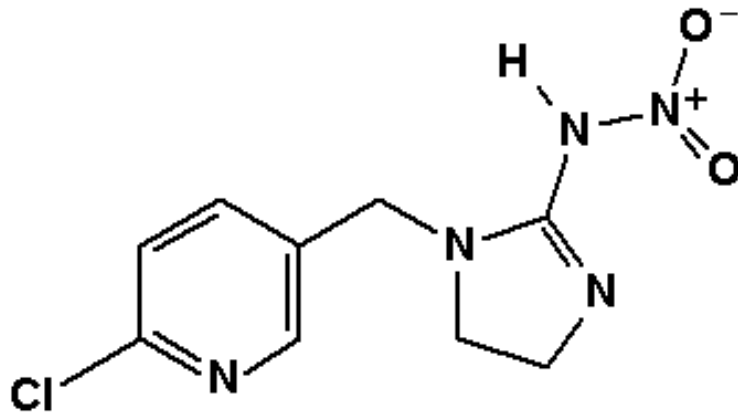


Het risicoprofiel van neonicotinoïde insecticiden voor arthropoden



Voordracht voor de collegeleden van het Ctgb
in het Bijenhuis te Wageningen op 25-05-2011

De ontdekking van Luc Belzunces

S. Suchail, D. Guez, and L. P. Belzunces (2001) Environ Toxicol Chem. 20:2482-6



- In 2001 stelde Luc Belzunces, een bijenonderzoeker bij INRA in Avignon, vast dat de acuut letale dosis van imidacloprid slechts 40 nanogram per bij was, veel lager dan bij de meeste andere insecticiden.
- Zijn grote ontdekking was echter dat de letale dosis bij chronische blootstelling 4.000 keer lager was.
- “Een opname van 1 picogram per dag was voldoende om een bij binnen 10 dagen te doden” vertelde hij in het INRA tijdschrift (juni 2009). “Bovendien wordt imidacloprid afgebroken tot 6 metabolieten, waarvan sommige nog giftiger zijn”
- Hij zei dat het vermogen om uiterst geringe sporen van imidacloprid in stuifmeel te meten nu aantoont dat de concentratie in de orde van grootte van microgrammen per kilogram stuifmeel is en dat dit een risico voor bijen vormt.

De systemische toepassing van insecticiden veroorzaakt een verontreiniging van stuifmeel en nectar

- Systemische insecticiden komen in geringe hoeveelheden (in de orde van grootte van 1–10 μg insecticide. kg^{-1}) voor in het stuifmeel en nectar van planten dat door bijen wordt geconsumeerd (Rortais et al. 2005), zoals
zonnebloemen (Bonmatin et al. 2003; Schmuck et al. 2001),
koolzaad (Bonmatin et al. 2005)
phacelia (Wallner et al. 1999 geciteerd in Decourtye et al. 2003)



De besmetting van stuifmeel en nectar met systemische insecticiden veroorzaakt chronische blootstelling van een bijenvolk aan deze stoffen

J. Kievits & Gh. De Roeck (2008) Maandblad van de Vlaamse Imkersbond:

- Door de besmetting van het stuifmeel en de nectar zijn de contacten met systemische insecticiden tijdens de dracht repetitief.

De contacten met het gif bestendigen zich gedurende de periode dat de larven het voedsel ontvangen en als de bijen honing eten uit een besmet deel van hun voorraad.



De schadelijke werking van blootstelling van bijen en/of bijenvolk aan systemische insecticiden

- Letale werking: verhoogde mortaliteit van blootgestelde bijen tegenover niet-blootgestelde bijen
- Sub-letale werking: verminderde prestaties van blootgestelde (bijen)volken in aspecten van ontwikkeling, vruchtbaarheid, levensverwachting of gedrag (Desneux et al. 2007).





Risico Analyse van Clothianidin (02-11-2010)

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

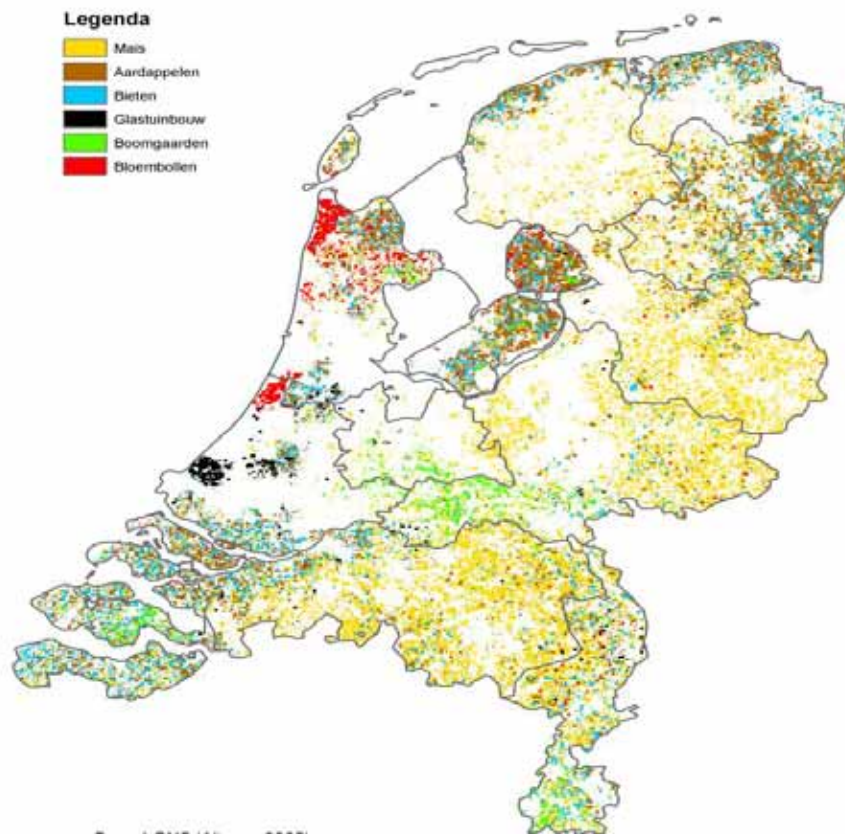
Joseph DeCant, Ecologist & Michael Barrett, Chemist

