także liczbę rozwiniętych kwiatów na roślinach oraz liczbę roślin na m².

Nawożenie borem zwiększyło masę nektaru uzyskanego z 10 kwiatów gryki maksymalnie o 5% (B2). Zwiększeniu, pod wpływem nawożenia borem, uległa także masa cukrów z 10 kwiatów, pomimo obniżenia stężenia cukrów w nektarze gryki w odniesieniu do grupy kontrolnej.

* Badania finansowane w ramach działalności statutowej UPWr. Zadanie badawcze nr B010/0036/17.

Stąd też stwierdzono wzrost dostępności surowca cukrowego pod wpływem nawożenia borem odpowiednio o: 7,5% (B1) i 11,3% (B2).

SŁOWA KLUCZOWE | gryka, nektarowanie, nawożenie dolistne, bor

ABSTRACT | Microelements such as boron, copper, iron and manganese can improve the nectar production of buckwheat, which increases the number of dusty flowers, and thus also the yield. The aim of the study was to determine the effect of foliar fertilization on the amount of nectar produced, sugar concentration and sugar mass per 10 buckwheat flowers and per unit area (ha).

The research was conducted in 2017–2019 by the method of randomized blocks with a cultivar of buckwheat ‘Kora’, on light soil, bonitation class – V. In the experiment two variants of foliar fertilization with boron were tested: at the dose recommended by the producer (1 l/ha – group B1) and a double dose (2 l/ha – group B2). The study also included a control group (without boron fertilization). Foliar feeding with boron was done by using a micronutrient fertilizer from ADOB company (ADOB Bor), at the beginning of flowering of buckwheat. The nectar production of buckwheat was determined using the Jabłoński pipette method on five dates. The nectar collected in the laboratory was weighed and then the sugar concentration in the Abbe refractometer was determined and the sugar mass was calculated according to the formula: sugar mass = (nectar mass × % sugars) / 100. The obtained result was then calculated for 10 buckwheat flowers. The number of flowers developed on plants and the number of plants per m² were also counted at each date.

Fertilization with boron increased the mass of nectar obtained from 10 flowers of buckwheat by a maximum of 5% (B2). The weight of sugars from 10 flowers also increased due to boron fertilization, despite the decrease in the sugar concentration in the nectar of buckwheat in relation to the control. Hence, an increase in the availability of sugar raw material under the influence of boron fertilization was found by 7.5% (B1) and 11.3% (B2), respectively.

KEYWORDS | buckwheat, nectaring, foliar fertilization, boron

Wprowadzenie

Nawożenie mikroelementami zwykle traktowane jest jako zabieg zabezpieczający rośliny uprawne przed nieprzewidzianym niedoborem tych składników. Dolistne dokarmianie może być szczególnie skuteczne, jeżeli jest stosowane w fazach intensywnego wzrostu roślin oraz w okresach posuchy glebowej [1]. Mikroelementy są składnikami lub aktywatorami katalizatorów wielu procesów enzymatycznych, nie tylko w fotosyntezie [2]. Mikroelementy, takie jak bor, miedź, żelazo i mangan, mogą mieć wpływ na polepszenie nektarowania gryki, dzięki czemu wzrasta liczba zapylnych kwiatów, a tym samym również plon. Skuteczność zapyłania gryki zależy przede wszystkim od intensywności oblotów przez owady zapyłające. Pomimo wytwarzania przez rośliny bardzo dużej liczby kwiatów (ponad 2000 szt.) orzeszki zawiązuje zaledwie 5–10% z nich [3, 4, 5]. Wynika to przede wszystkim z całkowitej obcocylności gryki [6]. W Polsce, Niemczech, Korei i USA głównymi zapyłaczami gryki są pszczołowate (pszczoła miodna i trzmiele), które stanowią od 58% do ponad 90% wszystkich owadów

obserwowanych na plantacjach tej rośliny. Przy sprzyjającej pogodzie atrakcyjność gryki dla zapylaczy jest uwarunkowana produkcją nektaru [7].

Celem badań było ustalenie wpływu nawożenia dolistnego borem na ilość produkowanego nektaru, koncentrację cukrów oraz masę cukrów w przeliczeniu na 10 kwiatów gryki oraz na jednostkę powierzchni (ha).

Materiały i metody

Stanowisko badawcze

Badania prowadzono w latach 2017, 2018 i 2019 w stacji doświadczalnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu – Pawłowice (51°34' N, 17°12' E), na glebie lekkiej, klasy bonitacyjnej – V. Przedplonem dla gryki był ziemniak. Przed założeniem doświadczenia pobrano próbki glebowe w celu ustalenia zasobności w podstawowe makro- oraz mikroelementy, a także jej kwasowości. Wiosną zastosowano nawożenie fosforem i potasem w dawkach (kg/ha): 50 – P₂O₅ i 70 – K₂O. Fosfor dostarczono do gleby w formie superfosfatu granulowanego, a potas w postaci 60% soli potasowej. Nawożenie azotem zostało zastosowane w całości przedsięwzięcia w formie 34% saletry amonowej w ilości 40 kg · ha⁻¹. Grykę wysiano 16 maja 2017 roku, 24 kwietnia 2018 i 25 kwietnia 2019 roku, siewnikiem poletkowym w ilości 250 kielkujących orzeszków na 1 m² w rozstawie międzyrzędzi – 15 cm.

Wykorzystane metody

Doświadczenie polowe wykonano metodą losowanych bloków z odmianą gryki Kora. Przebadano w nim dwa warianty nawożenia dolistnego borem: w dawce zalecanej przez producenta (1 l/ha – grupa B1) oraz w dawce podwójonej (2 l/ha – grupa B2). W badaniach uwzględniono także grupę kontrolną (bez nawożenia borem). Dokarmianie dolistne borem zostało wykonane poprzez zastosowanie nawozu mikroelementowego firmy ADOB (ADOB Bor) w fazie początku kwitnienia gryki (BBCH 61), tj. 27 czerwca 2017 roku, 5 czerwca 2018 i 6 czerwca 2019 roku.

Warunki meteorologiczne za lata 2017–2019 pozyskano ze stacji meteorologicznej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w Pawłowicach (koło Wrocławia). Do opisu wpływu warunków atmosferycznych na rozwój gryki posłużono się współczynnikiem Sielianinowa, obliczonym za pomocą wzoru: $K = P / (0,1 \cdot T)$, gdzie: K – współczynnik hydrotermiczny Sielianinowa,

P – suma opadów w poszczególnych miesiącach, T – suma średnich temperatur dziennych w poszczególnych miesiącach [8].

Nektarowanie gryki oznaczono metodą pipetową według Jabłońskiego w pięciu terminach od 4 do 17 lipca 2017 roku, dziewięciu terminach od 7 czerwca do 2 lipca 2018 roku i siedmiu terminach od 17 czerwca do 3 lipca 2019 roku [9]. Próbki kwiatów (pochodzące z co najmniej 10 roślin) zbierano ze środka łanu każdego poletka. Zebrany w laboratorium nektar ważono, a następnie oznaczano w nim koncentracje cukrów w refraktometrze Abbego i obliczano masę cukru według wzoru: masa cukru = (masa nektaru × % cukrów) / 100. Uzyskany wynik przeliczono następnie dla 10 kwiatów gryki. W każdym terminie liczono także liczbę rozwiniętych kwiatów na roślinach oraz liczbę roślin na m².

Analiza statystyczna wyników

Do oceny różnic między grupami określonymi przez zastosowany wariant nawożenia (grupa kontrolna, B1, B2) zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) poprzedzoną testem normalności rozkładu zmiennych metodą Shapiro-Wilka. Wszystkie analizy prowadzono na poziomie istotności 5% przy użyciu pakietu Statistica™ (data analysis software system), wersja 12, firmy StatSoft, Inc. (2014).

Wyniki

Dla poszczególnych lat badań zawartość w glebie fosforu oceniono jako wysoką lub bardzo wysoką (tab. 1), potasu – jako średnią lub niską, a magnezu – średnią lub bardzo niską (2018 r.). Odczyn gleby był lekko kwaśny (2017 r. i 2019 r.) lub kwaśny (2018 r.). Zawartość boru w glebie ustalono jako niską, zaś pozostałych mikroelementów (Mn, Cu, Zn i Fe) jako średnią lub wysoką (tab. 2).

Maj 2017 roku charakteryzował się niskimi opadami (tab. 3). Suma opadów w tym miesiącu stanowiła zaledwie 45% średniej sumy opadów z wielolecia dla tego miesiąca. Takie warunki posuchy utrudniały początkowy rozwój gryki. Trudne warunki dla wzrostu i rozwoju trwały przez miesiąc czerwiec, kiedy zanotowano o 22% niższą sumę opadów w porównaniu z wieloleciem. Objawy posuchy zostały pogłębione przez wysokie temperatury powietrza, przewyższające średnio o 1,2°C średnią miesięczną temperaturę dla czerwca. Wyraźną poprawę uwilgotnienia gleby przyniosły obfite opady w lipcu. Suma opadów w tym miesiącu była wyższa o 42,2% w porównaniu z sumą z wielolecia. W dniu 7 lipca 2017 roku wystąpiło bardzo silne gradobicie, które zredukowało

TABELA 1
Zawartość makroelementów (w mg/100 g gleby) oraz odczyn gleby (pH)

Sezon wegetacyjny	P ₂ O ₅	K ₂ O	Mg	pH (w 1M KCl)
2017	37,6 (bardzo wysoki)	12,7 (średni)	5,02 (średni)	5,9 (lekkko kwaśny)
2018	19,0 (wysoki)	7,8 (niski)	1,1 (bardzo niski)	4,7 (kwaśny)
2019	48,9 (bardzo wysoki)	14,3 (średni)	3,2 (średni)	5,3 (lekkko kwaśny)

TABELA 2

Zawartość mikroelementów w glebie (w mg/kg)

Sezon wegetacyjny	B	Mn	Cu	Zn	Fe
2017	0,40 (niski)	96,2 (średni)	6,4 (wysoki)	28 (wysoki)	1019 (średni)
2018	0,36 (niski)	70,9 (średni)	3,1 (średni)	7,7 (wysoki)	752 (średni)
2019	0,79 (niski)	73,7 (średni)	4,6 (średni)	31,6 (wysoki)	828 (średni)

wysokość łanu ocenianej gryki do połowy jej wysokości. Sezon 2018 roku był wyjątkowo ciepły i deficytowy w opady. Czerwiec charakteryzował się temperaturą wyższą (o 1,5°C) w porównaniu z wieloleciem, a suma opadów stanowiła zaledwie 54,3% średniej wieloletniej sumy opadów dla tego miesiąca. Sezon 2019 roku był również suchy, z sumami opadów w poszczególnych miesiącach niższymi od średnich sum z wielolecia, z wyjątkiem maja. W maju 2019 roku suma miesięczna opadów przekroczyła średnią wieloletnią aż o 42% (tab. 3).

TABELA 3
Warunki atmosferyczne i współczynnik hydrotermiczny Sielianinowa dla lat 2017–2019
(dla stacji doświadczalnej w Pawłowicach koło Wrocławia)

Miesiąc	Temperatura (°C)				Opady (mm)				Współczynnik Sielianinowa (K)		
	2017	2018	2019	Średnia 1981–2015	2017	2018	2019	Średnia 1981–2015	2017	2018	2019
IV	7,9	13,7	10,8	8,9	57,0	19,0	24,2	33,6	2,41	0,46	0,75
V	14,2	17,1	12,1	14,4	24,1	54,3	76,8	54,1	0,55	1,02	2,06
VI	18,5	18,8	22,1	17,3	52,5	36,6	27,0	67,4	0,95	0,65	0,41
VII	19,0	20,1	19,3	19,6	112,2	79,1	44,5	78,0	1,91	1,27	0,74
VIII	19,4	21,1	20,3	18,6	43,6	20,3	59,8	65,3	0,72	0,31	0,95
IX	13,3	15,8	14,4	13,7	65,7	38,4	42,0	44,9	1,65	0,81	0,97
Średnia/suma (IV–IX)	15,4	17,8	16,5	15,4	355,1	247,7	274,3	343,3	–	–	–

$K = P / (0,1 \cdot T)$, K – współczynnik hydrotermiczny Sielianinowa, P – suma opadów w poszczególnych miesiącach, T – suma średnich temperatur dziennych w poszczególnych miesiącach

W trzyletnich badaniach nad wpływem nawożenia dolistnego gryki borem stwierdzono, że średnia masa nektaru uzyskanego z 10 kwiatów gryki w 2017 roku była dużo wyższa niż w dwóch następnych latach. Parametr ten najwyższą wartość osiągnął w 2017 roku w grupie B2, a w następnych dwóch sezonach w grupie B1. W latach 2018 i 2019 jego wartości były bardzo zbliżone, ale dla obu wariantów nawożenia borem (B1 i B2) okazały się wyższe niż w grupie kontrolnej. W analogiczny sposób kształtowały się dwa inne oceniane parametry: masa cukrów z 10 kwiatów oraz dostępność surowca cukrowego (tab. 4). Jednak uśrednione dane z trzech lat badań nie wykazały występowania istotnych różnic w wartościach tych parametrów pomiędzy trzema ocenianymi grupami.

TABELA 4

Parametry nektarowania i kwitnienia gryki w zależności od wariantu nawożenia borem

Lata	Nawożenie		
	Kontrola	B1	B2
1	2	3	4
Masa nektaru 10 kwiatów gryki (mg)			
2017	7,15 ±2,93	7,12 ±1,70	7,56 ±1,72
2018	4,09 ±1,02	4,17 ±0,84	4,01 ±0,92
2019	3,71 ±1,72	4,36 ±1,54	4,11 ±2,09
Średnia	4,98	5,22	5,23
± odch. st. SD	±1,89	±1,65	±2,02
Stężenie cukrów w nektarze gryki (%)			
2017	7,70 ±2,40	7,72 ±2,29	7,90 ±2,59
2018	10,09 ±2,26	9,72 ±1,93	10,11 ±2,52
2019	13,00 ±5,80	11,36 ±3,91	10,66 ±3,36
Średnia	10,26	9,60	9,56
± odch. st. SD	±2,65	±1,82	±1,46
Masa cukrów 10 kwiatów gryki (mg)			
2017	0,50 ±0,16	0,52 ±0,10	0,55 ±0,09
2018	0,39 ±0,09	0,39 ±0,07	0,38 ±0,08
2019	0,35 ±0,11	0,39 ±0,10	0,37 ±0,12
Średnia	0,41	0,43	0,43
± odch. st. SD	±0,08	±0,08	±0,10
Dostępność surowca cukrowego w kg na 1 ha			
2017	2,52 ±1,67	2,41 ±1,21	2,83 ±1,40
2018	1,93 ±0,79	2,00 ±0,69	1,90 ±0,73
2019	1,95 ±1,01	2,47 ±0,96	2,37 ±1,37
Średnia	2,13	2,29	2,37
± odch. st. SD	±0,33	±0,26	±0,47
Średnia liczba kwiatów na 1 roślinie			
2017	18,79 ±6,92	18,31 ±6,16	20,26 ±7,36
2018	20,29 ±5,43	21,46 ±6,87	20,34 ±5,03

cd. tab. 4

1	2	3	4
2019	22,08 ±6,74	25,39 ±7,25	24,34 ±7,95
Średnia Mean	20,39	21,72	21,65
± odch. st. SD	±1,64	±3,55	±2,33
Średnia liczba kwiatów w mln sztuk na 1 ha na 1 dzień obserwacji			
2017	45,85 ±16,89	44,68 ±15,03	49,43 ±17,95
2018	49,50 ±13,24	52,35 ±16,77	49,64 ±12,28
2019	53,87 ±16,44	61,96 ±17,68	59,40 ±19,40
Średnia	49,74	53,00	52,82
± odch. st. SD	±4,018	±8,66	±5,69

Nawożenie: B1 – dawka 1 l/ha, B2 – dawka 2 l/ha, Kontrola – zabieg bez dodatku boru

Zaobserwować można także, że wyższe masy nektaru w 2017 roku odpowiadają niższym procentowym stężeniom cukrów w nektarze dla tego roku i odwrotnie – niższe masy nektaru w latach 2018–2019 odpowiadają wyższym stężeniom cukrów we wszystkich trzech badanych grupach. W ciągu trzech sezonów badań w grupie kontrolnej zanotowano zarówno najwyższe stężenie cukrów (2019), jak i najniższe (2017) ze wszystkich grup. Średnia liczba kwiatów na jednej roślinie i hektarze osiągnęła najwyższą wartość w 2019 roku we wszystkich trzech grupach, ale nie przeniosło się to w istotny sposób na wzrost dostępności dla pszczoł surowca cukrowego (tab. 4).

Nawożenie borem nie różnicowało także w sposób istotny elementów struktury plonu orzeszków ani samego plonu gryki (tab. 5). Najniższy plon orzeszków zebrano w 2017 roku (11,5 dt/ha). Niski plon wynikał z małej liczby oraz masy zawiązaných orzeszków na roślinie.

TABELA 5

Plon gryki i element struktury plonu (średnie dla nawożenia i lat)

Wyszczególnienie	Liczba orzeszków na roślinie	Liczba pełnych orzeszków na roślinie	Masa orzeszków z rośliny (g)	Masa 1000 orzeszków (g)	Plon orzeszków (dt/ha)
Nawożenie					
B1	50,8	30,8	0,77	26,6	16,2
B2	49,0	31,8	0,75	25,4	16,3
Kontrola	50,8	33,1	0,84	24,7	13,7
NIR0,05 LSD0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Lata					
2017	26,7	12,3	0,34	26,8	11,5
2018	49,6	33,7	0,83	24,6	17,4
2019	74,4	49,7	1,19	25,3	17,3
NIR0,05 LSD0,05	16,6	11,3	0,28	1,6	4,6

Nawożenie: B1 – dawka 1 l/ha, B2 – dawka 2 l/ha, Kontrola – zabieg bez dodatku boru

NIR_{0,05} – najmniejsza istotna różnica

n.s. – brak różnic ($\alpha = 0,05$)

Dyskusja

Gryka jest rośliną o dużych wymaganiach glebowych z powodu słabo rozwiniętego systemu korzeniowego. W celu zwiększenia plonów stosowane jest nawożenie makro- i mikroelementami. Do poprawy warunków wegetacyjnych gryki wykorzystywane jest nawożenie mikroelementami zarówno w formie nawozów doglebowych, jak i dolistnych.

Nawożenie borem zwiększyło masę nektaru uzyskanego z 10 kwiatów gryki maksymalnie o 5% (grupa B2), a także masę cukrów z 10 kwiatów, pomimo obniżenia stężenia cukrów w nektarze w odniesieniu do grupy kontrolnej. Stąd też stwierdzono wzrost dostępności surowca cukrowego pod wpływem nawożenia borem odpowiednio o: 7,5% (B1) i 11,3% (B2), nie udowodniono jednak jego istotności statystycznej (tab. 4).