Environmental Risk Branch V, Environmental Fate and Effects Division (EFED)

- This compound is toxic to honey bees. The persistence of residues and potential residual toxicity of Clothianidin in nectar and pollen suggests the possibility of chronic toxic risk to honey bee larvae and the eventual instability of the hive.
- Clothianidin has the properties of a chemical which could lead to widespread groundwater contamination. The use of this chemical in areas where soils are permeable, particularly where the water table is shallow, may result in ground water contamination

De toepassingen van imidacloprid in Nederland veroorzaken oppervlaktewaterverontreiniging

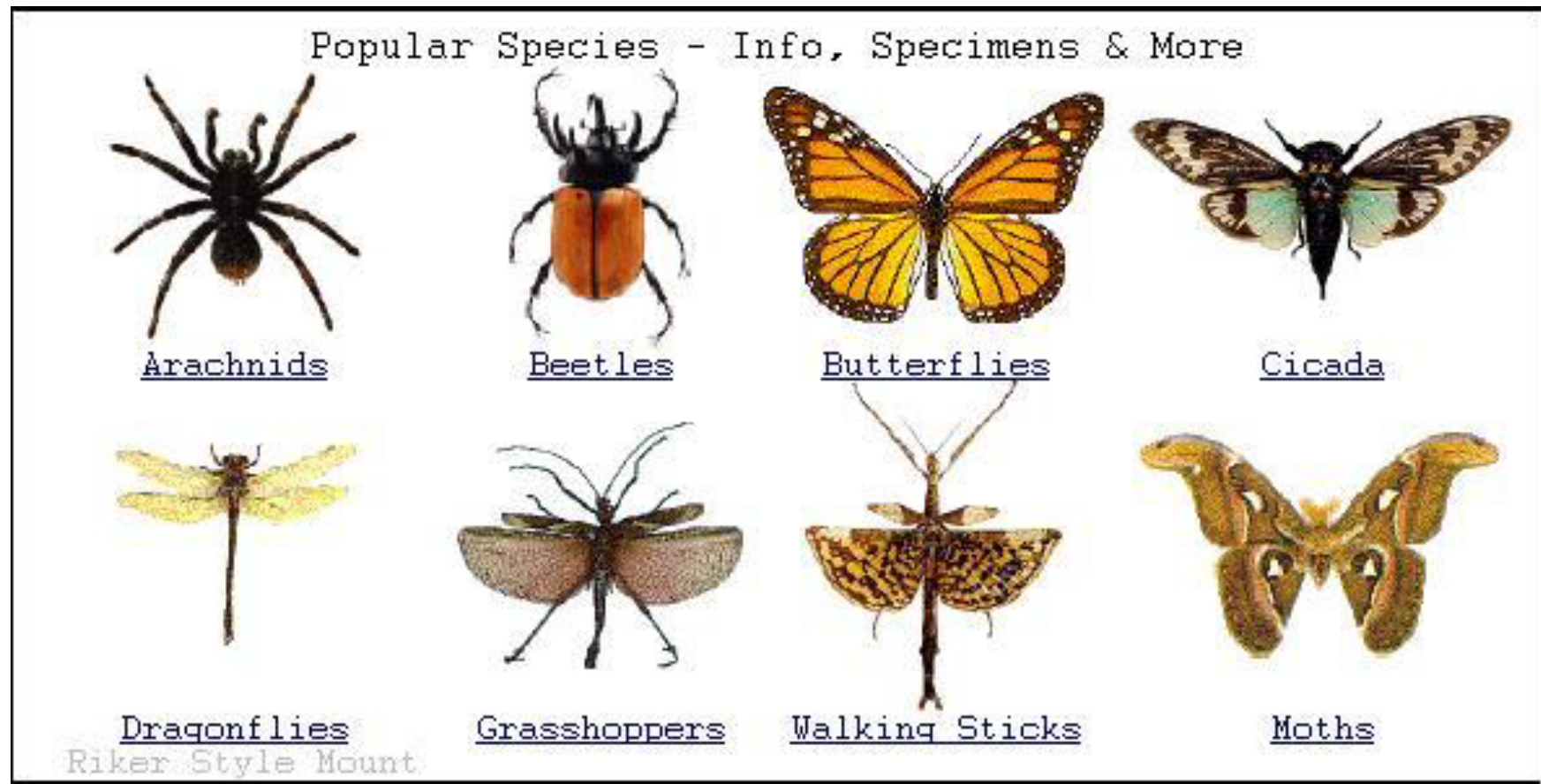
De kaart is afkomstig van het Planbureau voor de Leefomgeving.



Bron: LGN5 (Alterra, 2005)

- Rijnland heeft in 2005 en 2006 in akkerbouw gebieden de bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater gemeten. Het insecticide imidacloprid wordt gezien als één van de drie probleemstoffen in **akkerbouw** gebieden
- Rivierenland heeft in 2009 resultaten gepubliceerd van de monitoring van gewasbeschermingsmiddelen in het oppervlaktewater op agrarische monsterpunten in 2008. In de **fruitteelt** lag de hoogst gemeten imidacloprid concentratie 125x boven de norm.
- In 2008 is in 40% van alle metingen van imidacloprid in het oppervlaktewater van het **bloembollenteelt** areaal een overschrijding gevonden, veruit het hoogste percentage sinds de start van de metingen in 2001
- Delfland heeft een meetnet gericht op het **glastuinbouwgebied**. De resultaten 2005-2009 laten zien dat de concentraties van gewasbeschermingsmiddelen zeer hoog zijn en de normen zeer fors overschrijden. De belangrijkste probleemstoffen in dit kader zijn de insecticiden imidacloprid, pirimicarb en pirimifos-methyl en het fungicide carbendazim.
- Rijnland heeft in 2005 en 2006 op 5 locaties van **boomteelt** maandelijks gedurende het hele jaar de bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater gemeten. De hoogste gemeten concentratie van imidacloprid lag in 2005 meer dan 900x boven de norm en in 2006 meer dan 400x boven de norm.