Zaobserwowane różnice w masie nektaru pomiędzy sezonem 2017 roku a dwoma następnymi wynikały z odmiennych warunków atmosferycznych. Opady w 2017 roku zapewniły gryce dobre warunki rozwojowe, a jednocześnie wydzielany przez kwiaty nektar miał większą masę przy zmniejszonym stężeniu cukrów. Następne dwa lata 2018 i 2019 nie były już tak sprzyjające pogodowo w okresie kwitnienia dla tej rośliny, co potwierdzają współczynniki Sielianinowa dla czerwca i lipca. W maju 2019 roku obfite opady sprzyjały rozwojowi gryki, czego potwierdzeniem jest największa liczba kwiatów na jednej roślinie czy w przeliczeniu na ha uprawy, ale nie znalazło to odzwierciedlenia w istotnym wzroście dostępności surowca cukrowego (tab. 3 i 4). Rok 2017, pomimo najniższego stężenia cukrów w nektarze i najniższej liczby kwiatów na roślinie, był najlepszy w dostępności surowca cukrowego dla pszczół, ponieważ zostało to skompensowane najwyższą masą nektaru.

Inni autorzy wykazali pozytywny wpływ nawożenia borem na wzrost produkcji nektaru przez kwiaty gryki [10, 11]. Na podstawie badań własnych zaobserwowano również korzystny wpływ nawożenia dolistnego gryki borem, jednak nie był on istotny statystycznie. Również we wcześniejszych badaniach autorów, z wykorzystaniem nawożenia dolistnego gryki miedzią i manganem, nie wykazano istotnego wzrostu atrakcyjności kwiatów gryki dla pszczół [12].

Przyczynę słabszego plonowania gryki na glebach piaszczystych należy wiązać z ich gorszym odżywieniem azotem oraz z pogorszeniem nektarowania na skutek częstych susz w okresie kwitnienia. Bor wpływa na prawidłowe gromadzenie cukrów w roślinie oraz na kwitnienie i wykształcanie orzeszków, zwiększa liczbę kwiatów oraz odsetek zapłodnionych kwiatów i orzeszków pełnych. Przyczynia się także do wzrostu masy 1000 orzeszków oraz plonu owoców [13]. W badaniach polowych potwierdzono pozytywny wpływ nawożenia borem lub selenem na jakość plonu gryki [14, 15].

Liszewski (2002–2003) wykazał istotną reakcję gryki na nawożenie borem w zakresie cech związanych z owocowaniem [16]. Pod wpływem nawożenia borem zwiększyła się liczba kwiatów zapłodnionych – o 19,6% i orzeszków pełnych – o 14,7%. Wyższemu zapyleniu kwiatów sprzyjały liczniejsze obloty pszczół.

Wnioski

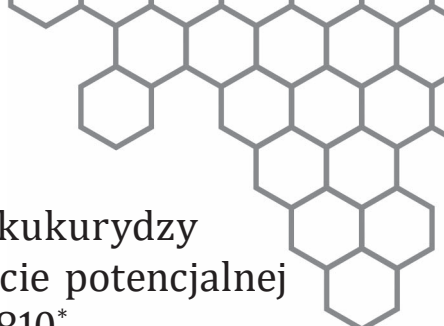
W warunkach suszy glebowej oraz niskiej dostępności boru w glebie dolistne nawożenie gryki tym mikroelementem może przyczynić się do wzrostu dostępności surowca cukrowego dla pszczół w jej kwiatach.

Nawożenie borem gryki zwiększyło atrakcyjność kwiatów tej rośliny dla pszczół, jednakże nie różnicowało w istotny sposób elementów struktury plonu orzeszków ani samego plonu gryki.

Wykaz cytowanej literatury

1. Czuba R. Mikroelementy we współczesnych systemach nawożenia. Zesz Probl Post Nauk Roln. 2000; 471: 161–169.
2. Michałojć Z, Szewczuk C. Teoretyczne aspekty dolistnego dokarmiania roślin. Acta Agrophysica 2003; 85: 9–17.
3. Kwiatkowski J. Agrotechniczne uwarunkowania produkcji gryki (*Fagopyrum esculentum* Moench) o wysokiej wartości technologicznej, odżywczej i reprodukcyjnej orzeszków. Olsztyn: Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego; 2010.
4. Liszewski M. Gryka – roślina niedoceniana. Seminaria Naukowe WTN 2009; 8(59): 155–161.
5. Ścigalska B. Biologiczne i siedliskowe uwarunkowania uprawy gryki w Polsce. Post Nauk Rol. 2004; 1: 93–109.
6. Cawoy V, Kinet J, Jacquemart A. Morphology of nectarines and biology of nectar production in the distylous species *Fagopyrum esculentum*. Ann Bot. 2008; 8(102): 675–684.
7. Jabłoński B, Szklanowska K. Wartość pszczelarska i wymogi zapyłania gryki tetraploidalnej. Pszczel Zesz Nauk. 1990; 34: 51–56.
8. Radomski C. Agrometeorologia. Warszawa: PWN; 1987, s. 442–448.
9. Jabłoński B. Metodyka badań obfitości nektarowania kwiatów i oceny miododajności roślin. Skierniewice: Wydawnictwo ISK; 2003.
10. Kurguzov PI. Direct fertilizing of buckwheat. Pchelovodstvo 1960; 38(3): 42–43.


11. Lesik F. Trace elements increase the nectar production of honey plants. *Pchelovodstvo*. 1953; 30(4): 42–45.
12. Chorbiński P, Liszewski M. Wpływ dolistnej suplementacji miedzią i manganem na wybrane cechy nektarowania i plonowania gryki. *Np Weter*. 2014; 70(12): 786–790.
13. Gubbels GH. Yield and seed weight of buckwheat after foliar application of boron and calcium. *Can J Plant Sci*. 1980; 60(2): 721–722.
14. Chertko NK, Ivanov NP, Ivakhnenko NN. Effect of boron microfertilizers on yield and quality of buckwheat. *Vestsi Akad Navuk*. 1974; 3: 47–49.
15. Jiang Y, Zeng ZH, Bu Y, Ren CZ, Li JZ, Han JJ, Tao C, Zhang K, Wang XX, Lu GX, Li YJ, Hu YG. Effects of selenium fertilizer on grain yield, Se uptake and distribution in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Plant Soil Environ*. 2015; 61(8): 371–377; URL: <https://doi.org/10.17221/284/2015-PSE>.
16. Liszewski M. Wpływ dolistnego nawożenia borem oraz terminu i ilości wysiewu na cechy morfologiczne pędu i owocowania gryki. *Acta Agraria et Silvestr*. 2002–2003; 16: 13–21.



Ograniczenie obecności pyłku kukurydzy w produktach pszczelich w kontekście potencjalnej uprawy odmiany MON 810*

Limitation of the presence of corn pollen in bee products in the context of the potential cultivation of MON 810

DARIUSZ TEPER^{1*}  <https://orcid.org/0000-0003-2950-2816>

PIOTR SEMKIW¹  <https://orcid.org/0000-0001-7503-6292>

PIOTR SKUBIDA¹  <https://orcid.org/0000-0001-6957-7578>

ZBIGNIEW KOŁTOWSKI¹  <https://orcid.org/0000-0002-7186-0310>

MIKOŁAJ BORAŃSKI¹  <https://orcid.org/0000-0002-5462-7998>

¹ Zakład Pszczelnictwa, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach
ul. Kazimierska 2A, 24-100 Puławy

* Autor do korespondencji: dariusz.teper@inhort.pl

STRESZCZENIE | Pszczoły miodne najczęściej odwiedzają kwiaty roślin owadopylnych, z których zbierają nektar i pyłek. Niekiedy jednak oblatują również kwiaty taksonów wiatropylnych ze względu na ich wysokie wydajności pyłkowe. Do tych gatunków należy kukurydza, której pyłek może przedostawać się do miodu podczas miodobrania, gdy część komórek w plastrach miodni będzie zawierało pierzgę. W tej chwili występowanie pyłku kukurydzy w polskich miodach nie jest istotne, jednak potencjalne dopuszczenie do uprawy genetycznie modyfikowanej odmiany MON 810 i obecność jej pyłku w miodach może stwarzać problem dla polskiego pszczelarstwa.

Celem badań było opracowanie metody wyeliminowania lub zminimalizowania obecności pyłku kukurydzy w produktach pszczelich przez wysiewanie bardziej atrakcyjnych dla pszczół, pod względem wydajności pyłkowej, gatunków roślin w pobliżu upraw kukurydzy. Intensywność zbioru pyłku kukurydzy przez rodziny pszczele zlokalizowane przy plantacji kukurydzy sąsiadującej z uprawą atrakcyjną pod względem wydajności pyłkowej (gryka i facelia) i kukurydzą w monokulturze oceniano na podstawie analizy pyłkowej obnóży pszczelich pobieranych od rodzin z tych lokalizacji.

W ciągu trzech lat badań wykonano także analizy ponad 600 próbek miodów pochodzących z terenu całego kraju, pozyskanych od związków i organizacji pszczelarskich, a także od pszcze-

* Opracowanie przygotowane w ramach zadania 4.4: „Zaproszenie produktów pszczelich pyłkiem kukurydzy oraz analiza wykorzystania pożytku nektarowego z dobrych roślin pożytkowych przez rodziny pszczele”. Program wieloletni 2015–2020 finansowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Obszar 4.: Działania na rzecz rozwoju pszczelarstwa w warunkach zmieniającego się środowiska.

larzy indywidualnych. Wyniki wskazują, że pyłek kukurydzy może występować w miodach, ze zmieniającym się nasileniem, we wszystkich rejonach kraju.

Wyniki badań potwierdzają, że wysiewanie zarówno gryki, jak i facelii w sąsiedztwie plantacji kukurydzy wpływa na obniżenie zbiorów pyłku kukurydzy przez pszczoły miodne. Metoda ta ma zastosowanie w praktyce, jednak tylko w przypadku, gdy uprawy gryki i facelii będą wysiane w takim okresie, aby zakwitły jeszcze przed początkiem kwitnienia kukurydzy. Pszczoły miodne wykazują silną wierność kwiatową i z tego powodu opóźnione kwitnienie gryki i facelii może spowodować, że robotnice pszczół, które rozpoczną zbiory pyłku z kukurydzy pozostaną wierne temu pożytkowi.

SŁOWA KLUCZOWE | *Apis mellifera*, pszczoła miodna, pożytek pyłkowy, kukurydza, *Zea mays*, MON 810

ABSTRACT | Honeybees most often visit entomophilous plants to collect pollen and nectar. However, sometimes they can also visit flowers of anemophilous species, thanks to their high pollen efficiency. Corn is one of the species, where pollen can get into the honey only during honey harvest when some cells in honeycombs contain bee bread. Nowadays traces of corn pollen in Polish honeys do not pose any threat, but with potential cultivation of genetically modified variety MON 810, its pollen can cause some problems for Polish beekeeping.

The main goal of the research was to find a method of eliminating or minimalizing traces of corn pollen in bee products by sowing plants more attractive to bees, in terms of pollen efficiency, near the corn plantations. Intensity of corn pollen collection by bees located on the corn plantations that neighboured with tillage attractive to bees (buckwheat and phacelia) and monoculture corn, was evaluated based on pollen analysis of pollen loads samples taken from bee colonies from this location.

Moreover, during the three years of research, 600 honey samples were analysed from all over Poland, taken from members of beekeeping organizations and individual beekeepers. The results show that corn pollen can be present in honey in different intensifications in all regions of the country.

Results confirm that sowing both buckwheat and phacelia in the close proximity of the corn plantations reduce amounts of corn pollen collected by honeybees. This method has a practical usage, but only if buckwheat and phacelia will bloom before corn. Honeybees show strong flower loyalty, and late blooming of buckwheat and phacelia can cause that bees will start collecting corn pollen and will stay loyal to those flowers.

KEYWORDS | *Apis mellifera*, honeybee, pollen benefit, corn, *Zea mays*, MON 810

Wprowadzenie

Pszczoła miodna jest nierozzerwalnie związana z owadopylnymi roślinami kwiatowymi. Występuje tu ścisła symbioza, która jest warunkiem egzystencji tych obu grup organizmów. Z jednej strony rośliny dostarczają owadom nektaru i pyłku, a z drugiej owady świadczą usługę zapylania, która jest niezbędna do wydania owoców i nasion.

Głównymi roślinami pożytkowymi pszczół miodnych są gatunki owadopylne. W większości dostarczają one owadom zarówno nektaru (źródło energii), jak i pyłku (pokarm białkowy), który jest niezbędny do wychowywania potomstwa. Bardzo często jednak w celu zbioru pyłku robotnice pszczoły miodnej oblatują kwiaty roślin wiatropylnych. Do tych gatunków należą: leszczyna (*Corylus* spp.), dąb (*Quercus* spp.), wiąz (*Ulmus* spp.), topola (*Populus* spp.), babka (*Plantago* spp.), szczaw (*Rumex* spp.), trawy (Poaceae), a wśród nich kukurydza (*Zea mays*) i wiele innych. W tym przypadku nie możemy mówić o dwustronnych korzyściach, ponieważ pszczoły nie biorą udziału w zapylaniu, tym bardziej że u gatunków wiatropylnych mamy często do czynienia z kwiatami rozdzielnopłciowymi (zabezpieczenie przed zapyleciem własnym pyłkiem). Nie zmienia to jednak faktu, że rośliny wiatropylne są bardzo atrakcyjnym źródłem pyłku dla pszczół. Atrakcyjność tych roślin wynika głównie z wydajności pyłkowej, która jest zwykle wyższa niż taksonów owadopylnych. Do takich gatunków należy kukurydza, np. wydajność pyłkowa kukurydzy cukrowej (*Zea mays* L. subsp. *mays* grupa *Saccharata*) wynosi 173 kg z 1 ha uprawy [1]. Natomiast wydajność pyłkowa rzepaku ozimego, owadopylnej rośliny, która uchodzi za wysoce pyłkodajną, wynosi 115–160 kg/1 ha [2]. Ponadto kwitnienie kukurydzy przypada w czasie, kiedy w wielu rejonach kraju występuje niedostatek pożytku pyłkowego dostarczanego przez inne gatunki roślin, co w okresie intensywnego wychowu czerwiu sprawia, że pyłek kukurydzy jest szczególnie atrakcyjny. Poza wysoką wydajnością pyłek kukurydzy jest dość atrakcyjny dla pszczół, szczególnie w fazie rozwoju larwalnego, również ze względu na swe właściwości odżywcze, co stwierdziła Maurizio [3]. Ma na to niewątpliwie wpływ dość wysoka zawartość białka (23,9%) [4].

Obecnie jedynym badaniem umożliwiającym określenie pochodzenia botanicznego produktów pszczelich jest analiza pyłkowa. Pozwala ona na oznaczenie gatunków oblatywanych roślin na podstawie charakterystycznych cech budowy ziaren pyłku. Celem analizy palinologicznej miodów jest oszacowanie procentowego udziału nektaru z poszczególnych gatunków roślin nektarodajnych na podstawie procentowej zawartości pyłku tych roślin w osadzie miodowym. Z tego powodu ziarna pyłku roślin wiatropylnych, a także owadopylnych niedostarczających nektaru, są w tej analizie pomijane lub liczone oddzielnie. Uwzględnienie pyłku tych gatunków w wyliczeniach spowodowałoby obniżenie procentowej zawartości pyłku roślin nektarodajnych, a w konsekwencji błędny wynik analizy.

W tym miejscu należałoby wspomnieć o kilku powodach obecności pyłku w miodach. Pierwszy, główny, związany jest z budową kwiatów, z których pszczoły zbierają nektar. Gdy pylniki znajdują się dostatecznie blisko nektarników, sypki pyłek łatwo dostaje się do nektaru. Sprzyjają temu również podmuchy wiatru i odwiedzanie kwiatów przez owady, które strącają pyłek do nektaru.

Nektar zaproszony pyłkiem pobierany jest przez robotnice pszczoły miodnej do wola i przenoszony do ula.

Innym powodem obecności pyłku w miodach jest wirowanie przez pszczelarzy plastrów z komórkami pierzgi. W tradycyjnej gospodarce pasiecznej pszczelarze w czasie intensywnego rozwoju rodzin pszczelich, w celu zniewelowania nastroju rojowego, poddają ramki z wtopioną węzą. Gdy rodzina pszczela jest tak silna, że plastry wypełniają cały korpus gniazdowy ula, aby dodać węzę, należy usunąć część plastrów z gniazda i przenieść je do miodni. Wykorzystuje się wówczas plastry z tzw. czerwem zasklepionym, w pobliżu którego zwykle znajdują się komórki z pierzgą. Po kilku dniach z tych plastrów wygryzają się młode pszczoły, a puste komórki oraz te nie do końca uzupełnione pierzgą są wypełniane nektarem. Na początku nektar, a później miód, ze względu na zawartość wody, powoduje rozmiękanie pierzgi, która w czasie odwirowywania miodu, w części lub w całości, wydostaje się na zewnątrz, powodując wtórne doproszenie miodu pyłkiem. Jeżeli w pierzdze znajduje się pyłek kukurydzy, wówczas istnieje wysokie ryzyko jego przedostania się do miodu.

Pewna ilość pyłku roślin wiatropylnych dostaje się do miodu wraz ze spadzią występującą, czasem obficie, na liściach niektórych drzew, jak: lipa, klon, dąb, a z iglastych: świerk, jodła, modrzew, do której łatwo się przyklejają. Wśród tych ziaren może znajdować się również pyłek kukurydzy.

Na podstawie różnych publikacji dotyczących analiz pyłkowych miodów, pierzgi czy obnóży pyłkowych można stwierdzić, że pyłek kukurydzy występuje w produktach pszczelich dość często, a jego procentowa zawartość w badanych próbkach waha się w szerokim zakresie. Stosunkowo najmniejsze ilości pyłku kukurydzy spotyka się w miodach, ponieważ dostaje się on tam w wyniku wtórnego doproszenia miodu pyłkiem z pierzgi. W tej sytuacji zawartość pyłku kukurydzy w miodzie zależy od stopnia zaproszenia pierzgi tym pyłkiem. Większe zawartości wykazywane są w obnóżach pyłkowych i pierzdze. Jednak i w tym przypadku poziom zaproszenia pyłkiem kukurydzy jest zróżnicowany. Ma to związek z porą sezonu oraz charakterystyką florystyczną terenu wokół pasieki. Wróblewska [5] podaje, że wśród 200 próbek miodów z Podlasia 8% miodów zawierało pyłek kukurydzy, a wśród pyłków roślin wiatropylnych i nienektarujących stanowił on do 16%. W tej samej publikacji wspomina się o obecności pyłku kukurydzy w 11% spośród 54 próbek pierzgi. Natomiast Stawiarz i Wróblewska [6] donoszą, że 30% z 73 próbek miodów wielokwiatowych pochodzących z terenu Wyżyny Sandomierskiej zawierało pyłek kukurydzy. Wróblewska i wsp. [7] także odnotowują obecność pyłku kukurydzy w pierzdze pochodzącej z Lubelszczyzny. Również Warakomska i wsp. [8] stwierdzili obecność pyłku kukurydzy w ponad 90% spośród 109 prób pierzgi pobranych od rodzin wywiezionych na nasienną plantację lucerny. W 2% próbek zawartość pyłku kukurydzy przekraczała 50%.