De toxiciteit van neonicotinoïde insecticiden voor arthropoden

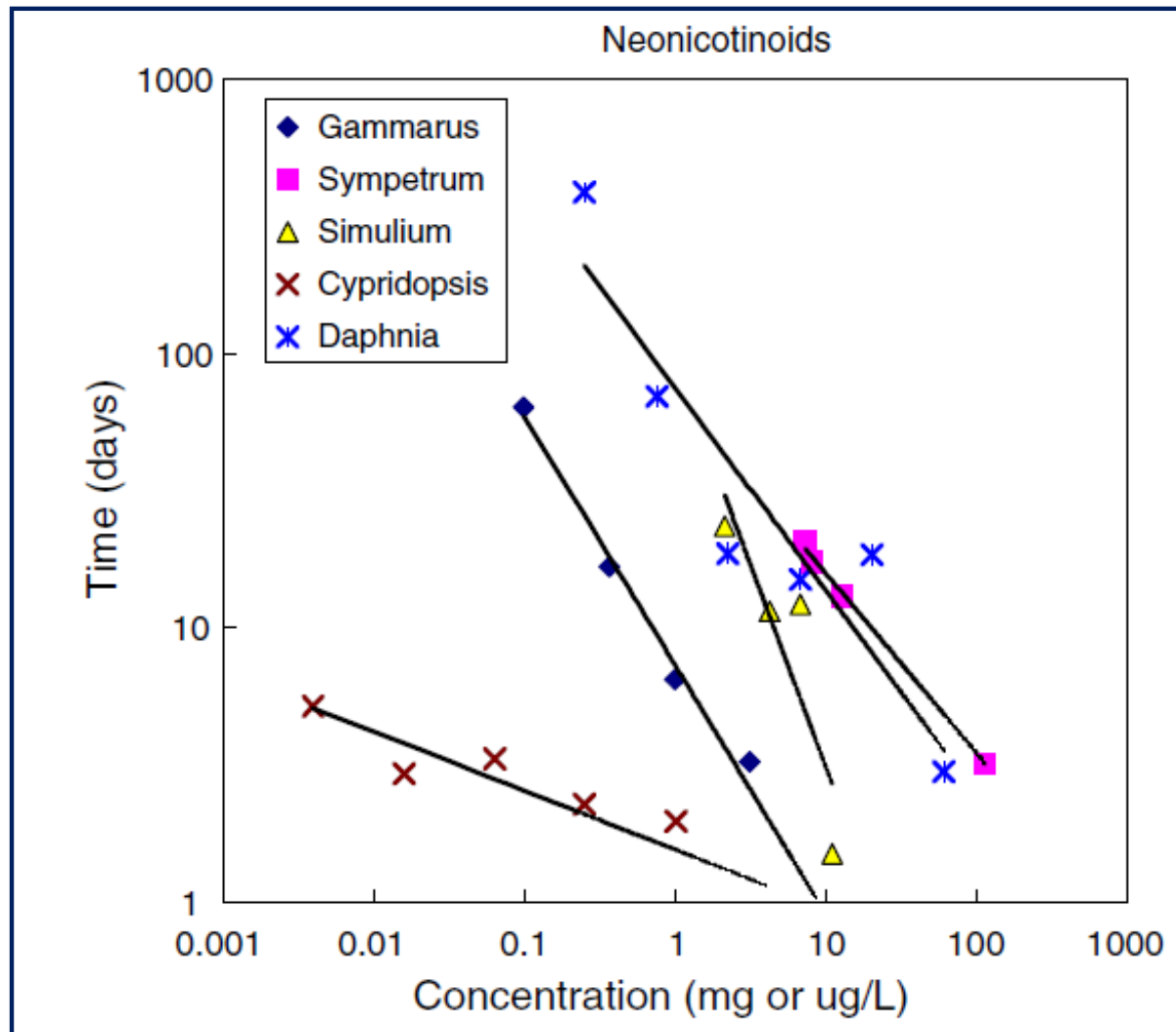


De letale werking van imidacloprid en thiacloprid op arthropoden

De relatie tussen concentratie en blootstellingsduur tot letale werking

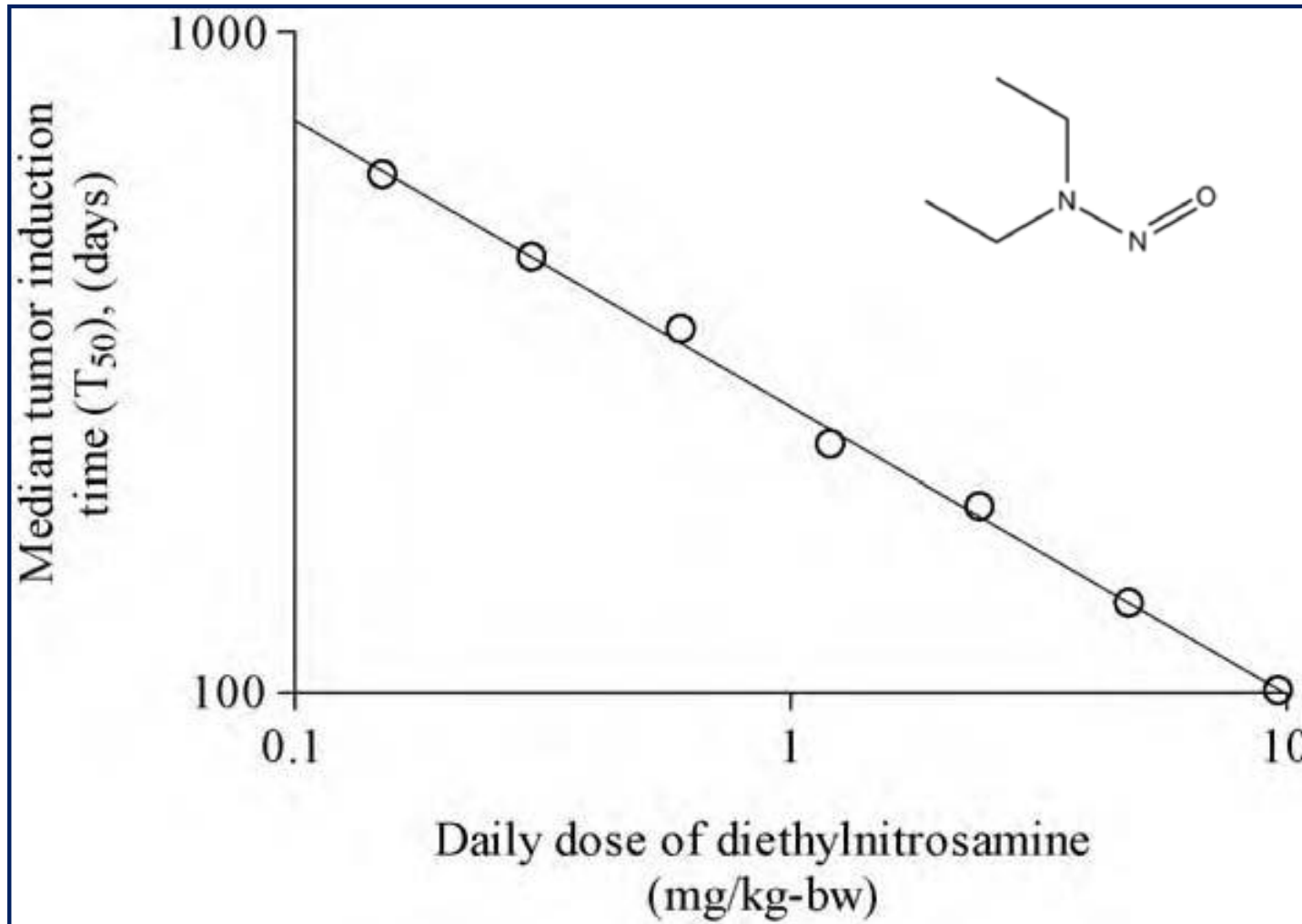
Met logaritmische coördinaten ontstaat een rechte lijn

Sanchez-Bayo, F., 2009. Ecotoxicology 18, 343–354.



Leverkanker in de rat veroorzaakt door diethylnitrosamine
De relatie tussen dagelijkse dosis en blootstellingsduur tot het ontstaan van kanker
Met logaritmische coördinaten ontstaat een rechte lijn

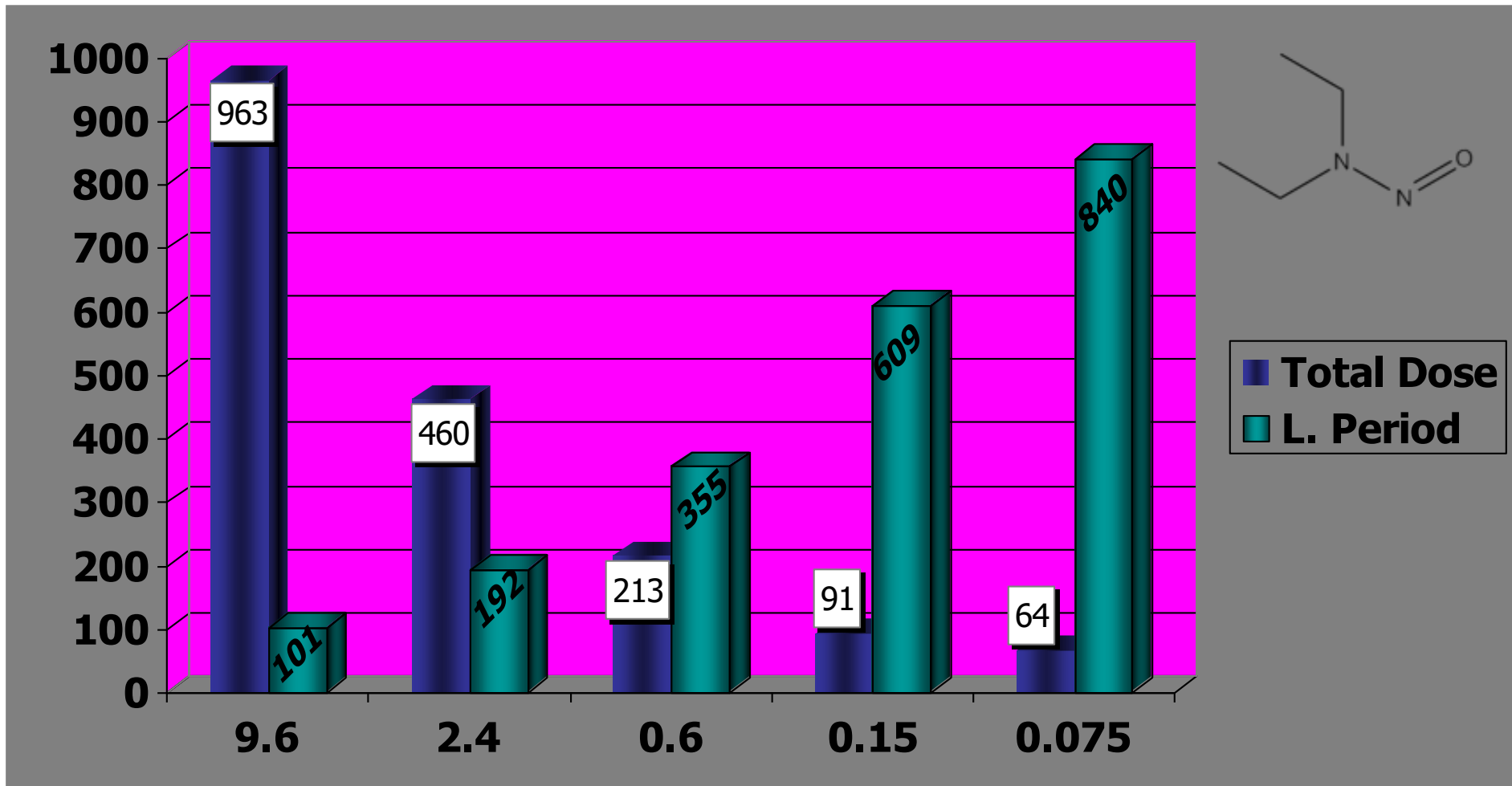
Druckrey, H., Schildbach, A., Schmaehl, D., Preussmann, R., Ivankovic, S., 1963. Quantitative analysis of the carcinogenic effect of diethylnitrosamine. *Arzneimittelforschung* 13, 841–851



Leverkanker in de rat veroorzaakt door diethylnitrosamine

De kankerverwekkende werking wordt versterkt door de blootstellingsduur

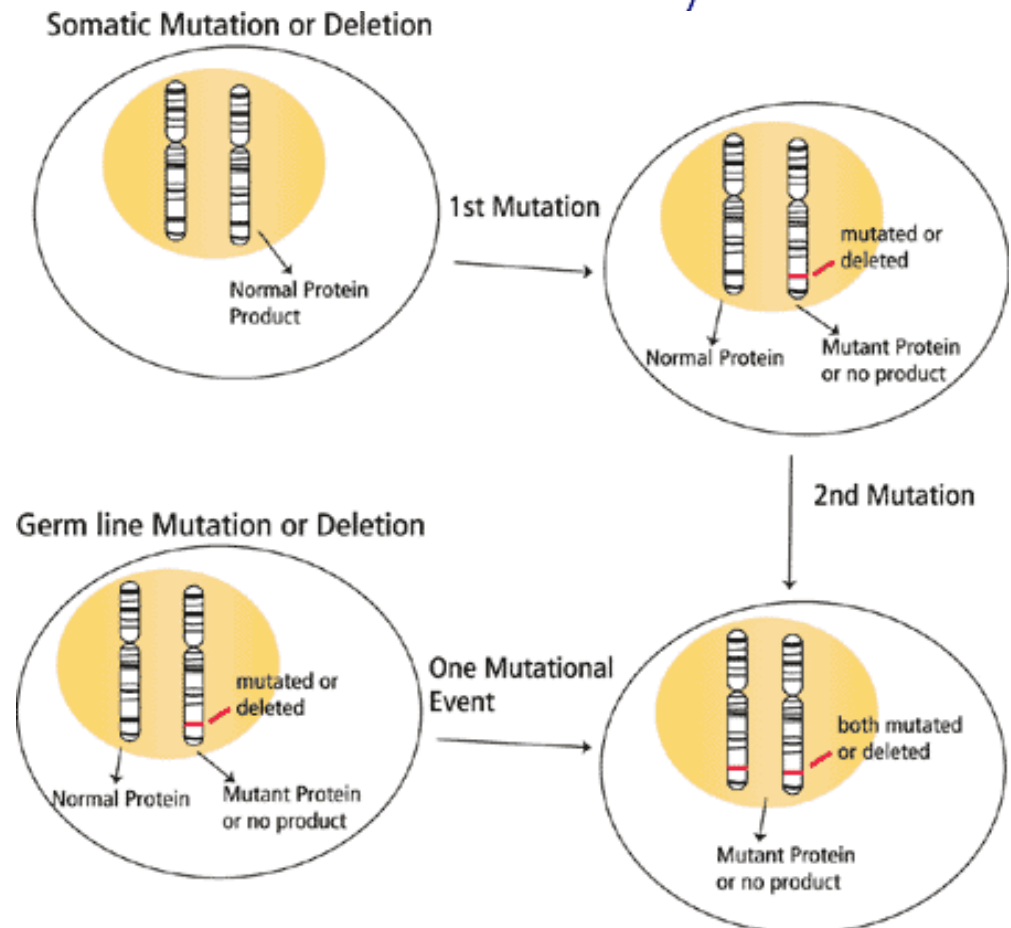
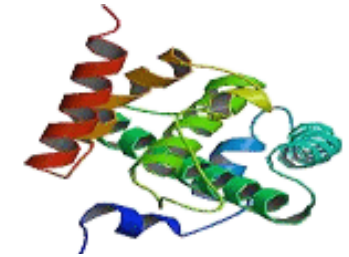
Druckrey, H., Schildbach, A., Schmaehl, D., Preussmann, R., Ivankovic, S., 1963. Quantitative analysis of the carcinogenic effect of diethylnitrosamine. *Arzneimittelforschung* 13, 841–851