W kontekście potencjalnej obecności pyłku transgenicznych odmian kukurydzy MON 810 celem badań było opracowanie metody wyeliminowania lub zminimalizowania jego obecności w produktach pszczelich przez zastosowanie izolacji przestrzennej pasieki od plantacji kukurydzy oraz wysiewanie w pobliżu upraw kukurydzy bardziej atrakcyjnych dla pszczół, pod względem wydajności pyłkowej, gatunków roślin, takich jak: facelia błękitna (*Phacelia tanacetifolia* Benth.) i gryka zwyczajna (*Fagopyrum esculentum* Moench).

Materiał i metody

Organizacja doświadczeń

Badania wykonano w latach 2015–2017. W doświadczeniach mających na celu sprawdzenie preferencji pszczół miodnych w stosunku do pyłku kukurydzy, a przeprowadzonych w pasiece stacjonującej obok plantacji kukurydzy, w 2016 i 2017 roku wykorzystano 45 rodzin pszczelich. Rodziny podzielono na 3 losowo wybrane grupy, po 15 uli każda. W 2016 roku wysiano nasiona gryki (w miejscowości Policzna, na powierzchni 5 ha) oraz kukurydzę (w miejscowościach Policzna i Gębarzów, na areale po 15 ha). Na tych samych areałach, lecz w innych lokalizacjach w 2017 roku wysiano nasiona facelii (w Filipinowie) oraz kukurydzę (w Filipinowie i Ługowej Woli).

W obu latach badań po 15 rodzin pszczelich wywieziono kilka dni przed zakwitnięciem kukurydzy, a w pełni kwitnienia gryki i facelii (Policzna I, Filipinów I). Drugi termin wywozu po 15 rodzin pszczelich na każdą lokalizację wyznaczono na czas, gdy kukurydza rozpoczynała kwitnienie (Policzna II, Filipinów II). W dniu przewiezienia pszczół w każdej grupie rodzin zainstalowano po 5 dennicowych poławiaczy pyłku.

Obnóża pszczele do badań palinologicznych pobierano w okresie kwitnienia kukurydzy: w 2016 roku w trzech terminach (15, 21 i 25 lipca), a w 2017 roku w sześciu terminach (13, 18, 21, 25, 28, 31 lipca), oddzielnie dla każdej rodziny pszczelej, lokalizacji i terminu wywiezienia pszczół. Obnóża przesypywano do oznaczonych foliowych worków. Po przewiezieniu do laboratorium pyłek był zamrażany.

Analiza pyłkowa obnóży pszczelich, pierzgi i miodu

We wrześniu pobrane próbki obnóży pyłkowych poddano analizie pyłkowej w celu określenia w nich procentowej zawartości pyłku kukurydzy.

Obnóża pszczele w obrębie każdej próby były dokładnie mieszane w celu ich ujednoczenia. Następnie z każdej próby obnóży odmierzano porcje ok. 10 g i przesypywano je do opisanych, zakręcanych słoików o pojemności 200 ml i zalewano 50 ml wody destylowanej. Obnóża zalane wodą pozostawiono na 24 godz. do rozmięknienia, wstrząsając je energicznie od czasu do czasu.

Następnego dnia przygotowano podpisane mikroskopowe szkiełka podstawowe i po dokładnym wymieszaniu zawiesiny pyłku, za pomocą ezy, wykonywano – oddzielnie dla każdej próby – rozmazy na szkiełkach podstawowych. Podsuszone rozmazy nakrywano szkiełkiem nakrywkowym, umieszczając na nim kroplę glicero-żelatyny. Tak przygotowane preparaty posłużyły do wykonania mikroskopowej analizy palinologicznej obnóży. Ponadto wykonano analizę pyłkową próbek pierzgi pobranej po sezonie z rodzin stacjonujących na danym pożytku, a także przeprowadzono badania monitoringowe miodów pochodzących z terenu całej Polski pod kątem obecności w nich pyłku kukurydzy.

Analizę pyłkową wykonywano przy użyciu mikroskopu biologicznego Olympus BX51 przy powiększeniu 400'. W kolejnych polach widzenia mikroskopu liczono wszystkie ziarna pyłku, klasyfikując je, w miarę możliwości, do gatunku, rodzaju, rodziny lub typu budowy. Wyniki wpisywano do przygotowanego wcześniej arkusza kalkulacyjnego w celu wyliczenia procentowej zawartości poszczególnych typów pyłku. Ziarna pyłku zliczano do momentu, kiedy ich suma przekroczyła 300. Empirycznie udowodniono, że podczas wykonywania jakościowej analizy pyłkowej policzenie 300 ziaren pyłku w preparacie mikroskopowym, z podziałem na typy pyłku, daje wynik reprezentatywny dla próby [9].

Po zakończeniu kwitnienia kukurydzy rodziny pszczele zwieziono na miejsce ich stałego stacjonowania – na teren pasieczyska Zakładu Pszczelnictwa IO w Puławach.

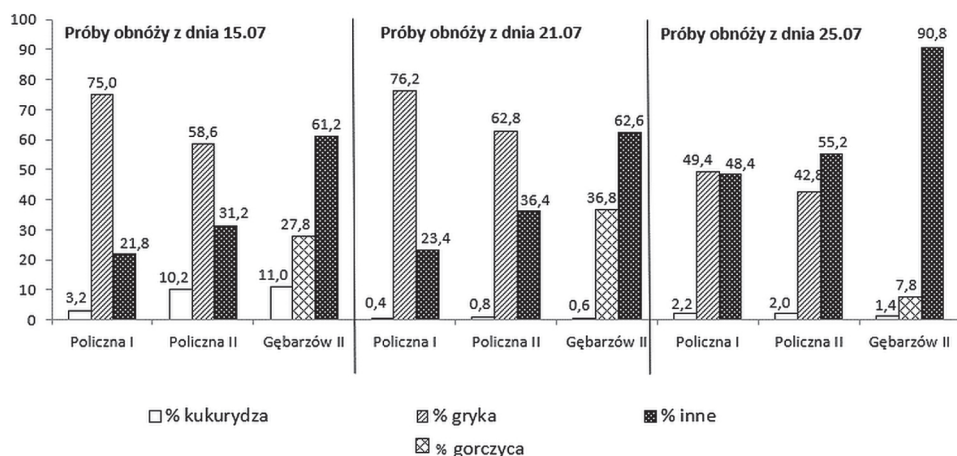
Wyniki i dyskusja

Analiza palinologiczna obnóży pszczelich

Wyniki analiz pyłkowych obnóży pszczelich pobranych w różnych terminach 2016 i 2017 roku dla poszczególnych grup rodzin pszczelich obrazują wykresy przedstawione na rycinach 1 i 2.

Ze względu na krótki okres kwitnienia kukurydzy w 2016 roku (pełnia kwitnienia poniżej tygodnia) najbardziej widoczne różnice można zaobserwować w wynikach analizy próbek obnóży pobranych w pierwszym terminie – 15 lipca (ryc. 1). W tym czasie rodziny pszczele wywiezione na doświadczenie

przed zakwitnięciem kukurydzy wykazywały podczas zbioru pyłku wierność kwiatową w stosunku do gryki i zbierały pyłek kukurydzy mniej chętnie niż rodziny wywiezione na początku pełni kwitnienia kukurydzy. Procentowa zawartość pyłku kukurydzy w obnóżach pszczelich przynoszonych przez rodziny wywiezione na plantacje w czasie kwitnienia kukurydzy, zarówno w części doświadczenia z wysianą gryką w pobliżu, jak i bez tej uprawy, była ponad trzykrotnie wyższa niż w rodzinach wywiezionych we wcześniejszym terminie. W obnóżach pyłkowych pobranych w późniejszych terminach różnice w procentowej zawartości pyłku kukurydzy pomiędzy poszczególnymi grupami rodzin pszczelich były bardzo małe. Było to zapewne związane ze zmniejszającą się dostępnością pyłku w przekwitających wiechach kukurydzy.

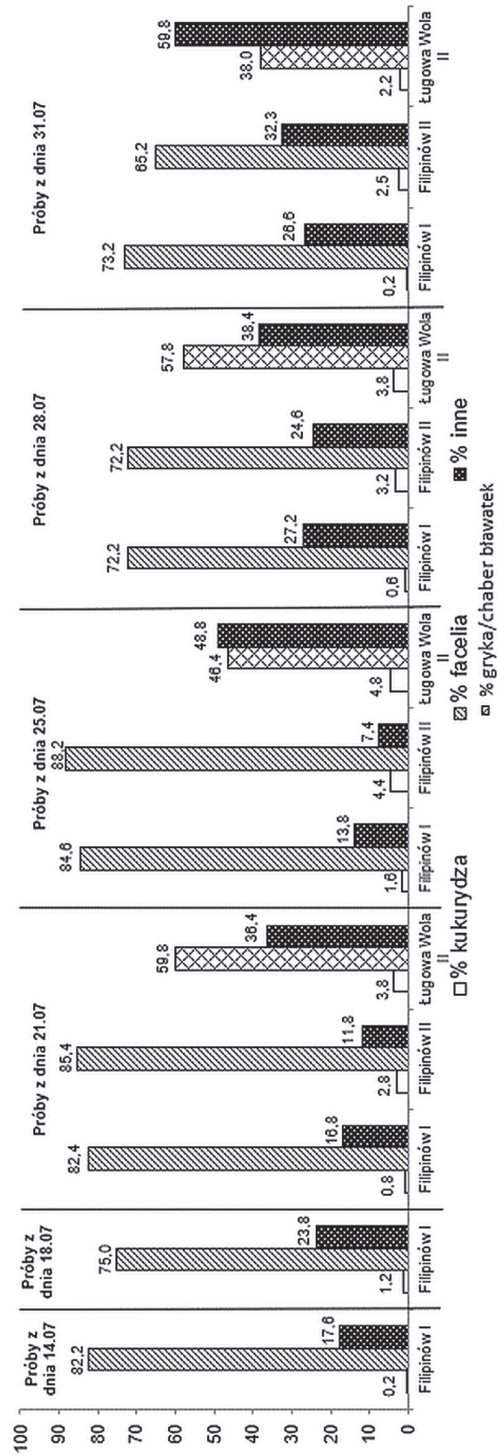


Ryc. 1. Wyniki analiz palinologicznych próbek obnóży pyłkowych pobranych z rodzin pszczelich w 2016 roku

Poza pyłkiem kukurydzy i gryki w obnóżach pszczelich z 2016 roku stwierdzono obecność innych pyłków, w zależności od miejsca zbioru:

- Policzna (od najwyższej frekwencji do najniższej) – słonecznik, babka, typ maliny, różowate, kapustowate, ostrożeń, trawy, chaber bławatek, koniczyna biała, wiesiołkowate, typ trybuli, szczaw, cykoria, krwawnik, nawłóć, czosnek, chaber driakiewnik, liliowate, koniczyna czerwona, komonica;
- Gębarzów (od najwyższej frekwencji do najniższej) – gorczyca, babka, koniczyna czerwona, cykoria, pięciornik, szczaw, koniczyna biała, barszcz, krwawnik, różowate, chaber bławatek, komosowate, typ trybuli, słonecznik, ostrożeń, chaber driakiewnik, chaber łąkowy, bylica, gryka, fiołek trójbarwny.

Okres kwitnienia kukurydzy w 2017 roku był dwukrotnie dłuższy niż rok wcześniej i trwał dwa tygodnie. Procentowa zawartość pyłku kukurydzy we wszystkich próbkach obnóży pszczelich, bez względu na termin ich pobierania i lokalizację, była stosunkowo niska i nie przekraczała 5% (ryc. 2), podczas gdy



Ryc. 2. Wyniki analiz palinologicznych próbek obnoży pyłkowych pobranych z rodzin pszczelich w 2017 roku

rok wcześniej w szczytowym momencie pylenia wiech zawartość pyłku kukurydzy w obnóżach od rodzin wywiezionych w drugim terminie była dwukrotnie wyższa. Zawartość pyłku kukurydzy w obnóżach pszczelich pochodzących od rodzin wywiezionych przed zakwitnięciem kukurydzy była wyraźnie niższa niż w rodzinach przywiezionych na plantację, gdy kukurydza wchodziła w pełnię kwitnienia. Miało to zapewne związek, podobnie jak rok wcześniej, z typową dla pszczół miodnych wiernością kwiatową. W kombinacji, gdzie w sąsiedztwie kukurydzy wysiana była facelia, zawartość pyłku tej rośliny w obnóżach pyłkowych była bardzo wysoka i przekraczała 70%. Procentowy udział pyłku kukurydzy w próbkach z Ługowej Woli (II termin wywozu pszczół), przy braku facelii w pobliżu, był zbliżony lub przewyższał wyniki uzyskane z próbek od rodzin z II terminu z Filipinowa.

Poza pyłkiem kukurydzy i facelii w obnóżach pszczelich z 2017 roku stwierdzono także pyłki innych roślin, w zależności od miejsca zbioru:

- Filipinów (od najwyższej frekwencji do najniższej) – gryka, chaber bławatek, koniczyna biała, koniczyna czerwona, słonecznik, babka, kapustowate, mak, chaber driakiewnik, komosowate, fiołek, krwawnik;
- Ługowa Wola (od najwyższej frekwencji do najniższej) – słonecznik, gryka, koniczyna biała, facelia, koniczyna czerwona, ostrożeń, babka, krwawnik, cykoria podróżnik, komonica, bylica, szczaw.

Podsumowując dwuletnie badania mające na celu ocenę wpływu rośliny konkurencyjnej w stosunku do kukurydzy i atrakcyjnej pod względem wydajności pyłkowej, można stwierdzić, że kukurydza jest gatunkiem stosunkowo mało atrakcyjnym dla pszczół miodnych jako źródło pożytku pyłkowego. Jednakże w przypadku gdy okolica jest uboga w inną roślinność pyłkodajną, robotnice pszczoły miodnej mogą wykorzystywać ten pożytek. Wysianie w pobliżu tej uprawy na odpowiednio dużej powierzchni gryki lub facelii znacząco wpływa na zmniejszenie zainteresowania pszczół pyłkiem kukurydzy. Podstawowym warunkiem skuteczności zastosowania tej metody jest wysiew nasion tych gatunków w terminie, który spowoduje zakwitnięcie ich kwiatów przed kwitnieniem kukurydzy.

Analiza pyłkowa próbek pierzgi

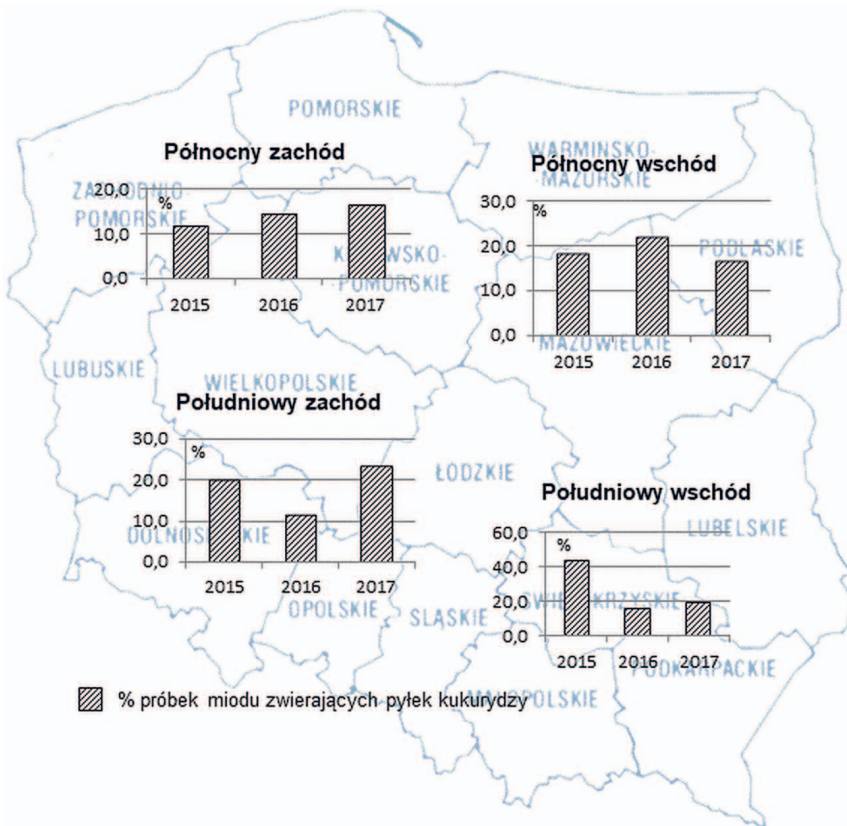
W 15 próbkach pierzgi pobranej przed wywiezieniem pszczół na doświadczenie nie stwierdzono pyłku kukurydzy. Natomiast w próbkach pobranych po zakończeniu kwitnienia kukurydzy (15 próbek) pyłek kukurydzy stwierdzono w 11 próbkach, jednak jego zawartość mieściła się w granicach 0,5–2,0%.

Analiza palinologiczna 30 próbek miodów wiosennych z 2017 roku, pobranych z rodzin doświadczalnych, w których nie instalowano poławiaczy pyłku, wykazała obecność pyłku kukurydzy tylko w 2 próbkach, i to w postaci po-

jedynczych ziaren. Było to zapewne spowodowane tym, że w miodni nie było komórek z pierzga pochodzącą z poprzedniego sezonu.

Wyniki badań monitoringowych miodów z terenu Polski

W ramach zaplanowanych prac w latach 2015–2017 prowadzono badania miodów pochodzących z terenu całej Polski pod względem obecności pyłku kukurydzy. Przebadano łącznie ponad 600 próbek miodów przekazanych przez związki i organizacje pszczelarskie, a także pszczelarzy indywidualnych. Rezultaty badań obrazujące frekwencję pyłku kukurydzy w polskich miodach pogrupowano w cztery rejony (ryc. 3). Wyniki wskazują, że pyłek kukurydzy może występować w miodach, ze zmieniającym się nasileniem, we wszystkich rejonach kraju. Najwięcej, bo aż ponad 40%, próbek miodu z pyłkiem kukurydzy odnotowano



Ryc. 3 Frekwencja pyłku kukurydzy w miodach z różnych rejonów kraju w latach 2015–2017

w 2015 roku w miodach pochodzących z południowo-wschodnich rejonów Polski. Kukurydza jest uprawiana obecnie niemal wszędzie na zróżnicowanej powierzchni, zmieniającej się w poszczególnych latach. Gatunek ten, należący do rodziny traw (Poaceae), nie dostarcza nektaru. Z tego powodu jedynym źródłem pyłku kukurydzy w miodach jest pierzga.

Podsumowanie i wnioski


Wysiewanie zarówno gryki, jak i facelii w sąsiedztwie plantacji kukurydzy wpływa na obniżenie zbiorów pyłku kukurydzy przez pszczoły miodne. Metoda ta ma jednak zastosowanie tylko w przypadku, gdy uprawy gryki i facelii będą wysiane w takim okresie, aby zakwitły jeszcze przed początkiem kwitnienia kukurydzy. Pszczoły miodne wykazują silną wierność kwiatową i z tego powodu opóźnienie kwitnienia gryki i facelii może spowodować, że robotnice pszczół, które rozpoczną zbiory pyłku z kukurydzy, pozostaną wierne temu pożytkowi. Odpowiednio wczesny wysiew gatunków bardziej atrakcyjnych dla pszczół niż kukurydza jest skuteczny również w pasiekach stacjonarnych, w których pszczoły przyzwyczajają się do zbioru pyłku z gryki lub facelii i pozostają im wierne, dlatego oblatują kukurydżę ze znacznie mniejszą intensywnością.