Een veilig blootstellingsniveau is voor een kankerverwekkende stof niet definieerbaar

Knudson AG (1971) Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma Proc Natl Acad Sci U S A. 68(4):820-3

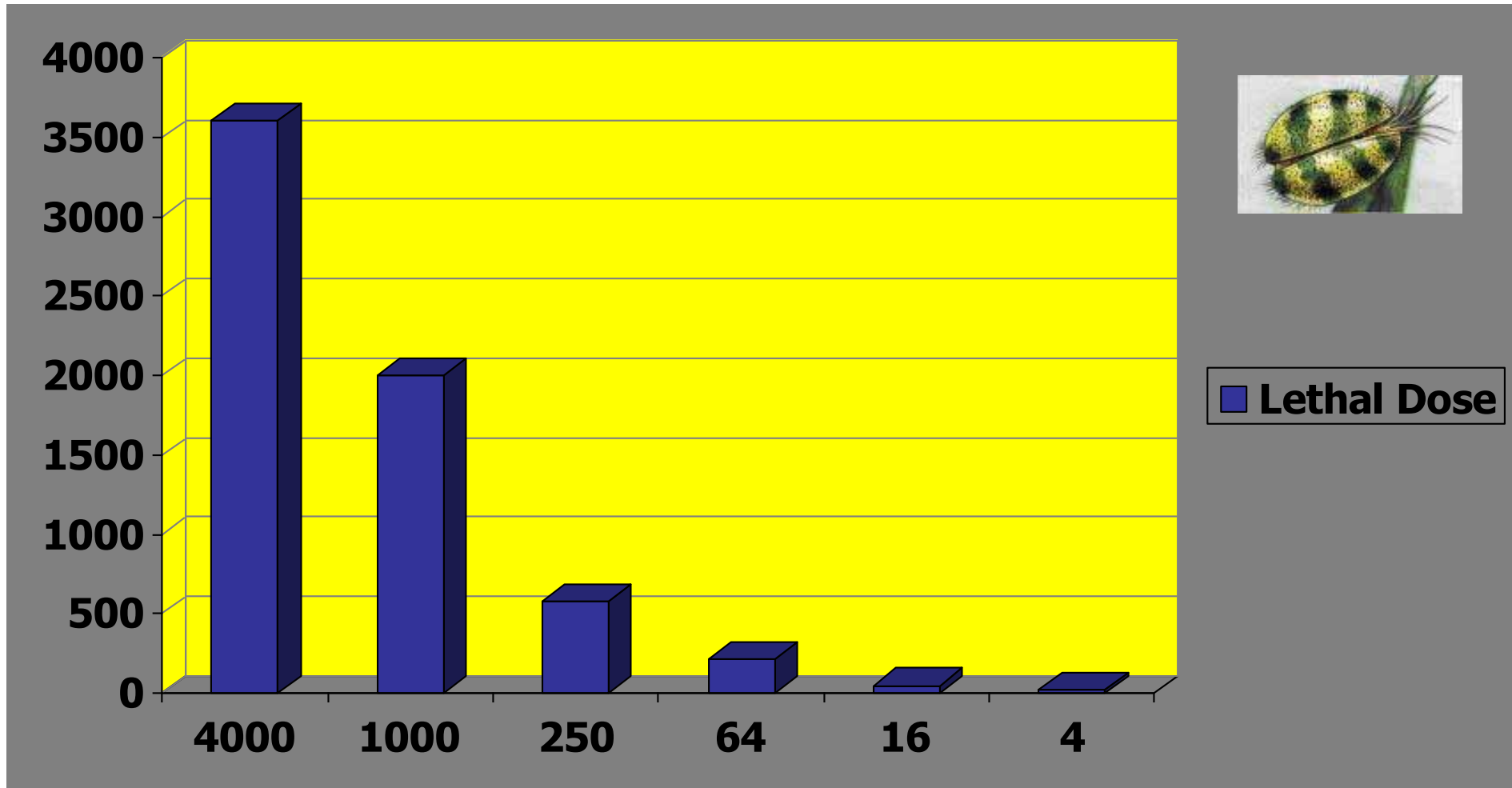
- **Eén treffer op de verkeerde plek kan voldoende zijn om kanker te veroorzaken**
- Het retinoblastoma (Rb) eiwit is een tumorsuppressor eiwit dat bij vele vormen van kanker niet werkzaam is
- Gemuteerd Rb kan erfelijk zijn en het gemuteerde gen is recessief
- Als in een dergelijke situatie het andere Rb gen ook door een stof gemuteerd wordt, zijn alle pRb eiwitten in de cel onwerkzaam