Wyniki badań pozwalają na sformułowanie następujących wniosków.

1. Pszczoły z rodzin wywiezionych w pobliżu plantacji kukurydzy ok. tygodnia przed kwitnieniem uprawy mniej chętnie zbierają pyłek z kukurydzy, wykazując wierność kwiatową w stosunku do kwitnącej wcześniej gryki i facelii, niż pszczoły wywiezione na początku kwitnienia kukurydzy.
2. Procentowa zawartość pyłku kukurydzy w obnóżach pyłkowych zebranych od rodzin pszczelich wystawionych w sąsiedztwie uprawy gryki i facelii oraz bez tych upraw w pobliżu, a wywiezionych na początku pełni kwitnienia kukurydzy jest podobna.
3. Wysiew gryki i facelii na powierzchni 5 ha w pobliżu plantacji kukurydzy wyraźnie wpływa na zmniejszenie zbiorów pyłku z kukurydzy w pasiece przywiezionej tydzień przed kwitnieniem tej uprawy (również w pasiekach stacjonarnych).
4. Największe ryzyko obecności pyłku kukurydzy w obnóżach pszczelich występuje w okresie pełni kwitnienia uprawy.
5. Ryzyko występowania pyłku kukurydzy w miodach jest zbliżone na terenie całej Polski.

Wykaz cytowanej literatury

1. Nowakowski J, Morse R. The behaviour of honey bees in sweet corn fields in New York state. *Amer Bee J.* 1982; January: 13–16.
2. Koltowski Z. Beekeeping value of recently cultivated winter rapeseed cultivars. *J Apic Sci.* 2002; 46(2): 23–33.
3. Maurizio A. Untersuchungen über den Einfluss der Pollenernährung und Brutpflege und die Lebensdauer und den physiologischen Zustand der Bienen. Report of the XIVth Int. Beekeeping Congr. Leamington Spa; 1951, p. 320.
4. Roulston TH, Cane JH, Buchmann SL. What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen-pistil interactions, or phylogeny? *Ecol Monographs* 2000; 70(4): 617–643.
5. Wróblewska A. Rośliny pożytkowe Podlasia w świetle analizy pyłkowej produktów pszczelich. Lublin: Wydawnictwo Akademii Rolniczej; 2002.
6. Stawiarz E, Wróblewska A. Melissopalynological analysis of multifloral honeys from the Sandomierska Upland area of Poland. *J Apic Sci.* 2010; 54(1): 65–75.
7. Wróblewska A, Warakomska Z, Kamińska M. The pollen spectrum of bee bread from the Lublin region (Poland). *J Apic Sci.* 2010; 54(2): 81–89.
8. Warakomska Z, Konarska A, Żuraw B, Ptáček V. Analiza pyłkowa pierzgi pobranej od rodzin pszczelich (*Apis mellifica* L.) wywiezionych na uprawy nasienne lucerny (*Medicago sativa* L.). *Pszczeln Zesz Nauk.* 1994; 38: 109–118.
9. Moar NT. Pollen analysis of New Zealand honey. *New Zealand J Agric Res.* 1985; 28: 39–70.



Badania stabilności nitroimidazoli i tetracyklin w miodzie przechowywanym w warunkach laboratoryjnych*

Stability of nitroimidazoles and tetracyclines in honey stored in laboratory conditions

MAJA ANT CZAK^{1*}  <https://orcid.org/0000-0002-5779-2024>

KAMIŁA MITROWSKA¹  <https://orcid.org/0000-0003-2277-6902>

¹ Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach
al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

* Autor do korespondencji: maja.antczak@piwet.pulawy.pl

STRESZCZENIE | Choroby bakteryjne i pierwotniacze pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.) takie jak zgnilec amerykański (AFB), zgnilec europejski (EFB) czy nosemoza zazwyczaj zwalczane są przy użyciu leków przeciwdrobnoustrojowych należących m.in. do grupy tetracyklin i nitroimidazoli. Jednakże ich stosowanie w pszczelarstwie w krajach Unii Europejskiej nie jest prawnie dopuszczone, gdyż nie ma dla nich wyznaczonych maksymalnych limitów pozostałości (MRLs, ang. *Maximum Residue Limits*) w miodzie. W konsekwencji, nielegalne stosowanie tych leków może doprowadzić do gromadzenia się ich pozostałości w miodzie.

Celem doświadczenia było określenie warunków przechowywania miodu, które umożliwiłyby wykrycie nitroimidazoli i tetracyklin w przypadku nielegalnego ich zastosowania w pasiece. Wzbogacony 4 nitroimidazolami (metronidazol, dimetridazol, ronidazol, ipronidazol) i 4 tetracyklinami (oksytetracyklina, tetracyklina, chlorotetracyklina, doksycyklina) miód przechowywano przez rok w czterech różnych temperaturach: -22°C , $+4^{\circ}\text{C}$, 22°C i 35°C . Stwierdzono, że nitroimidazole w miodzie przechowywanym w temperaturze -22°C zachowują stabilność (do 80%) przez rok, a tetracykliny przez 7 miesięcy. W temperaturze 4°C nitroimidazole i tetracykliny w miodzie są mniej stabilne (odpowiednio przez 4 i 3 miesiące), zaś w temperaturze 22°C nitroimidazole i tetracykliny są stabilne tylko przez 2 tygodnie. Ipronidazol wśród nitroimidazoli i oksytetracyklina z grupy tetracyklin wykazują największą wrażliwość na zmiany temperatury w trakcie przechowywania miodu w każdym testowanych warunkach laboratoryjnych. Po 2 tygodniach przechowywania w temperaturze 35°C zawartość ipronidazolu i oksytetracykliny zmalała odpowiednio o 41% i 81%. Wyniki wskazują, że optymalną temperaturą przechowywania miodu zapewniającą wykrycie w badaniach kontrolnych miodu nielegalnie stosowanych leków jest temperatura poniżej 4°C , która zapewnia stabilność (do 80%) wszystkich badanych nitroimidazoli i tetracyklin przez okres przynajmniej 3 miesięcy. Z drugiej strony temperatura

* Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr 2015/19/B/NZ7/02356.

35°C zazwyczaj panująca w ulu nie pozwala na całkowitą degradację nitroimidazoli i tetracyklin (z wyjątkiem oksytetracykliny i tetracykliny) w miodzie przechowywanym nawet przez okres roku.

SŁOWA KLUCZOWE | miód, stabilność, nitroimidazole, tetracykliny, temperatura, czas, pozostałości

ABSTRACT | Bacterial and protozoal diseases of honeybees (*Apis mellifera* L.) such as American foulbrood (AFB), European foulbrood (EFB) and Nosema diseases have usually been treated with antibacterials including tetracyclines and nitroimidazoles. However, their use in commercial beekeeping is prohibited by law in the European Union because there are no Maximum Residue Limits (MRLs) for these drugs in honey. As a consequence, their illegal use could result in an accumulation of their residues in honey.

The aim of the experiment was to determine the storage conditions of honey that would allow the detection of nitroimidazoles and tetracyclines in case of their illegal use in an apiary. Honey fortified with 4 nitroimidazoles (metronidazole, dimetridazole, ronidazole, ipronidazole) and 4 tetracyclines (oxytetracycline, tetracycline, chlorotetracycline, doxycycline) was stored for 1 year at four different temperatures: -22°C, +4°C, 22°C and 35°C. The results have showed that nitroimidazoles in honey stored at -22°C are stable (up to 80%) for 1 year and tetracyclines for 7 months. At 4°C nitroimidazoles and tetracyclines in honey are less stable (for 4 and 3 months respectively) and at 22°C nitroimidazoles and tetracyclines are stable for only 2 weeks. Ipronidazole among nitroimidazoles and oxytetracycline among tetracyclines show the highest sensitivity to temperature changes during honey storage under all tested laboratory conditions. After 2 weeks of storage at 35°C, ipronidazole and oxytetracycline content decreased by 41% and 81% respectively. Results indicate that the optimum storage temperature for honey to detect illegally used drugs in control tests is below 4°C, which ensures stability (up to 80%) of all tested nitroimidazoles and tetracyclines for at least 3 months. On the other hand, the temperature of 35°C usually prevailing in the hive does not allow complete degradation of nitroimidazoles and tetracyclines (except oxytetracycline and tetracycline) in honey stored for up to 1 year.

KEYWORDS | honey, stability, nitroimidazoles, tetracyclines, temperature, time, residues

Wprowadzenie

Choroby bakteryjne i pierwotniacze pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.) mogą poważnie zmniejszyć populację pszczół i obniżyć pozyskanie produktów pszczelich, powodując znaczne szkody dla zapylania i pozyskiwania produktów pszczelich. Do grupy najbardziej rozpowszechnionych chorób pszczół, a tym samym powodujących poważne problemy ekonomiczne, należą zgnilec amerykański (AFB), zgnilec europejski (EFB) i nosemoza. Infekcje te zazwyczaj zwalczane są przy użyciu leków przeciwdrobnoustrojowych należących do grupy tetracyklin lub nitroimidazoli. Jednakże ich stosowanie w pszczelarstwie w krajach Unii Europejskiej (UE) nie jest prawnie dopuszczone, gdyż nie ma dla nich wyznaczonych maksymalnych limitów pozostałości (MRLs, ang. *Maximum Residue*

Limits) w miodzie [1] ze względu na ich działanie toksyczne. Metronidazol (MNZ) należący do nitroimidazoli i oksytetracyklina (OTC) z grupy tetracyklin są powszechnie stosowane w zwalczaniu wymienionych chorób. MNZ został zakwalifikowany przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) do grupy 2B obejmującej substancje potencjalnie rakotwórcze dla człowieka, a obecność OTC w żywności pochodzenia zwierzęcego może prowadzić do oporności na leki i reakcji alergicznych u ludzi. W konsekwencji, nielegalne stosowanie tych leków może doprowadzić do gromadzenia się ich pozostałości w produktach pszczelich, takich jak miód czy wosk, ponieważ pszczoły w znikomym stopniu metabolizują substancje farmakologicznie czynne, przez co podane leki w dużym stopniu przechodzą do miodu, a ich eliminacja następuje głównie na drodze degradacji chemicznej, tj. rozkładu termicznego, hydrolizy kwasowej lub innej reakcji chemicznej ze składnikami miodu [2, 3]. W badaniach kontrolnych pozostałości tetracykliny i nitroimidazole, obok sulfonamidów, są grupami substancji przeciwdrobnoustrojowych najczęściej wykrywanymi w urzędowo pobieranych próbkach miodu w UE. W celu zwiększenia ochrony zdrowia konsumenta, oprócz odpowiednio czułych metod badawczych stosowanych w badaniach kontrolnych, potrzebna jest również wiedza na temat optymalnych warunków przechowywania miodu w laboratorium zapewniających wykrycie nielegalnie stosowanych leków. Dlatego celem pracy było zbadanie stabilności nitroimidazoli i tetracyklin w miodzie przechowywanym w różnych warunkach laboratoryjnych, a następnie określenie, w jakiej temperaturze i jak długo należy przechowywać miód, by umożliwić wykrycie nitroimidazoli i tetracyklin w przypadku ich nielegalnego zastosowania w pasiece.

Materiały i metody

Odczynniki i materiały

W badaniach wykorzystano odczynniki klasy analitycznej oraz rozpuszczalniki klasy HPLC. Do przygotowywania roztworów korzystano z wody o stopniu czystości I otrzymanej metodą odwróconej osmozy przy użyciu zestawu Milli-Q plus z Millipore (Bedford, MA, USA). Acetonitryl pochodził od producenta J.T. Baker (Deventer, Holandia), bezwodny cytrynian trisodu i 35–38% kwas solny (HCL) od Poch S.A. (Gliwice, Polska), a kwas mrówkowy od Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Kolumnienki Strata-X SPE (100 mg, 6 ml) dostarczono z firmy Phenomenex (Torrance, CA, USA). Filtry strzykawkowe z polifluorkiem winylidenu (PVDF) (13 mm, 0,22 μm) nabyto w firmie Restek (Bellefonte, PA, USA). Substancje wzorcowe: 4-epioksy-tetracyklinę (4-epiOTC), 4-epichlor-te-

tracyklinę (4-epiCTC) zakupiono w LGC Standards (Teddington, Middlesex, UK), a oksytetracyklinę (OTC), tetracyklinę (TC), chlorotetracyklinę (CTC), doksycyklinę (DC), 4-epitetracyklinę (4-epiTC), metronidazol (MNZ), dimetridazol (DMZ), ronidazol (RNZ) dostarczono z firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Ipronidazol (IPZ), hydroksymetronidazol (MNZOH), hydroksymetylo-1-metylo-5-nitroimidazol (HMMNI) i hydroksyipronidazol (IPZOH) oraz znakowane izotopowo substancje wzorcowe stosowane jako wzorce wewnętrzne: metronidazol- $^{13}\text{C}_2,^{15}\text{N}_2$ (MNZ- $^{13}\text{C}_2,^{15}\text{N}_2$), dimetridazol- D_3 (DMZ- D_3), ronidazol- D_3 (RNZ- D_3), ipronidazol- D_3 (IPZ- D_3), hydroksymetronidazol- D_2 (MNZOH- D_2), hydroksymetylo-1-metylo-5-nitroimidazol- D_3 (HMMNI- D_3) i hydroksyipronidazol- D_3 (IPZOH- D_3) zostały zakupione w Witega Laboratorien Berlin-Adlershof (Berlin, Niemcy). Do przygotowania materiału do badań użyto miodu wielokwiatowego pochodzącego z pasieki, w której nie stosowano nitroimidazoli i tetracyklin.

Układ doświadczenia badania stabilności

Przygotowanie materiału badawczego

Miód upłynniono w temperaturze 38°C i po osiągnięciu temperatury pokojowej wzbogacono mieszaniną nitroimidazoli (MNZ, DMZ, RNZ, IPZ) oraz tetracyklin (OTC, CTC, TC, DC) na poziomie $100\ \mu\text{g}/\text{kg}$. Materiał badawczy wymieszano i podzielono na 168 porcji o masie 1 g. Bezpośrednio po przygotowaniu wybrane losowo 20 porcji przeznaczono do analizy jednorodności, a pozostałe przechowywano w różnych warunkach temperaturowych.

Przechowywanie materiału badawczego

Porcje z materiałem badawczym bezpośrednio po przygotowaniu przechowywane były w temperaturze: $-22 \pm 2^\circ\text{C}$ (zamrażarka), $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (lodówka), $22 \pm 4^\circ\text{C}$ (pokój laboratoryjny w ciemności) i $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (cieplarnia). Następnie porcje miodu pobierano w regularnych odstępach czasu ($x = 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12$ miesięcy) i poddawano analizie w kierunku ilościowego oznaczania nitroimidazoli i tetracyklin.

Statystyczne opracowanie wyników

Obliczoną w analizie jednorodności materiału badawczego ($n = 20$) wartość średnią stężenia analitów przyjęto jako średnie stężenie początkowe. W każdej grupie badanej ($n = 3$) materiału badawczego przechowywanego w różnych temperaturach branych do analizy w regularnych odstępach czasu obliczano wartość średnią stężenia po danym czasie. Stabilność nitroimidazoli i tetra-

cyklin w miodzie w różnych warunkach przechowywania wyrażano jako % zawartości analitu wyliczony według wzoru (1).

$$\% \text{ Zawartości analitu}_{\text{po czasie } x} = \frac{\text{średnie stężenie analitu}_{\text{po czasie } x}}{\text{średnie stężenie początkowe analitu}} \cdot 100\% \quad (1)$$

Metoda oznaczania nitroimidazoli i tetracyklin w miodzie

Do próbki zawierającej 1 g miodu dodano mieszaninę wzorców wewnętrznych na poziomie 50 µg/kg, a następnie dodano 5 ml 1 N HCl. Próbkę wymieszano na wytrząsarce do momentu rozpuszczenia miodu, następnie umieszczono w łaźni wodnej na 15 minut. Ekstrakt doprowadzono do pH 4, dodając 0,5 M roztwór cytrynianu trisodu, odwirowano i oczyszczono techniką ekstrakcji do fazy stałej (SPE), używając kolumnienek Strata X. Otrzymany eluat odparowano do sucha w temperaturze 38°C przy użyciu odparowywacza próżniowego RapidVap (Labconco, USA). Suchą pozostałość rozpuszczono w 0,5 ml 0,1% kwasu mrówkowego i poddano analizie, wykorzystując chromatograf cieczo- wy sprzężony z tandemowym spektrometrem mas (LC-MS/MS) (Shimadzu 8050 LC-MS/MS, Japan). Wszystkie pomiary i obliczenia wykonano przy użyciu oprogramowania LabSolutions LCMS w wersji 5.60 SP2. Rozdzielania chromatograficznego analitów dokonano, stosując kolumnę chromatograficzną z wypełnieniem oktadecylowym (Luna C18(2), 3µ, 150 × 2 mm) i fazę ruchomą składającą się z 0,1% kwasu mrówkowego i acetonitrylu w elucji gradientowej o przepływie 0,3 ml/min. Temperatura kolumny wynosiła 25°C, a objętość dozowana 5 µl. Warunki pracy MS/MS ustawiono z zastosowaniem pozytywnej jonizacji przez elektrorozpraszanie (ESI). Dane zbierane były w trybie monitorowania wybranych reakcji fragmentacji (MRM); do oznaczania nitroimidazoli i tetracyklin monitorowano jeden jon macierzysty i dwie reakcje fragmentacji. Dla każdego wzorca wewnętrznego monitorowano jeden jon macierzysty i jedną reakcję fragmentacji [3, 4]. Stężenie nitroimidazoli i tetracyklin w analizowanych próbkach miodu obliczano z równania krzywej regresji liniowej bardziej intensywnej reakcji fragmentacji względem wzorca wewnętrznego obliczonego z krzywej kalibracyjnej w zakresie 1–125 µg/kg.

Walidacja metody

Metoda oznaczania nitroimidazoli i tetracyklin w miodzie została zwalidowana zgodnie z wymogami decyzji Komisji 2002/657/WE [5], a wszystkie parametry walidacji mieściły się w wymaganych zakresach. Metoda była liniowa w zakresie stężeń 1–125 µg/kg. Współczynnik zmienności (CV) wyniósł od

3% (IPZ) do 11% (DC), a odzyski mieściły się w zakresie od 88% (MNZ) do 107% (DC) na wszystkich poziomach wzbogacenia (2, 50, 100 µg/kg). Limit decyzyjny (CC α) i zdolność wykrywania (CC β) metody wynosiły odpowiednio od 2,12 µg/kg (DC) do 2,61 µg/kg (DMZ) i od 2,13 µg/kg (DC) do 2,81 µg/kg (TC). Granica wykrywalności (LOD) i granica oznaczalności (LOQ) metody dla wszystkich nitroimidazoli i tetracyklin była odpowiednio na poziomie 1 µg/kg i 2 µg/kg.

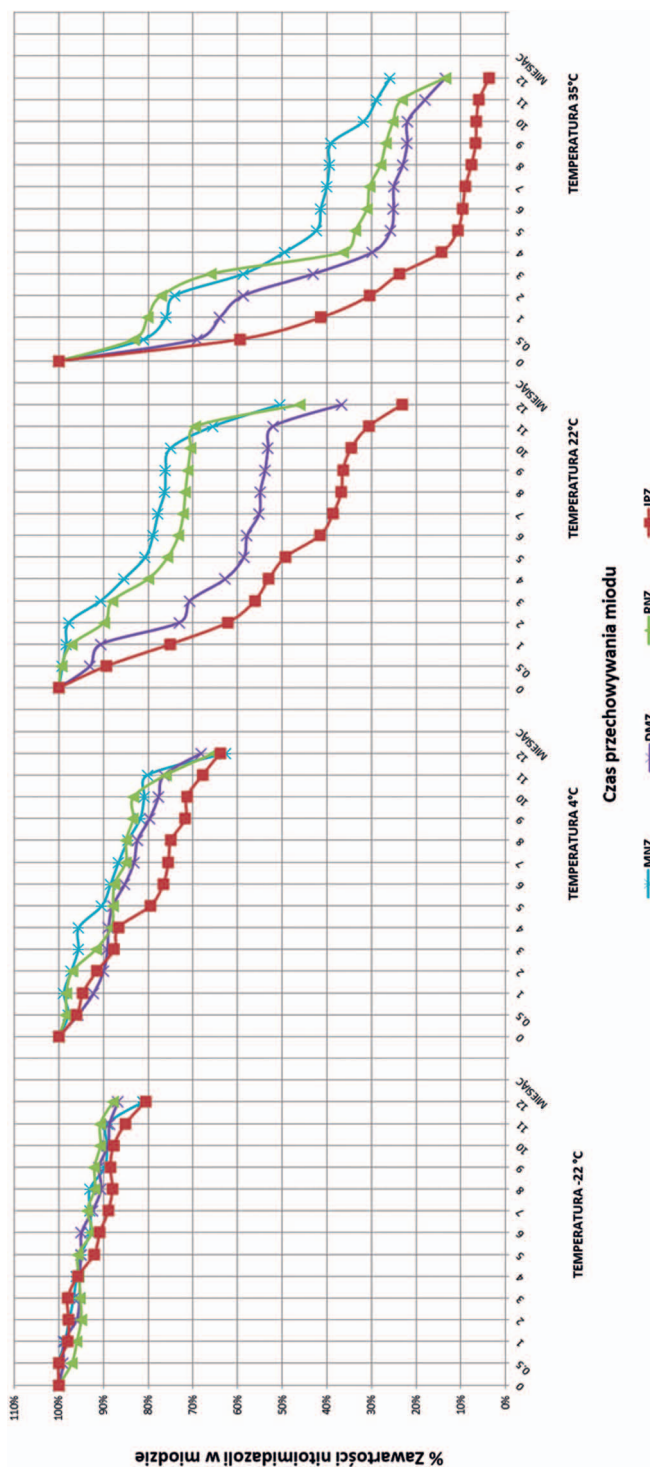
Wyniki

Analiza jednorodności wykazała, że przygotowany materiał badawczy był jednorodny. Na żadnym etapie doświadczenia nie stwierdzono obecności metabolitów nitroimidazoli (MNZOH, HMMNI i IPZOH) w analizowanym miodzie. W przypadku tetracyklin zaobserwowano epimeryzację CTC i TC odpowiednio do 4-epiCTC i 4-epiTC, natomiast OTC nie uległa epimeryzacji. Z tego względu stabilność CTC oraz TC oceniano, biorąc pod uwagę sumę stężeń wykrytego związku i jego epimeru (CTC + 4-epiCTC oraz TC + 4-epiTC). Wykresy wpływu czasu przechowywania na zawartość analizowanych nitroimidazoli i tetracyklin (wyrażoną jako % zawartości analitu) w różnych warunkach temperaturowych przedstawiono odpowiednio na rycinach 1 i 2.

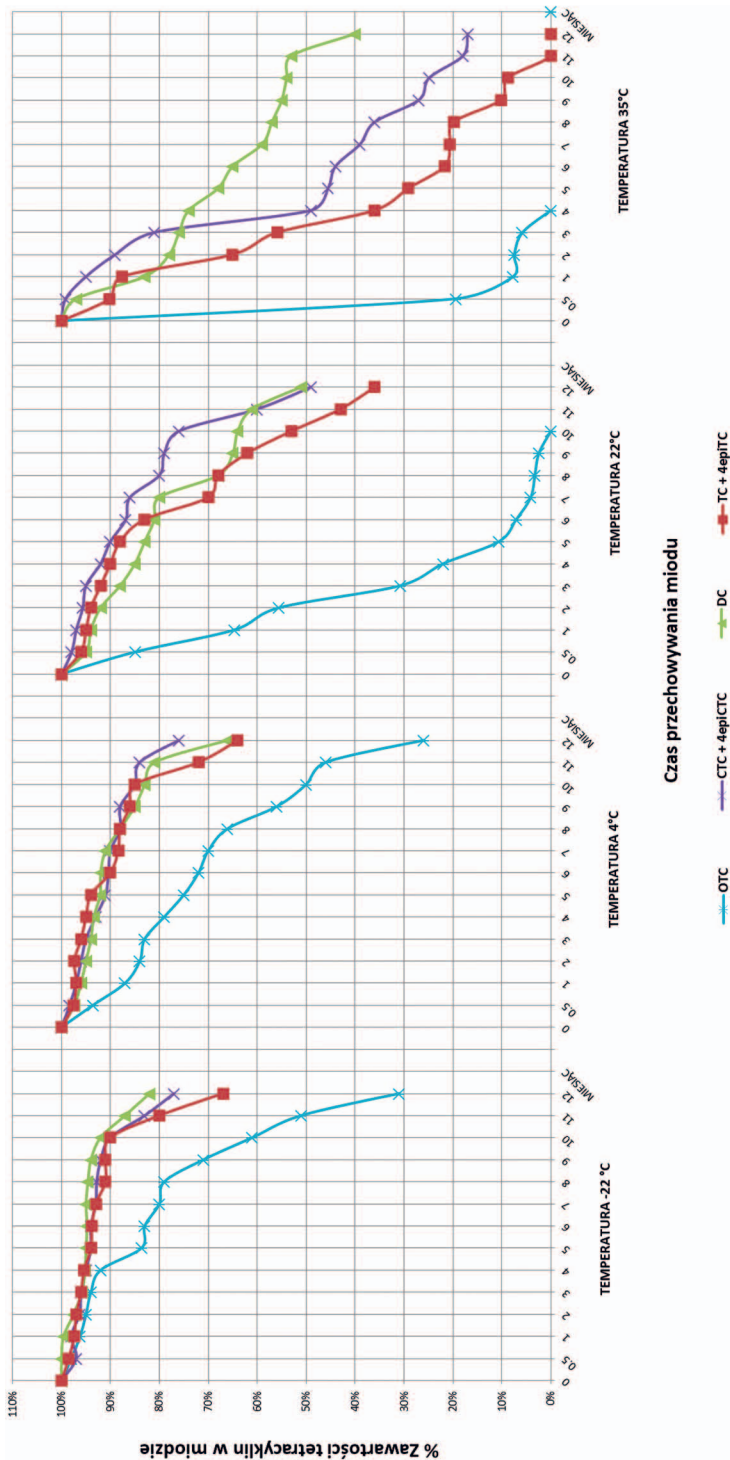
Największą stabilność nitroimidazoli stwierdzono w miodzie przechowywanym w temperaturze -22°C ; na koniec doświadczenia (1 rok) z początkowej zawartości nitroimidazoli pozostało: 81% IPZ, 87% DMZ, 88% RNZ i 81% MNZ. Natomiast najmniejszą stabilność nitroimidazole wykazały w miodzie przechowywanym w temperaturze 35°C ; po roku ich zawartość spadła do: 4% IPZ, 13% DMZ, 13% RNZ i 26% MNZ. Wśród nitroimidazoli MNZ i RNZ wykazały największą stabilność w testowanych warunkach temperaturowych; po roku przechowywania ich zawartość w miodzie osiągnęła zbliżone wartości w temperaturze 22°C (50% i 46%), 4°C (63%, i 65%) i -22°C (81% i 88%). Jedynie w temperaturze 35°C zaobserwowano mniejszą stabilność RNZ w porównaniu z MNZ; po roku trwania doświadczenia ich zawartość w miodzie wynosiła odpowiednio 13% i 26%. Najmniej stabilnym nitroimidazolem w każdej testowanej temperaturze był IPZ; na koniec doświadczenia w miodzie pozostało: 4% (w 35°C), 23% (w 22°C), 64% (w 4°C) i 81% (w -22°C). Średnio największy spadek zawartości wszystkich testowanych nitroimidazoli w ciągu roku nastąpił, gdy podwyższono temperaturę z 22°C do 35°C (32% RNZ, 30% MNZ, 28% IPZ, 27% DMZ), w porównaniu ze zmianą warunków z 4°C do 22°C (29% IPZ, 21% DMZ, 9% RNZ, 6% MNZ) i z -22°C do 4°C (11% IPZ, 8% DMZ, 6% RNZ, 5% MNZ). Wyniki

badania pokazały, że nitroimidazole są stabilne (przyjmując 80% stężenia początkowego) w miodzie przechowywanym przez rok w temperaturze -22°C ; 11 miesięcy (MNZ), 10 miesięcy (RNZ), 8 miesięcy (DMZ), 4 miesiące (IPZ) w temperaturze 4°C ; 5 miesięcy (MNZ), 4 miesiące (RNZ), 1 miesiąc (DMZ) i 2 tygodnie (IPZ) w temperaturze 22°C oraz 2 tygodnie (RNZ i MNZ) w temperaturze 35°C . DMZ i IPZ nie wykazują tak wysokiej stabilności podczas przetrzymywania w temperaturze 35°C ; ich zawartość po 2 tygodniach spadła odpowiednio o 31% i 41% (ryc. 1).

W przypadku tetracyklin największą stabilność stwierdzono w miodzie przechowywanym w temperaturze -22°C ; na koniec doświadczenia (1 rok) z początkowej zawartości tetracyklin pozostało: 31% OTC, 67% TC + 4-epiTC, 77% CTC + 4-epiCTC i 82% DC. Najmniejszą stabilność tetracykliny wykazały w miodzie trzymany w temperaturze 35°C ; po roku zawartość DC i CTC + 4-epiCTC spadła do 40% i 17%, a OTC i TC + 4-epiTC nie stwierdzono powyżej granicy oznaczalności metody ($2\ \mu\text{g}/\text{kg}$) odpowiednio po 4 i 11 miesiącach. Wśród tetracyklin DC i CTC + 4-epiCTC wykazały największą stabilność w miodzie przechowywanym w temperaturze 22°C ; po roku przechowywania ich zawartość spadła do 51% i 49% początkowej wartości. Najbardziej stabilną tetracykliną w temperaturze 4°C była CTC + 4-epiCTC, a w temperaturze 35°C DC; po roku przechowywania ich zawartości w miodzie osiągnęły odpowiednio 76% i 40%. Najmniej stabilną tetracykliną w każdej testowanej temperaturze była OTC; po 3 miesiącach przechowywania z początkowej wartości pozostało 6% (35°C), po 9 miesiącach 2,5% (22°C), a po roku 26% (4°C) i 31% (-22°C). Średnio największy spadek zawartości tetracyklin w ciągu roku nastąpił, gdy podwyższono temperaturę z 22°C do 35°C (37% TC + 4-epiTC, 30% CTC + 4-epiCTC, 18% OTC, 11% DC), w porównaniu ze zmianą z 4°C do 22°C (43% OTC, 13% TC + 4-epiTC, 10% DC, 6% CTC + 4-epiCTC) i z -22°C do 4°C (9% OTC, 5% DC, 2% TC + 4-epiTC, 2% CTC + 4-epiCTC). W grupie tetracyklin stabilna (przyjmując 80% stężenia początkowego) w miodzie przechowywanym w temperaturze -22°C była DC przez rok, TC + 4-epiTC i CTC + 4-epiCTC przez 11 miesięcy i OTC przez 7 miesięcy; w miodzie przechowywanym w temperaturze 4°C stabilna była CTC + 4-epiCTC i DC przez 11 miesięcy, TC + 4-epiTC przez 10 miesięcy, OTC przez 3 miesiące; w temperaturze 22°C – CTC + 4-epiCTC i DC przez 7 miesięcy, TC + 4-epiTC przez 6 miesięcy i OTC przez 2 tygodnie; w temperaturze 35°C – CTC+4-epiCTC przez 3 miesiące oraz DC i TC + 4-epiTC przez miesiąc. W temperaturze 35°C zawartość OTC w miodzie spadła o 81% już w ciągu pierwszych 2 tygodni przechowywania (ryc. 2).



Ryc. 1. Stabilność nitroimidazoli w miodzie w różnych warunkach przechowywania



Ryc. 2. Stabilność tetracyklin w miodzie w różnych warunkach przechowywania

Dyskusja

Zgodnie z doniesieniami w literaturze przeprowadzone doświadczenie jest pierwszym, które dotyczy równoczesnego badania stabilności nitroimidazoli i tetracyklin w miodzie przechowywanym w warunkach laboratoryjnych w 4 zakresach temperatur i rocznym okresie obserwacji. O ile dostępnych jest kilka prac na temat stabilności tetracyklin w miodzie przechowywanym w różnych warunkach temperaturowych, o tyle istnieje tylko jedna praca naukowa opisująca stabilność nitroimidazoli w miodzie przechowywanym w temperaturze 4°C i 20°C [6]. Mitrowska i wsp. [6] wykazali, że nitroimidazole (RNZ, MNZ i DMZ) w miodzie przechowywanym w temperaturze 4°C były stabilne (przyjmując 90% stężenia początkowego) przez 9 miesięcy, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych, z wyjątkiem IPZ, który był stabilny przez 6 miesięcy. Natomiast w temperaturze 20°C Mitrowska i wsp. [6] zaobserwowali, że RNZ, MNZ, DMZ i IPZ były stabilne (przyjmując 90% stężenia początkowego) odpowiednio przez 9, 8, 2 i 3 miesiące. W prezentowanych badaniach, przeprowadzonych w nieco wyższej temperaturze 22°C, RNZ, MNZ, DMZ i IPZ ulegały szybszej degradacji i były stabilne (przyjmując 90% stężenia początkowego) odpowiednio przez 2, 3, 1 i 0,5 miesiąca. W swojej pracy Molino i wsp. [7] wykazali spadek stężenia tetracyklin o 10% (OTC), 13% (CTC), 19% (TC) i 10% (DC) w wyniku przeprowadzenia pasteryzacji miodu (78°C/1 min), a także o 83% (OTC), 78% (CTC), 85% (TC) i 88% (DC) po 6 miesiącach przechowywania miodu w ciemności w temperaturze 20 ± 5°C. W porównaniu wyników badań własnych z wynikami uzyskanymi przez Molino i wsp. [7] w analogicznych warunkach uzyskano większy o 10% (OTC) i mniejszy o 65% (CTC), 68% (TC), 69% (DC) spadek stężenia tetracyklin, przy czym porównywane wyniki Molino i wsp. [7] nie uwzględniały zawartości epimerów: 4-epiCTC i 4-epiTC. Cara i wsp. [8] w doświadczeniu, w którym trzy rodzaje miodu przechowywano w temperaturze 21 ± 5°C w ciemności przez 30 dni, wykazali zmniejszenie zawartości tetracykliny w miodzie akacjowym i limonkowym o 10%, a w miodzie wielokwiatowym o 15%, co wynikało z różnych wartości pH miodów. Wyniki te są zbliżone do wyników prezentowanych w niniejszym opracowaniu, w którym spadek zawartości TC + 4-epiTC w miodzie wielokwiatowym przechowywanym w tych samych warunkach wyniósł 5%. Matsuka i Nakamura [9] wykazali spadek zawartości OTC w miodzie przechowywanym przez 2 tygodnie w temperaturze 25°C i 35°C w ciemności odpowiednio o 15% i 80%. Zaobserwowali również zmniejszenie stężenia OTC z początkowego poziomu 220 000 µg/kg do poziomu poniżej granicy wykrywalności metody (100 µg/kg) odpowiednio po 10 i 6 tygodniach. Wyniki te są zgodne z uzyskanymi w tej pracy, przy czym wykorzystywana metoda była czulsza od tej użytej przez japońskich badaczy [9], co pozwoliło na prowadzenie

obserwacji przez dłuższy czas, wykazując spadek stężenia OTC z początkowego poziomu 100 µg/kg do poziomu poniżej granicy oznaczalności metody (2 µg/kg) odpowiednio po 10 i 4 miesiącach. Wyniki badań własnych są również zgodne z obserwacjami Gajdy i wsp. [2], którzy wykazali spadek stężenia OTC w miodzie przechowywanym w warunkach laboratoryjnych w 20°C średnio o 94% po 6 miesiącach (w badaniach własnych o 93%), przy czym po 2 miesiącach Gajda i wsp. [2] uzyskali spadek o 75%, natomiast w badaniach przedstawionych w tej pracy spadek był niższy i wynosił 44%.


Wraz ze wzrostem temperatury przechowywania miodu wzrasta degradacja wszystkich testowanych nitroimidazoli i tetracyklin (ryc. 1 i 2). Nitroimidazole (MNZ, DMZ, RNZ i IPZ) i tetracykliny (CTC, TC i DC), z wyjątkiem OTC, są w podobnym stopniu stabilne w miodzie przechowywanym w temperaturze -22°C i 4°C. Natomiast w temperaturze 22°C stabilność analitów w miodzie po roku można przedstawić w szeregu od najbardziej do najmniej stabilnego: DC > MNZ > CTC + 4-epiCTC > RNZ > DMZ > TC + 4-epiTC > IPZ > OTC. Podobnie w temperaturze 35°C, gdzie stabilność DC > MNZ > CTC + 4-epiCTC > RNZ, DMZ > IPZ > TC + 4-epiTC, OTC. Jednakże wyników tych nie można porównać z żadnymi innymi, gdyż stabilność nitroimidazoli w miodzie w temperaturze 35°C nie była dotychczas badana.

Wnioski

Optymalną temperaturą przechowywania miodu zapewniającą wykrycie w badaniach kontrolnych miodu nielegalnie stosowanych leków jest temperatura poniżej 4°C, która zapewnia stabilność (do 80%) wszystkich badanych nitroimidazoli (MNZ, DMZ, RNZ i IPZ) i tetracyklin (OTC, CTC, TC i DC) przez okres przynajmniej 3 miesięcy. Z kolei temperatura 35°C, zazwyczaj panująca w ulu, nie pozwala na całkowitą degradację nitroimidazoli oraz tetracyklin (z wyjątkiem OTC i TC) w miodzie przechowywanym nawet przez rok. Dlatego przedstawione badania są przestrożą przed nielegalnym stosowaniem leków przeciwdrobnoustrojowych, które mogą być wykrywane przez tak długi okres po podaniu do rodziny pszczelej.