De letale werking van imidacloprid op *Cypridopsis vidua*

De letale werking wordt versterkt door de blootstellingsduur

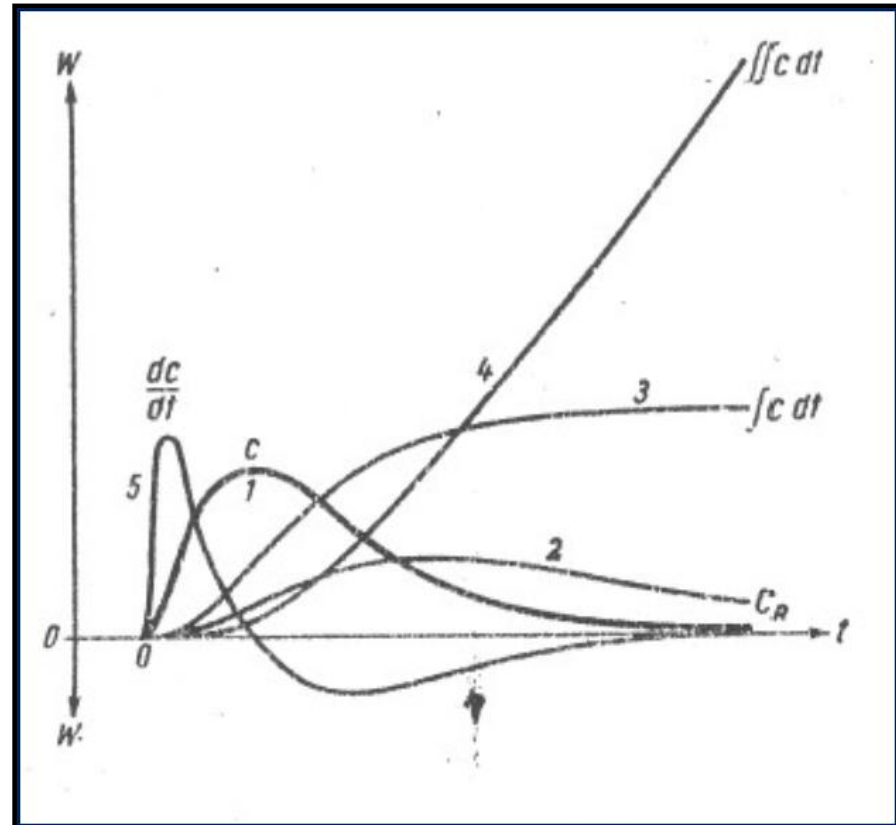
Tennekes, H.A. (2010) Toxicology 276, 1-4



Versterking van de werking door de blootstellingsduur kan worden verklaard door onomkeerbaarheid van receptorbinding en werking