Wykaz cytowanej literatury

1. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 37/2010. Dz.U. UE, L 15, z 20.01.2010, s. 1–72; URL: https://doi.org/10.3000/17255139.L_2010.015.pol.
2. Gajda A, Posyniak A, Bober A, Błądek T, Żmudzki J. Oxytetracycline residues in honey analyzed by liquid chromatography with UV detection. *J Apic Sci.* 2013; 57: 25–32.
3. Gajda A, Antczak M, Mitrowska K, Posyniak A. Development, validation and application to real samples of a liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the determination of tetracyclines in beeswax. *J Sep Sci.* 2018; 41: 381–382.
4. Mitrowska K, Antczak M. Development and validation of a liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the determination of nitroimidazole residues in beeswax. *J Sep Sci.* 2017; 40(5): 1158–1166.
5. Decyzja Komisji 2002/657/WE. Dz.U. UE, L 221, z 17.08.2002, s. 8–36; URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02002D0657-20040110&from=PL>.
6. Mitrowska K, Posyniak A, Zmudzki J. Selective determination of fourteen nitroimidazoles in honey by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Lett.* 2014; 47(10): 1634–1649.
7. Molino F, Lázaro R, Pérez C, Bayarri S, Corredera L, Herrera A. Effect of pasteurization and storage on tetracycline levels in honey. *Apidologie* 2011; 42: 391–400.
8. Cara MC, Dumitrel GA, Glevitzky M, Perju D. Stability of tetracycline residues in honey. *J Serbian Chem Soc.* 2012; 77: 879–886.
9. Matsuka M, Nakamura J. Oxytetracycline residues in honey and royal jelly. *J Apic Res.* 1990; 29: 112–117.



Pilotażowe badania produktów pszczelich z pożytku rzepakowego pod kątem pozostałości środków ochrony roślin*

Residues of pesticides in bee products from rapeseed crops. Pilot studies

ZBIGNIEW KOŁTOWSKI^{1*}  <https://orcid.org/0000-0002-7186-0310>
PIOTR SKUBIDA¹  <https://orcid.org/0000-0001-6957-7578>
TERESA SZCZĘSNA¹  <https://orcid.org/0000-0002-0161-0287>
DARIUSZ TEPER¹  <https://orcid.org/0000-0003-2950-2816>
KATARZYNA JAŚKIEWICZ¹  <https://orcid.org/0000-0002-4494-1991>
KRZYSZTOF RUDZIŃSKI²  <https://orcid.org/0000-0002-3221-8165>

¹ Instytut Ogrodnictwa, Zakład Pszczelnictwa w Puławach
ul. Kazimierska 2A, 24-100 Puławy

² Instytut Ogrodnictwa, Zakład Badania Bezpieczeństwa Żywności w Skierniewicach
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

* Autor do korespondencji: zbigniew.koltowski@inhort.pl

STRESZCZENIE | Badania pozostałości środków ochrony roślin akredytowaną metodą multipozostałościową LC-MS/MS wykonano w Zakładzie Badania Bezpieczeństwa Żywności Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Łącznie przebadano 18 próbek miodu rzepakowego, 3 próbki plastrów pszczelich, 2 próbki odsklepin oraz 1 próbkę pyłku. Pochodzenie botaniczne próbek zweryfikowano metodą mikroskopowej analizy pyłkowej w Laboratorium Badania Jakości Produktów Pszczelich Zakładu Pszczelnictwa IO w Puławach.

We wszystkich próbkach produktów pszczelich stwierdzono obecność środków ochrony roślin. Wykryto następujące substancje czynne stosowane w środkach grzybobójczych: karbendazym, azoksystrobinę, boskalid, pentiopirad, tebukonazol. Z grupy środków owadobójczych stosowanych w formie opryszków stwierdzono obecność neonikotynoidów: acetamiprydu i tiachlopyrydu. W piętnastu próbkach miodu oznaczono acetamipryd (Mospilan), którego poziom w pięciu próbkach przekroczył najwyższy dopuszczalny poziom (NDP EU). W czternastu próbkach miodu wykryto obecność tiachlopyrydu (Proteus, Calypso). Ponadto aż w jedenastu próbkach miodu stwierdzono obecność amitrazu (substancji aktywnej leków stosowanych do zwalczania pasożyta pszczoł *V. destructor*) oraz metabolitów jego rozkładu – 2,4-dimetylofor-

* Badania wykonano w ramach zadania 4.3 PW „Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego” ustanowionej Uchwałą nr 105/2015 Rady Ministrów z dnia 14 lipca 2015 roku.

mamid (DMF) i 2,4-dimetylofenylo-*N'*-metyloformamidynę (DMPF). W próbkach plastrów pszczelich natomiast wykryto acetamipryd i thiaclopryd, a w odsklepinach – DMF (metabolit amitrazu).

SŁOWA KLUCZOWE | miód rzepakowy, produkty pszczele, pozostałości pestycydów, metoda QuEChERS, LC-MS/MS

ABSTRACT | Tests of residues of plant protection products by the accredited multi-residue method LC-MS/MS were carried out at the Food Safety Laboratory, Research Institute of Horticulture in Skierniewice. A total of 18 rape honey samples, 3 wax comb samples, 2 honey capping wax samples and 1 pollen sample were tested. The botanical origin of honey samples was verified by pollen microscopic method in Bee Products Quality Testing Laboratory Apicultural Division Research Institute of Horticulture in Puławy.

Active substances of pesticides were found in all tested samples. The following active substances used in fungicides were found: carbendazim, azoxystrobin, boscalid, penthiopyrad and tebuconazole. From insecticides used as spraying, the presence of neonicotinoids acetamiprid and thiacloprid was found. Fifteen samples of honey were contaminated by acetamiprid (Mospilan), where five samples exceeded the maximum residue level (NDP EU). In fourteen honey samples the residues of thiacloprid (Proteus, Calypso) was detected. In addition, as much as eleven samples of honey were contaminated by amitraz (the active substance of drugs used to control the parasitic mite *V. destructor*) and the metabolites of its degradation – 2,4-dimethylformamide (DMF) and 2,4-dimethylphenyl-*N'*-methylformamidine (DMPF). In contrast, acetamiprid and thiacloprid were found in samples of combs, and DMF (the metabolite of amitraz) was found in the honey capping wax.

KEYWORDS | rape honey, bee products, pesticides residues, QuEChERS method, LC-MS/MS

Wprowadzenie

W 2019 roku Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi wydało po raz drugi z rządu pozwolenie na czasowe stosowanie zapraw nasiennych z grupy neonicotynoidów w rzepaku ozimym. Czasowe pozwolenie dotyczyło dwóch zapraw: Modesto 480 FS (klotianidyna i beta-cyflutryna) i Cruiser OSR 322 FS (m.in. tiametoksam). Postawiono hipotezę, że substancje aktywne z wymienionych zapraw nasiennych, jako środki systemiczne, krążą w roślinach i przedostają się do nektaru. W ten sposób miód rzepakowy, który powstaje z nektaru wydzielanego przez kwiaty rzepaku i zbieranego przez pszczoły, może być zanieczyszczony przez pozostałości środków ochrony roślin. Dlatego temat pozostałości pestycydów w produktach pszczelich podnoszony był w literaturze naukowej wielokrotnie. Andreo-Martinez i wsp. [1] przeanalizowali bazy danych Web of Science i stwierdzili, że w latach 1948–2019 ta problematyka pojawiała się w publikacjach aż 685 razy, co świadczy o wadze problemu i podjętej przez naukowców próbie zmierzenia się z nim.

Zainteresowanie to bezpośrednio związane jest też z rozwojem metod badawczych, które pozwalają na wykrywanie w produktach spożywczych coraz mniejszych ilości potencjalnie niebezpiecznych dla zdrowia substancji, ze szczególnym uwzględnieniem substancji aktywnych, takich jak neonikotynoidy [2–4].

Niektóre badania wskazują, że szerokie stosowanie środków owadobójczych w rolnictwie może być czynnikiem zwiększającym straty rodzin pszczelich w okresie zimowania. Sugeruje się, że poziom strat zimowych związany jest z lokalizacją pasiek w rejonach o zróżnicowanym poziomie intensywności rolnictwa, w wyniku czego pszczoły korzystają z pyłku o różnym stopniu zanieczyszczenia [5]. Są też takie badania, które mówią, że te powiązania nie są do końca jasne [6]. W Estonii zanotowano zróżnicowane poziomy pozostałości pestycydów w poszczególnych produktach pszczelich. Pyłek i pierzga zawierały zwykle więcej środków owadobójczych i grzybobójczych, podczas gdy miód zanieczyszczony był pozostałościami herbicydów. Przedziały poziomu zanieczyszczeń zależały od roku i czasu zbioru, ale nie były związane z konkretnymi uprawami, z których korzystały pszczoły, ani z rodzajem użytkowania gruntów. Stwierdzono niewiele pozytywnych korelacji między ilością pozostałości pestycydów a proporcją pyłku pozyskanego z jakiegokolwiek rodziny roślin pożytkowych. Żadna z tych korelacji nie była związana z konkretnym sposobem użytkowania gruntów [6].

Nie ulega wątpliwości, że obecność metali ciężkich i pozostałości pestycydów we wszystkich produktach pszczelich może stanowić zagrożenie dla prawidłowego rozwoju rodzin pszczelich [7, 8]. Takie pozostałości, głównie w miodzie, mogą również stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumentów tych produktów [9].

Celem prezentowanych badań było sprawdzenie, czy produkty pszczele z pożytku rzepakowego są wolne od pozostałości środków ochrony roślin, głównie tych, które dopuszczono do stosowania w zaprawach nasiennych rzepaku.

Materiały i metody

Materiał badawczy

Do badań wykorzystano przysłane przez pszczelarzy próbki miodu rzepakowego o potwierdzonej odmianowości w wyniku wcześniej przeprowadzonych w Laboratorium Badania Jakości Produktów Pszczelich Zakładu Pszczelnictwa Instytutu Ogrodnictwa w Puławach analiz fizykochemicznych i melisopalinologicznych. Ci sami pszczelarze przekazali do analiz próbki innych produktów

pszczelich (plastrów, odsklepin i pyłku). Przebadano łącznie 18 próbek miodu, 3 próbki plastrów pszczelich, 2 próbki odsklepin oraz 1 próbkę pyłku.

Wykorzystane metody

Analizę pyłkową miodu wykonano według metodyki opisanej w Rozporządzeniu MRiRW z dn. 14 stycznia 2009 r. [10], a w podobnej formie zalecanej również przez Międzynarodową Komisję Miodową (IHC) [11]. Badania pozostałości środków ochrony roślin wykonano w Zakładzie Badania Bezpieczeństwa Żywności IO w Skierniewicach akredytowaną metodą multipozostałościową typu QuEChERS z wykorzystaniem techniki chromatograficznej LC-MS/MS, przy użyciu chromatografu cieczowego Agilent Technologies 1200 Series i detektora 6410 Triple Quad LC/MS. Zakres metody obejmował analizę pozostałości 212 pestycydów z czułością w granicach 0,001–0,01 mg/kg dla każdego pestycydu. Metoda analizy pozostałości w miodzie była pozytywnie sprawdzona w międzynarodowych badaniach biegłości organizowanych przez laboratoria referencyjne UE.

Wyniki badań porównywano z najwyższymi dopuszczalnymi poziomami pozostałości (NDP EU) pestycydów w żywności wyspecyfikowanymi w Rozporządzeniu WE nr 396/2005.

Wyniki

W przebadanych produktach pszczelich wyodrębniono substancje czynne środków grzybobójczych, takie jak: azoksystrobina, boskalid, karbendazym, pentiopirad, tebukonazol.

Z grupy środków owadobójczych stosowanych w formie oprysków stwierdzono obecność neonikotynoidów: acetamiprydu i tiachloprydu.

W piętnastu próbkach miodu oznaczono acetamipryd (Mospilan), którego poziom w pięciu próbkach przekroczył najwyższy dopuszczalny poziom (NDP EU) (tab. 1). Przekroczenia NDP EU, który dla tej substancji wynosi 0,05 mg/kg, były znaczące: w czterech próbkach kształtowały się na poziomie 0,09–0,10 mg/kg, a w jednej – na poziomie 0,19 mg/kg.

W czternastu próbkach miodu wykryto obecność tiachloprydu (Proteus, Calypso), jednakże jego poziom był poniżej NDP EU dla tej substancji, który wynosi 0,20 mg/kg. W jedenastu próbkach miodu stwierdzono obecność amitrazu wyrażonego sumą jego metabolitów (DMF i DMPF), jednakże jego poziom był dużo niższy od NDP EU (0,2 mg/kg).

TABELA 1

Pozostałości środków ochrony roślin w miodzie rzepakowym ($n = 18$)

Substancja	Liczba próbek pozytywnych	Zakres od-do (mg/kg)	NDP EU* (mg/kg)
Acetamipryd	15	0,009–0,190	0,05
Amitraz i metabolity	11	0,010–0,067	0,2
Azoksystrobina	2	0,006–0,008	0,05
Boskalid	1	0,006	0,05
Dimetoat	2	0,003–0,004	0,01
DMPF	9	0,014–0,028	–
DMF	10	0,005–0,015	–
Karbendazym i benomyl	10	0,003–0,050	1
Tiachlopyryd	14	0,009–0,150	0,2

* Najwyższy dopuszczalny poziom zgodnie z Rozporządzeniem WE nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dn. 23.02.2005 z późniejszymi zmianami

Pomijając pozostałości amitrazu, w trzech próbkach miodu wykazano pozostałości czterech środków ochrony roślin występujących jednocześnie, a w jednej próbce wosku z plastra aż sześć substancji.

W próbkach wosku z plastrów pszczelich wykryto acetamipryd i tiachlopyryd, natomiast w wosku z odsklepin – metabolit amitrazu, DMF (tab. 2).

TABELA 2

Pozostałości środków ochrony roślin w wosku z plastrów pszczelich ($n = 3$) i odsklepin ($n = 2$) z pożytku rzepakowego

Substancja	Liczba próbek pozytywnych	Zakres od-do (mg/kg)	NDP EU* (mg/kg)
Plastry pszczele ($n = 3$)			
Acetamipryd	3	0,003–0,009	0,05
Azoksystrobina	1	0,011	0,05
Chloropiryfos	1	0,014	0,05
Karbendazym i benomyl	2	0,010–0,029	1
Pentiopirad	1	0,017	0,05
Tebukonazol	2	0,010–0,015	0,05
Tiachlopyryd	2	0,027–0,081	0,2
Odsklepiny ($n = 2$)			
Amitraz i metabolity	2	0,011–0,012	0,2

* Najwyższy dopuszczalny poziom zgodnie z Rozporządzeniem WE nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dn. 23.02.2005 z późniejszymi zmianami

W jedynej próbce obnóży pyłkowych natomiast oznaczono tiachlopryd w ilości 0,033 mg/kg oraz acetamipryd i dimetoat na poziomie granicy oznaczalności, tj. odpowiednio: 0,001 i 0,004 mg/kg.

Dyskusja

Wyniki pozostałości środków ochrony roślin w przebadanych produktach pszczelich kształtowały się na poziomie bezpiecznym, poniżej najwyższego poziomu dopuszczalnego (NDP EU) określonego w Rozporządzeniu WE nr 396/2005, z wyjątkiem 5 prób miodu, w których oznaczono znaczne przekroczenie zawartości acetamiprydu. Ten miód nie spełniał wymogów wskazanego Rozporządzenia i nie nadawał się do spożycia. W badanych produktach z pożytku rzepakowego nie stwierdzono pozostałości neonikotynoidów stosowanych w zaprawach nasiennych. Większość wykrywanych pozostałości należała do grupy fungicydów oraz mniej szkodliwych dla pszczół insektycydów, jak acetamipryd i tiachlopryd z grupy neonikotynoidów. Świadczy to o dość intensywnej ochronie rzepaku ozimego przez plantatorów z zastosowaniem środków ochrony roślin w formie oprysków. Zastanawiający jest jednak fakt częstego stwierdzania pozostałości metabolitów amitrazu, substancji aktywnej preparatów weterynaryjnych stosowanych przez pszczelarzy do zwalczania pasożyta pszczół *V. destructor*.

Wyniki można skonfrontować z licznymi doniesieniami innych autorów. W badaniach 155 próbek różnych rodzajów miodów z terenu Polski w latach 2015–2017 oznaczono pozostałości 21 pestycydów [3]. Najczęściej wykrywanymi pozostałościami środków ochrony roślin były dwie substancje aktywne: acetamipryd i tiachlopryd, stwierdzone w 77% próbek. W naszych badaniach miodu rzepakowego częstotliwość występowania pozostałości tych substancji była na tym samym poziomie, odpowiednio: 83% i 77%. W cytowanych doniesieniach zanotowano mniejszy odsetek pozostałości amitrazu w badanych miodach (35% przebadanych próbek), podczas gdy w naszych badaniach miodu rzepakowego pozostałości tej substancji stwierdzono w 61% próbek. Związane jest to z często stosowaną przez pszczelarzy praktyką wiosennego odymiania rodzin pszczelich w celu zwalczania *V. destructor*, co przy krótkim czasie przerwy od odymienia do wirowania miodu rzepakowego nie pozwala na całkowity zanik substancji aktywnej.

W Pakistanie przebadano pod kątem pozostałości pestycydów próbki miodu z 26 losowo wybranych pasiek [4]. W 27% próbek stwierdzono pozostałości pestycydów, a w 15% próbek poziom pozostałości przekraczał maksymalny limit pozostałości (NDP EU). Nie stwierdzono pozostałości akarycydów stoso-

wanych do zwalczania *V. destructor*, których substancjami aktywnymi w tamtych warunkach były kumafos, tau-fluwalinat i malation.

W Estonii w latach 2013–2014 przebadano 33 próbki miodów z terenów rolniczych [9]. W sumie stwierdzono pozostałości 8 substancji aktywnych należących do 47 aktualnie w tym czasie stosowanych w rolnictwie pestycydów. Stwierdzone poziomy pozostałości pestycydów czasami nawet przekraczały najwyższy dopuszczalny ich poziom. Wnioskowano jednak, że stężenia te nie stanowią zagrożenia dla zdrowia konsumentów miodu, jak również, że bardzo ostra toksyczność tych pozostałości dla pszczoł miodnych byłaby bardzo mało prawdopodobna.

Badania pozostałości pestycydów w produktach pszczelich z pożytku rzepakowego przeprowadzono również w Niemczech, gdzie oceniano poziom pozostałości substancji aktywnych po zastosowaniu zapraw nasiennych [12]. W nektarze i pyłku pobieranym od pszczoł miodnych, trzmieli i murarek wykryto pozostałości klotianidyny na bardzo niskim poziomie, odpowiednio: 1,3 µg/kg i 1,7 µg/kg, natomiast w miodzie pszczoł miodnych stwierdzono pozostałości w ilości 1,4 µg/kg. W naszych badaniach, przy dolnej granicy oznaczalności (DGO) klotianidyny wynoszącej 10 µg/kg, pozostałości tej substancji w próbkach miodu i innych produktów pszczelich nie stwierdzono.

W badaniach miodów i wosku z Izraela najczęściej stwierdzanymi pozostałościami pestycydów wykrywanymi w obu produktach pszczelich był amitraz i kumafos [13]. W naszych badaniach częściowo potwierdza się to dla miodu i wosku z zasklepów. W plastrach pozostałości amitrazu nie stwierdziliśmy. Podobnie jak w naszych badaniach, najczęściej wykrywanymi pozostałościami w miodach izraelskich były neonikotynoidy, wśród których oprócz acetamiprydu i tiachloprydu dominował imidaklopryd.

Wynikiem pozytywnym naszych badań jest brak pozostałości substancji aktywnych z zapraw nasiennych we wszystkich przebadanych produktach pszczelich. W innych badaniach, prowadzonych przez nas w 2012 roku, takie pozostałości stwierdzano, lecz na poziomie niższym od ich doustnej i kontaktowej dawki letalnej (LD_{50}) dla pszczoł [14]. Niepokoi natomiast, że w 61% próbek miodu stwierdzono pozostałości amitrazu stosowanego przez pszczelarzy do zwalczania *V. destructor*. Należy jednak podkreślić, że dolna granica oznaczalności środków ochrony roślin w badanych produktach pszczelich dzięki zastosowaniu wysoko wyspecjalizowanej aparatury jest bardzo niska (0,001–0,01 mg/kg). W tym świetle uzyskane wyniki pozostałości środków ochrony roślin dla większości przebadanych próbek produktów pszczelich wskazują na poziom zdecydowanie niższy od najwyższego poziomu dopuszczalnego dla tych substancji.

Podsumowanie i wnioski

Badaniami potwierdzono postawioną we wstępie hipotezę, że miód i wosk zawierają pozostałości pestycydów stosowanych w ochronie plantacji przed chorobami i szkodnikami, a także przy zwalczaniu pasożytów pszczół.

W badanych próbkach produktów pszczelich nie stwierdzono natomiast pozostałości substancji aktywnych stosowanych w zaprawach nasiennych rzepaku.


Plantatorzy do ochrony upraw rzepaku stosują insektycydy (w formie oprysków) z grupy mniej szkodliwych neonikotynoidów (acetamipryd i tiachlopryd), szereg substancji grzybobójczych, a nawet zakazane środki fosforoorganiczne.

Poziom pozostałości środków ochrony roślin w badanych produktach pszczelich dla większości przebadanych prób jest zdecydowanie niższy od najwyższego poziomu dopuszczalnego (NDP EU) dla tych substancji.

Wykaz cytowanej literatury

1. Andreo-Martínez P, Oliva J, Giménez-Castillo JJ, Motas M, Quesada-Medina J, Cámara MA. Science production of pesticide residues in honey research: a descriptive bibliometric study. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2020; 79: 103413; URL: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103413>.
2. Zhu Z, Liu H, Ning O, Zhang J, Shen W, Chen H, Shen Ch, Xie W. Determination of nine pesticide residues in honey using high performance liquid chromatography-tandem mass. Spectrometry in Chinese 2019; 37(1): 8–14; URL: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2018.09007>.
3. Gaweł M, Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Goliszek M, Burek O, Posyński A. Determination of neonicotinoids and other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2019; 282: 36–47; URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.003>.
4. Rafique N, Nazir S, Akram S, Ahad K, Gohar A, Abbasi ST, Ahmed I, Rafique K. Screening of Multiclass Pesticide Residues in Honey by SPE-GC/MSD: A Pilot Study. *Environ Monit Assess.* 2018; 190(11): 666; URL: <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7041-4>.
5. El-Hady EA, El-Sharkawy HM, Sanad RE. Evaluates the possible risk of pollen grains contamination by pesticide residues and their effects on honey bee survival. *J ProductDev.* 2019; 24(4): 869–883; URL: <https://doi.org/10.21608/jpd.2019.81094>.
6. Raimets R, Bontšutšnaja A, Bartkevics V, Pugajeva I, Kaart T, Puusepp L, Pihlik P, Keres I, Viinalass H, Mänd M, Karise R. Pesticide residues in beehive matrices are dependent on collection time and matrix type but independent of proportion of foraged oilseed rape and agricultural land in foraging territory. *Chemosphere* 2020; 238: 12455; URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124555>.

7. Burden CM, Morgan MO, Hladun KR, Amdam GV, Trumble JT, Smith BH. Acute sublethal exposure to toxic heavy metals alters honey bee (*Apis mellifera*) feeding behavior. *Sci Rep.* 2019; 9: 4253; URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40396-x>.
8. Calatayud-Vernich P, Calatayud F, Simo E, Aguilar JAP, Pico Y. A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. *Chemosphere* 2019; 232: 471–480; URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.170>.
9. Karise R, Raimets R, Bartkevics V, Pugajeva I, Pihlik P, Keres I, Williams IH, Viinalass H, Mänd M. Are pesticide residues in honey related to oilseed rape treatments? *Chemosphere* 2017; 188: 389–396; URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.013>.
10. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 14 stycznia 2009 r. w sprawie metod analiz związanych z dokonywaniem oceny miodu. *Dz.U.* 2009, nr 17, poz. 94.
11. Louveaux J, Maurizio A, Vorwohl G. Methods of melissopalynology. *Bee World* 1970; 51(3): 125–138.
12. Rolke D, Persigehl M, Peters B, Sterk G, Blenau W. Large-scale monitoring of effects of clothianidin-dressed oilseed rape seeds on pollinating insects in northern germany: residues of clothianidin in pollen, nectar and honey. *Ecotoxicology* 2016; 25(9): 1691–1701; URL: <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1723-x>.
13. Bommuraj V, Chen Y, Klein H, Sperling R, Barel S, Shimshoni JA. Pesticide and trace element residues in honey and beeswax combs from Israel in association with human risk assessment and honey adulteration. *Food Chem.* 2019; 299: 125123; URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125123>.
14. Pohorecka K, Skubida P, Miszczak A, Semkiw P, Sikorski P, Zagibajło K, Teper D, Kołtowski Z, Skubida M, Zdańska D, Bober A. Residues of neonicotinoid insecticides in bee collected plant materials from oilseed rape crops and their effect on bee colonies. *J Apic Sci.* 2012; 56(2): 115–134; URL: <https://doi.org/10.2478/v10289-012-0029-3>.



The influence of imidacloprid contamination of larval food on honey bee worker wing venation*

Wpływ dodatku imidakloprydu do pokarmu larw na użytkowanie skrzydeł pszczół robotnic

ANNA JANCZYK¹

ADAM TOFILSKI^{1*}  <https://orcid.org/0000-0002-3898-7029>

¹ Faculty of Animal Sciences, University of Agriculture in Krakow
al. 29 Listopada 56, 31-425 Krakow, Poland

* Corresponding author: rotofilscyf@kr.edu.pl

ABSTRACT | Individuals exposed to various stressors have problems with achieving perfect symmetry between the left and the right body side. In this study, it was verified whether the addition of imidacloprid to larval food affects the wing symmetry of honey bee (*Apis mellifera* Linnaeus) workers. We used either food without any additions or food containing 0.3 ng or 0.6 ng of imidacloprid per larva. We expected that bees fed with food containing pesticide would be smaller and more asymmetrical in comparison to bees fed with uncontaminated food. We found that bees exposed to a lower dose of imidacloprid were smaller; however, in the case of a higher dose, the results were less consistent. Imidacloprid also influenced wing size asymmetry. In the group without addition of imidacloprid, the right wings were larger, whereas in the groups with addition of imidacloprid, wings tended to be less asymmetrical. There was no significant influence of imidacloprid on wing shape or wing shape asymmetry.

KEYWORDS | asymmetry, imidacloprid, neonicotinoid, wing venation

STRESZCZENIE | Osobniki narażone na czynniki stresowe mają problem z osiągnięciem idealnej symetrii między lewą i prawą stroną ciała. W przeprowadzonych badaniach sprawdzono, czy dodatek imidakloprydu w pokarmie larw ma wpływ na symetrię skrzydeł robotnic pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.). W eksperymencie wykorzystany został pokarm bez dodatku imidakloprydu oraz pokarm zawierający 0,3 ng lub 0,6 ng imidakloprydu na larwę. Spodziewaliśmy się, że pszczoły karmione pokarmem z dodatkiem pestycydu będą mniejsze i bardziej asymetryczne w porównaniu z pszczołami karmionymi pokarmem bez dodatku imidakloprydu. Stwierdziliśmy, że pszczoły poddane działaniu niższej dawki imidakloprydu były mniejsze; jednak w przypadku wyższej dawki wyniki były mniej spójne. Imidaklopryd wpłynął również

* The research was supported by Polish National Science Centre (NCN) grant number DEC-2013/10/E/ NZ9/00682 to AT and BM-2517/KSiP/2018 to AJ. This research was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland.

na asymetrię wielkości skrzydła. W grupie osobników karmionych bez dodatku imidaklopyrydu prawe skrzydła były większe, podczas gdy w grupach, którym podawano pokarm z dodatkiem imidaklopyrydu, skrzydła były mniej asymetryczne. Nie stwierdzono istotnego wpływu imidaklopyrydu na kształt skrzydła lub asymetrię kształtu skrzydła.

SŁOWA KLUCZOWE | asymetria, imidaklopyryd, neonicotynoidy, użyłkowanie skrzydeł

Introduction

Nicotine is a natural antiherbivore alkaloid, found in the leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica*) or milkweed (*Asclepias syriaca*). At the end of the 20th century, the chemical analogues of nicotine, neonicotinoids, were synthesized [1]. In contrast to nicotine, these chemical compounds showed significantly greater toxicity to insects than vertebrates [2]. Imidacloprid became the most widely used neonicotinoid, accounting for 41.5% of all neonicotinoid use [3]. It is a component of numerous plant protection products, such as Confidor, Gaucho, Provado, Temprid (Bayer CropScience) or Kohinor (Makhteshim Chemical Works). Imidacloprid acts as an agonist to postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors (nAChR), which cause obstruction of acetylcholine impulse transmission in the central nervous system of the pest. The neurotoxic activity of neonicotinoids can modify feeding behaviour, as well as lead to paralysis or death of the treated insect [1]. It belongs to systemic insecticides, which tends to be transported throughout plants along xylem and translaminar movement [4]. Because of its high water solubility and low soil organic carbon-water partitioning coefficient, imidacloprid can lixiviate and pollute ground water [5]. Low vapour pressure and a rapid photodegradation tendency makes imidacloprid unlikely to persist in the atmosphere in volatilized form, however it may be transferred by air in the form of fumes directly after application by spraying in crops [6]. Residues of imidacloprid can likewise be found on fields not treated with the pesticide, that are situated beside a seed-treated plant field [7]. Inappropriate use of agricultural machinery and not following the instructions for plant protection products could lead to off-site drift of imidacloprid.

Beside high efficiency in pest control, imidacloprid exhibits a collateral impact on non-target organisms. The residues of neonicotinoids can be found in every part of the plant; therefore it may affect all pollen-harvesting and nectar-collecting insects [8]. The group of organisms which is most affected by imidacloprid are pollinators, including numerous species of Hymenoptera, Lepidoptera or Diptera. Solitary and social bees vary in their tolerance for imidacloprid [9]. Bumblebees tend to be less affected by neonicotinoids than

Osmia or *Megachile* [10] or stingless bees [11]. Distinct terms of appearance in season may differentiate pollinators exposure to imidacloprid due to various dates of the sowing of coated seeds or foliar application at the beginning of pest gradation [4]. Bumblebees may be more exposed to intoxication than honey bees because of their activity in the hours when insecticide is sprayed [12].

Imagines of honey bee may be exposed to neonicotinoids both by the oral or direct contact route. Direct contact with imidacloprid occurs by pesticide dust accumulation in pilosity [12]. Oral contact occurs through the collection and consumption of contaminated pollen, nectar, water or guttation fluid [13]. Systemic insecticides applied to soil are not supposed to harm pollinators but target sucking insects feeding on plant sap [14]. However, due to the high mobility in plant xylem, imidacloprid can be transported from the soil into flowers, resulting in vascular fluids, pollen and nectar pollution [15]. The concentration in pollen of treated crops (e.g. sunflower) is within 3.4 µg imidacloprid per kilogram of pollen, while the concentration in nectar reaches 1.9 µg of imidacloprid per kilogram [16]. Nevertheless, the imidacloprid content in pollen brought to hive in pollen pellets is about 1.5–4.5 times smaller than the concentration in fresh pollen in flowers [17]. A particularly high concentration of imidacloprid was found in xylem sap of corn (*Zea mays*) sprouted from neonicotinoid treated seedlings, which can be ingested by bees as excreted guttation fluid [18].

Honey bee brood is exposed to oral and direct contact with pesticide-contaminated pollen and nectar. In the first three days larvae are immersed in liquid food, which may cause cuticle adsorption of the pollutant [19]. The other way direct contact contamination occurs is through long-term exposure to imidacloprid accumulated in honeycomb [20]. Oral exposure occurs in first five days of the brood stage due to feeding with polluted pollen and nectar [21].

Numerous studies have described the effects of neonicotinoid exposure on adult bees. Laboratory, semi-field or field studies examined aspects such as learning ability, general colony vitality, hive entrance activity, foraging behaviour, colony overwintering or food consumption [16]. Despite some recommendations [22] the effects of imidacloprid on larvae was not as widely studied [20]. Bee larvae are considered highly sensitive to pesticides [12], however they show higher tolerance to neonicotinoids than imagines because of their undeveloped postsynaptic nicotinic acetylcholine receptors [20]. It was found that exposure of honey bees to neonicotinoids during larval development affects their learning [23], brain [24] and ovary [25]. Although imidacloprid had no direct impact on larval mortality [26], other studies reported poor brood health, a higher percentage of empty cells, a low hygienic brood removal rate and delayed development in imidacloprid treated hives [27], which may suggest that exposure to imidacloprid may notably affect the condition of larvae.

The aim of this study was to verify if presence of imidacloprid affects development stability of honey bees. It is often assumed that individuals exposed to various stressors have problems with achieving perfect symmetry between the left and the right body side [28]. We expect that bees fed during larval development with food contaminated with imidacloprid will be smaller and more asymmetrical in comparison to bees fed with uncontaminated food.

Materials and methods

In this study, we used four honeybee (*Apis mellifera*) colonies. To each of the colonies there were introduced three small frames (inside dimension: 14 × 19 cm) with empty honeycomb. In order to obtain eggs of known age, the honey bee queens were placed for 24 hours on the small combs in cages made of queen excluder. The small combs with freshly laid eggs were kept inside the hives for three days until larval eclosion occurred.

Each cell with one-day larvae was instilled with 6 microliter of 1:1 (w/w) sucrose solution. In the control group, the sucrose solution was uncontaminated but in experimental groups it contained imidacloprid in a concentration 50ug/l or 100ug/l, which corresponds to 0.3 ng or 0.6 ng of imidacloprid per larva. As the source of imidacloprid, the liquid insecticide Kohinor 200 SL (Adama) was used (active ingredient content: 200 g per liter). The dosage of imidacloprid used in this study was based on earlier studies which estimated consumption of contaminated pollen and nectar. 0.28 ng of imidacloprid would be taken through nectar and only about 0.02 ng through pollen [21]. After application, the combs were returned to the colonies for rearing. After cell capping, the combs were placed in cages and moved to incubators set to 70% air humidity and temperature of 35.4°C. After emergence, approximately 100 workers were randomly selected and anaesthetized with carbon dioxide (CO₂) and frozen for further analysis.

The fore wings of workers were dissected and images of them were obtained using a CMOS camera (UCMOS09000KPB, ToupTek Photonics) equipped with a 25-mm lens (FL-CC2514-2M, Ricoh). Damaged, dirty or singular wings were excluded. 19 characteristic points (landmarks) in vein intersections were automatically determined on wing images using DrawWing computer software [29]. The position of the landmarks was based on a previous study [30]. The Procrustes superimposition method was used to align the configuration of landmarks using MorphoJ 1.04 software [31]. The aligned coordinates were used to describe wing shape. Centroid size was used as a measure of wing size. The asymmetry of wing shape was evaluated by

Mahalanobis FA score (obtained from MorphoJ), whereas the wing size asymmetry was measured as the difference between the right and the left wing. The statistical analysis was conducted in Statistica™ (data analysis software system), version 10.

Results

Wing size differed markedly between colonies (ANOVA factor of colony: $F = 82$; $P < 0.0001$) and doses of imidacloprid (ANOVA factor of dose: $F = 53$; $P < 0.0001$). There were also significant interactions between the factors colony and dose (ANOVA interaction colony x dose: $F = 16$; $P < 0.0001$). The interaction reflects different reactions of the colonies to a higher dose of imidacloprid. In two of the colonies (C and D), bees fed with a higher dose of imidacloprid were smaller, whereas in two other colonies (A and B) the higher dose of imidacloprid caused an unexpected increase of wing size (Fig. 1).

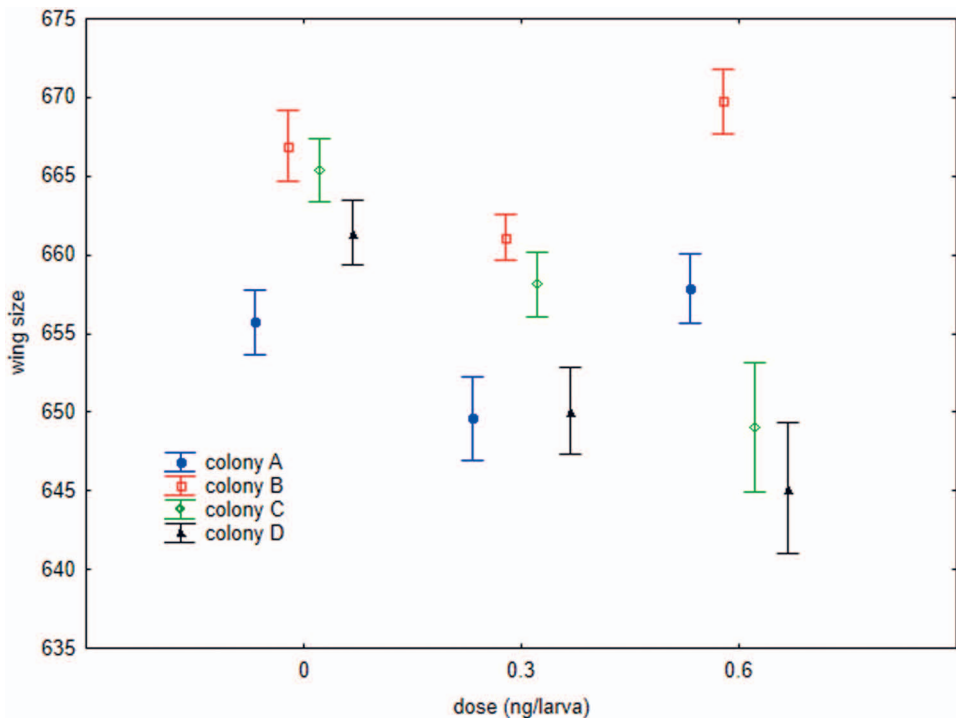


FIG. 1. Wing size (measured as centroid size \pm 95% confidence intervals) of workers exposed to three doses of imidacloprid

Wing size asymmetry differed both between colonies (ANOVA: $F = 3.9$; $P < 0.0085$) and doses of imidacloprid (ANOVA: $F = 4.1$; $P < 0.0160$). The interaction between these two factors was not significant (ANOVA: $F = 1.5$; $P < 0.0001$). In the control group, the right wings were large, whereas in the experimental groups with contaminated food, wings tended to be less asymmetrical or in some colonies the left wing was larger than the right wing (Fig. 2).

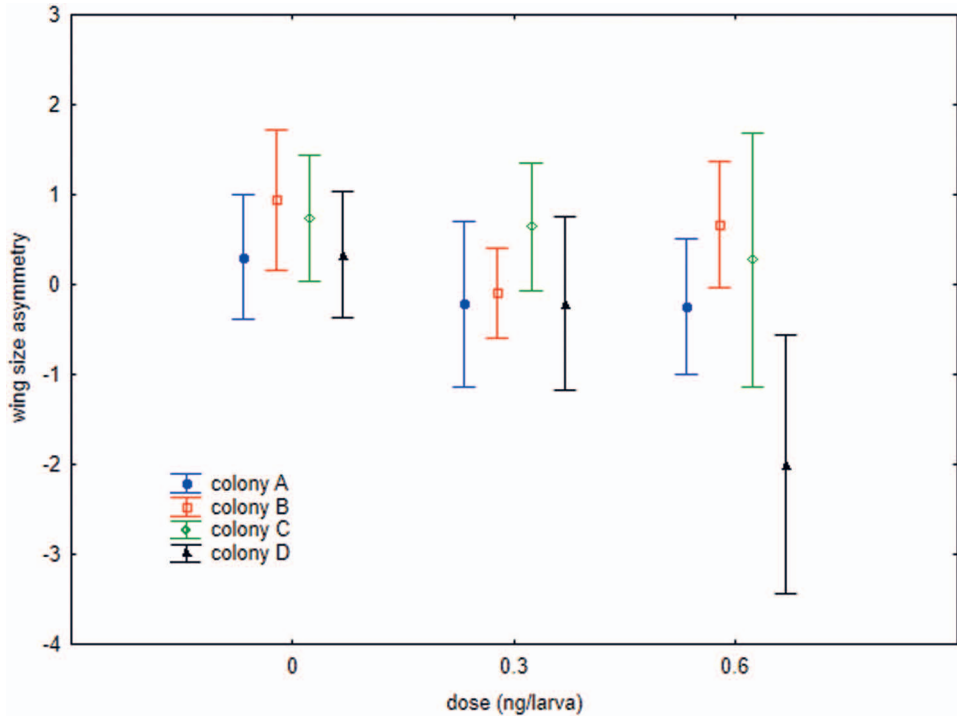


FIG. 2. Wing size asymmetry (measured as difference between centroid size of the right and the left wing $\pm 95\%$ confidence intervals) of workers exposed to three doses of imidacloprid

Wing shape asymmetry differed between colonies (ANOVA: $F = 12.7$; $P < 0.0001$) but not between doses of imidacloprid (ANOVA: $F = 3.3$; $P = 0.1065$). The interaction between these two factors was also significant (ANOVA: $F = 5.2$; $P = 0.0018$). Notably in two colonies (A and B) in which wing size was higher with the higher dose of imidacloprid, wing shape asymmetry decreased with imidacloprid dose. In the two other colonies, the wing asymmetry was highest with the highest dose of imidacloprid (Fig. 3).

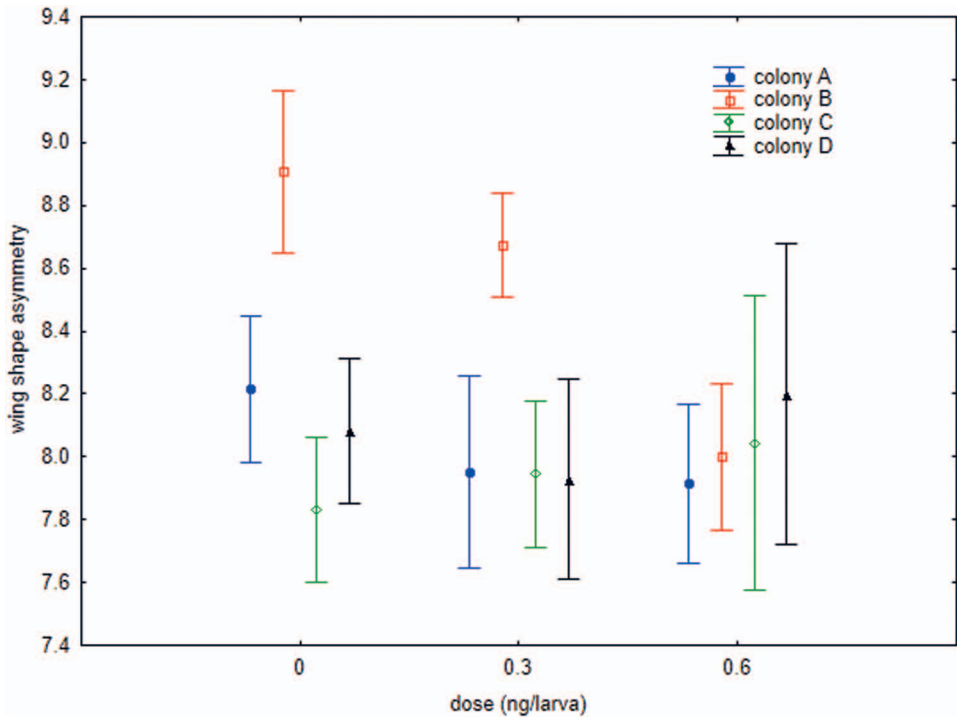


FIG. 3. Wing shape asymmetry (measured as Mahalanobis distance between the shape of the right and the left wing $\pm 95\%$ confidence intervals) of workers exposed to three doses of imidacloprid

There was significant relationship between wing shape and size (Multiple regression: $F = 42.79, P < 0.0001$), therefore, MANCOVA with centroid size as covariate was used to compare differences between wing shape. Wing shape differed between colonies but not between doses of imidacloprid (Tab. 1). There was also a complicated pattern of interactions between factors but the interaction between dose and size was not significant (Tab. 1).

TABLE 1
MANCOVA of wing shape with wing size as a covariate
for both doses and colonies

Effect	Wilks Λ	F	P
dose	0.94	0.89	0.719
colony	0.70	3.65	< 0.001
size	0.77	8.93	< 0.001
dose*colony	0.73	1.56	< 0.001
size*colony	0.71	3.53	< 0.001
dose*size	0.94	0.89	0.725
dose*size*colony	0.74	1.53	< 0.001

Discussion

The results presented here show that the presence of imidacloprid in the food of honey bee larvae influenced the size of imagines. As expected, workers exposed to 0.3 ng of imidacloprid were smaller than workers from the control group. In two colonies (C and D), the observed decrease of body size was as large as that in workers exposed to 0.6 ng of imidacloprid. However, in two other colonies (A and B), workers exposed to higher doses were larger even than workers from the control group. This inconsistency can be related to the differential mortality of larvae of different sizes. If only the largest larvae survived the higher dose of pesticide, the mean size of bees which survived could be higher. Unfortunately, the mortality of larvae was not recorded in this study. Despite this inconsistency, the obtained results suggest a negative impact of imidacloprid on honey bee development. A similar negative impact of neonicotinoids in larval food on body size was found in stingless bees [11].

There was also a significant influence of imidacloprid on wing size asymmetry. In the control group, the size asymmetry index tended to be positive which indicates that there is directional asymmetry of wing size and right wings are large. This confirms earlier studies which reported directional asymmetry of wing size in honey bees [32]. Workers exposed to imidacloprid tended to have a smaller value of the size asymmetry index and in some groups, it was negative. It is usually expected that stressful conditions (including presence of pesticides) increase asymmetry [33]. It was also argued that directional asymmetry makes interpretation of data from developmental stability studies difficult [34]. The results presented here on wing size asymmetry are interesting because they suggest that in optimal conditions, wings are asymmetrical and in stressful conditions the asymmetry is smaller or switched to the opposite direction. Directional asymmetry with larger right wings was also found in *Anthophora* bees [35]. In this study, directional asymmetry was higher in rural than in urban environments and it was concluded that an urban environment provides a better habitat for bees. However, in rural and urban environments there are different stressors which were not estimated in the mentioned study, therefore the results should not be regarded as conclusive.

We were not able to confirm that the presence of imidacloprid in larval food affects wing shape or wing shape asymmetry. In this situation, it may be expected that the presence of imidacloprid in larval food should not affect subspecies identification [30]. However, in some other studies neonicotinoids affected the fluctuating asymmetry of wings in honey bee drones [36]. On the other hand, in stingless bees significant directional asymmetry of wing shape was only present in bees which were fed during development with food contaminated with neonicotinoids [11].

Previous studies have reported negative effects of exposure to imidacloprid on larvae and their further stages of development [37–38]. Honey bee larvae fed with food contaminated with 5 µg/kg of imidacloprid showed a delay in hatching or development [39]. Similar effects were also found in stingless bees [11]. Another study reported that dosage as low as 0.04 ng/larva can impair the olfactory behaviour in adult life of treated specimens [20]. Honey bee larva fed with a diet contaminated with 400 ppm (approximately 3.5 ng/larvae) of imidacloprid showed a significant increase in apoptosis in the midgut [37]. Furthermore, the negative effects of imidacloprid were noted for bumble bee [38] and solitary bee [40] brood. Nevertheless, other research showed that imidacloprid does not have a negative impact on colony health [16]. Conflicting results may be a result of several factors. The toxicity of imidacloprid and its impact varied within colonies and subspecies, honeybees age, disease or malnutrition [41], season [39] and colony health, e.g. *Nosema ceranae* infestation [42].

The results presented in this study suggest that wing size and asymmetry of wing size can be used as indicators of pesticide exposure in honey bee workers. However, these indicators seem to be species specific.

References

1. Yamamoto I, Casida JE. Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor. Tokyo: Springer, 1999.
2. Tomizawa M. Neonicotinoids and derivatives: effects in mammalian cells and mice. *J Pestic Sci.* 2004; 29: 177–183.
3. Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45: 247–268.
4. Buchholz A, Nauen R. Translocation and translaminar bioavailability of two neonicotinoid insecticides after foliar application to cabbage and cotton. *Pest Manag Sci.* 2002; 58: 10–16.
5. Fossen M. Environmental fate of imidacloprid. Sacramento, CA: California Department of Pesticide Regulation, Environmental Monitoring, 2006.
6. Krohn J, Hellpointner E. Environmental fate of imidacloprid. *Pflanzenschutz-Nachr Bayer* 2002; 55: 1–26.
7. Greatti M, Sabatini AG, Barbattini R, Rossi S, Stravisi A. Risk of environmental contamination by the active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing: preliminary results. *Bull Insectology* 2003; 56: 69–72.
8. Blacquièrre T, Smagghe G, van Gestel CAM, Mommaerts V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* 2012; 21: 973–992.

9. Stark JD, Jepson PC, and Mayer DF. Limitations to use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. *J Econ Entomol.* 1995; 88: 1081–1088.
10. Scott-Dupree CD, Conroy L, Harris CR. Impact of currently used or potentially useful insecticides for canola agroecosystems on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae), *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *J Econ Entomol.* 2009; 102: 177–182.
11. Rosa A de S, Teixeira JSG, Vollet-Neto A, Queiroz EP, Blochtein B, Pires CSS, Imperatriz-Fonseca VL. Consumption of the neonicotinoid thiamethoxam during the larval stage affects the survival and development of the stingless bee, *Scaptotrigona aff. depilis*. *Apidologie* 2016; 47: 729–738.
12. Stanley J, Preetha G. Pesticide toxicity to non-target organisms. Berlin: Springer; 2016.
13. Schneider CW, Tautz J, Grünewald B, Fuchs S. RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera*. *PLOS ONE* 2012; 7: e30023.
14. Hernandez D, Mansanet V, Puiggros JJV. Use of Confidor 200 SL in vegetable cultivation in Spain. *Pflanzenschutz-Nachr Bayer* 1999; 52: 364–375.
15. Fossen M. Environmental fate of imidacloprid. Environmental Monitoring, California Department of Pesticide Regulation, 2006; URL: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/Imidclprdfate2.pdf> 7/8/12.
16. Schmuck R, Schöning R, Stork A, Schramel O. Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers: risk to honeybees by an imidacloprid seed dressing. *Pest Manag Sci.* 2001; 57: 225–238.
17. Bonmatin J-M, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreuzweiser DP, Krupke C, Tapparo A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environ Sci Pollut Res.* 2015; 22: 35–67.
18. Girolami V, Mazzon L, Squartini A, Mori N, Marzaro M, Di Bernardo A, Tapparo A. Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *J Econ Entomol.* 2009; 102: 1808–1815.
19. Haydak MH. Honey bee nutrition. *Annu Rev Entomol.* 1970; 15: 143–156.
20. Yang E-C, Chang H-C, Wu W-Y, and Chen Y-W. Impaired olfactory associative behavior of honeybee workers due to contamination of imidacloprid in the larval stage. *PLOS ONE* 2012; 7: e49472.
21. Rortais A, Arnold G, Halm M-P, Touffet-Briens F. Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie* 2005; 36: 71–83.
22. Alix A, Vergnet C. Risk assessment to honey bees: a scheme developed in France for non-sprayed systemic compounds. *Pest Manag Sci.* 2007; 63: 1069–1080.
23. Papach A, Fortini D, Grateau S, Aupinel P, Richard F-J. Larval exposure to thiamethoxam and American foulbrood: effects on mortality and cognition in the honey bee *Apis mellifera*. *J Apic Res.* 2017; 56: 475–486.
24. Tavares DA, Roat TC, Carvalho SM, Silva-Zacarin ECM, Malaspina O. In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere* 2015; 135: 370–378.

25. Gajger IT, Sakač M, Gregorc A. Impact of thiamethoxam on honey bee queen (*Apis mellifera carnica*) reproductive morphology and physiology. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2017; 99: 297–302.
26. Wu JY, Anelli CM, Sheppard WS. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLOS ONE* 2011; 6: e14720.
27. Wu-Smart J, Spivak M. Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. *Sci Rep.* 2016; 6: 1–11.
28. Beasley DAE, Bonisoli-Alquati A, Mousseau TA. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: a meta-analysis. *Ecol Indic.* 2013; 30: 218–226.
29. Tofilski A. DrawWing, a program for numerical description of insect wings. *J Insect Sci.* 2004; 4: 17.
30. Nawrocka A, Kandemir İ, Fuchs S, Tofilski A. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. *Apidologie* 2017; 49: 172–184.
31. Klingenberg CP. MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour.* 2011; 11: 353–357.
32. Schneider SS, Leamy LJ, Lewis LA, DeGrandi-Hoffman G. The influence of hybridization between African and European honeybees, *Apis mellifera*, on asymmetries in wing size and shape. *Evolution* 2003; 57: 2350–2364.
33. Clarke GM, McKenzie LJ. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. *J Econ Entomol.* 1992; 85: 2045–2050.
34. Palmer AR. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. [W]: TA Markow (ed.), *Developmental instability: its origins and evolutionary implications.* Vol. 2. Springer; 1994, pp. 335–364.
35. Banaszak-Cibicka W, Fliszkiewicz M, Langowska A, Żmihorski M. Body size and wing asymmetry in bees along an urbanization gradient. *Apidologie* 2018; 49: 297–306.
36. Friedli A, Bruckner S, Williams GR, Neumann P, Straub L. Increased fluctuating asymmetry in honey bee drones exposed to neonicotinoid pesticides, *EurBee 8 2018, 8th Congress of Apidology, Ghent, Belgium.* 2018.
37. Gregorc A, Ellis JD. Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pest Biochem Physiol.* 2011; 99: 200–207.
38. Tasei JN, Lerin JL, Ripault G. Sub-lethal effects of imidacloprid on bumblebees, *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) during a laboratory feeding test. *Pest Manage Sci.* 2000; 56: 784–788.
39. Decourtye A, Lacassie E, Pham-Delègue M-H. Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season: effects of imidacloprid on learning performances of honeybees. *Pest Manage Sci.* 2003; 59: 269–278.
40. Abbott VA, Nadeau JL, Higo HA, Winston ML. Lethal and sublethal effects of imidacloprid on *Osmia lignaria* and clothianidin on *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). *J Econ Entomol.* 2008; 101: 784–796.

41. Cresswell JE. A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology* 2011; 20: 149–157.
42. Alaux C, Brunet J-L, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M, Le Conte Y. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol.* 2010; 12: 774–782.

Na stronie przedtytułowej wykorzystano grafikę autorstwa Krzysztofa Bąka

Redaktor
Barbara Jagoda

Projekt okładki
Emilia Dajnowicz


Redakcja techniczna
Małgorzata Pleśniar


Łamanie
Edward Wilk


Redaktor inicjujący
Przemysław Pieniążek


Wersją referencyjną publikacji jest wersja elektroniczna
Publikacja na licencji Creative Commons
Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach
4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0)



 <https://orcid.org/0000-0003-2198-0506>

 <https://orcid.org/0000-0001-6188-096X>

 <https://orcid.org/0000-0003-3998-2673>

 <https://orcid.org/0000-0002-7186-0310>

<https://doi.org/10.31261/PN.4036>

57. Naukowa Konferencja Pszczelarska, Cieszyn
2020 : artykuły pokonferencyjne / redakcja naukowa
dr hab. Mirosław Nakonieczny, dr Agata Nicewicz,
mgr Łukasz Nicewicz, dr hab. Zbigniew Kołtowski.
- Katowice : Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego, 2021

ISBN 978-83-226-4050-0
(wersja elektroniczna)

Wydawca
Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego
ul. Bankowa 12B, 40-007 Katowice
www.wydawnictwo.us.edu.pl
e-mail: wydawnictwo@us.edu.pl

Wydanie I. Arkuszy drukarskich: 9,5. Arkuszy wydawniczych: 11,0. PN 4036.

Pszczelnicze Towarzystwo Naukowe (PTN) zostało założone w 1987 roku. Do głównych jego zadań należy rozwijanie i upowszechnianie nauk w zakresie pszczelnictwa w Polsce, inspirowanie prac naukowo-badawczych w tej dziedzinie oraz prezentowanie polskich nauk w zakresie pszczelnictwa w kraju i za granicą. Cele te realizowane są między innymi przez wydawanie czasopisma naukowego „Journal of Apicultural Science” oraz miesięcznika popularnonaukowego dla pszczelarzy „Pszczelarstwo”. Ponadto PTN uczestniczy w organizowaniu naukowych kongresów, zjazdów, sympozjów, konferencji, wystaw i konkursów, a także współpracuje z placówkami naukowymi i organizacjami pszczelarskimi w zakresie upowszechniania wyników badań naukowych i wiedzy na tematy pszczelarskie. Niniejsza publikacja jest przykładem realizacji wymienionych działań PTN we współpracy z Uniwersytetem Śląskim w Katowicach, a także ze Śląskim Związkiem Pszczelarzy oraz Zakładem Pszczelnictwa w Puławach.



Egzemplarz bezpłatny

ISBN 978-83-226-4050-0



9 788322 640500

Więcej o książce