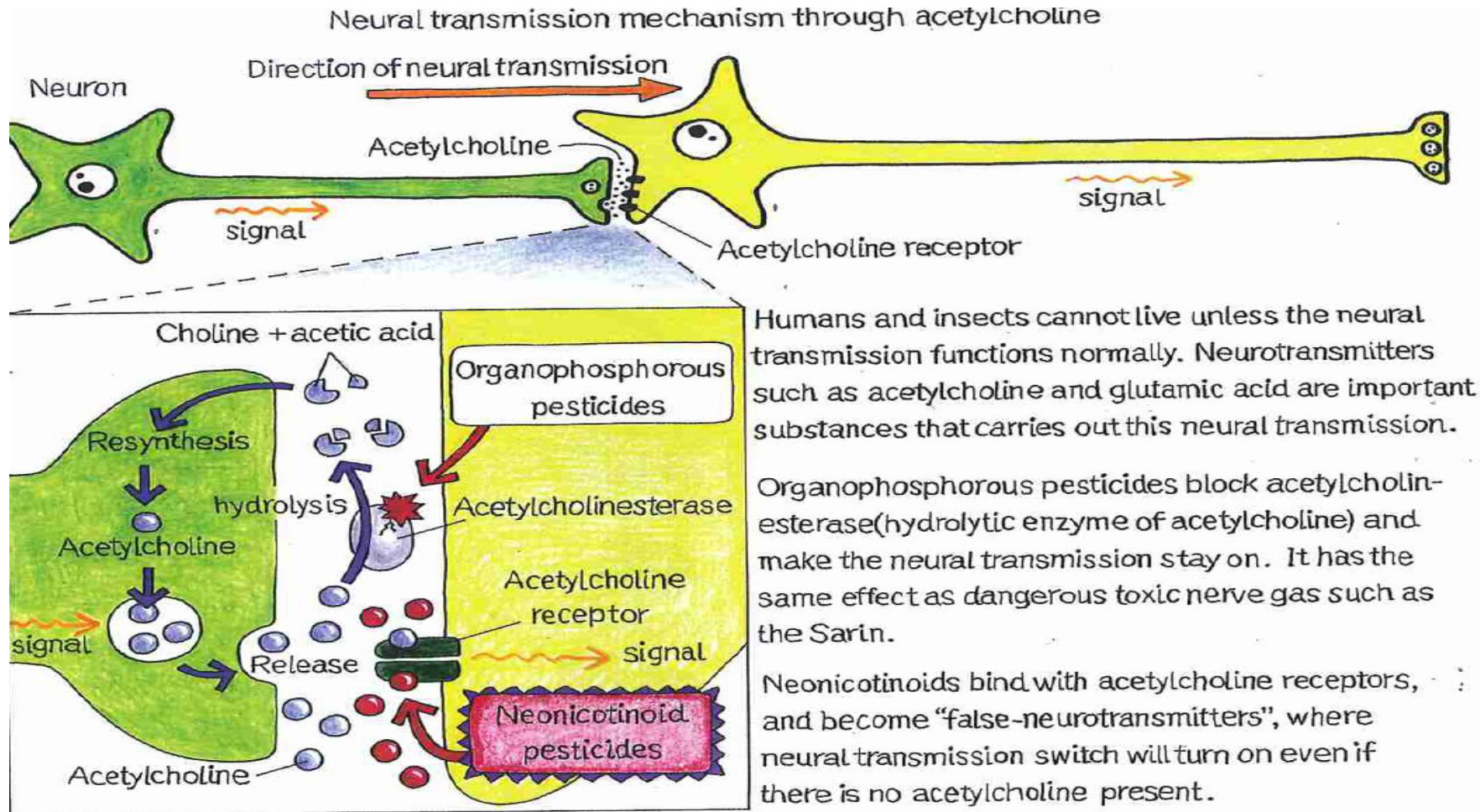
Druckrey, H. & Küpfmüller, K. (1949). Dosis und Wirkung. Beiträge zur theoretischen Pharmakologie, Editio Cantor GmbH, Freiburg im Breisgau

- Wanneer zowel de receptorbinding als ook de werking onomkeerbaar zijn wordt de werking bepaald door de dubbele integraal van de concentratie van het gif op de plaats van werking over de tijd.
- Deze verhoudingen zijn weergegeven door de curve 4, waarbij de curve 1 de concentratie van het gif op de plaats van werking over de tijd weergeeft.
- In dit geval wordt de werking versterkt door de blootstellingsduur.



Imidacloprid is een **sterke agonist** met een **hoge affiniteit** voor nicotinerge acetylcholine receptoren in het centrale zenuwstelsel van insecten

Abbink, J., 1991. The Biochemistry of Imidacloprid. Pflanzenschutz-Nachrichten
Bayer, Germany, F.R, Serial ID – ISSN: 0340-1723.



Humans and insects cannot live unless the neural transmission functions normally. Neurotransmitters such as acetylcholine and glutamic acid are important substances that carries out this neural transmission.

Organophosphorous pesticides block acetylcholinesterase(hydrolytic enzyme of acetylcholine) and make the neural transmission stay on. It has the same effect as dangerous toxic nerve gas such as the Sarin.

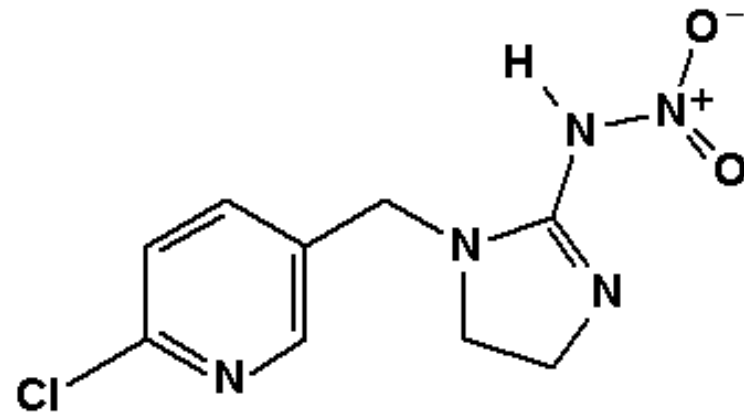
Neonicotinoids bind with acetylcholine receptors, and become "false-neurotransmitters", where neural transmission switch will turn on even if there is no acetylcholine present.

Illustration: Saori Yasutomi

Imidacloprid is een **zwakke agonist** met een **hoge affiniteit** voor nicotinerge acetylcholine receptoren in het centrale zenuwstelsel van de mens

P. Li, J. Ann, G. Akk, Journal of Neuroscience Research, artikel online gepubliceerd op: 28 APR 2011

- The $\alpha 4\beta 2$ receptor forms most of the high-affinity nicotine binding sites in the brain.
- Our data suggest that imidacloprid is a low-efficacy but high-affinity agonist of the human $\alpha 4\beta 2$ receptor. Coapplication of imidacloprid strongly inhibited currents elicited by ACh.
- The inhibitory effect was especially noticeable at lower transmitter concentrations, i.e., conditions under which the $\alpha 4\beta 2$ receptors operate in vivo.
- The data thus suggest that imidacloprid-containing insecticides may have stronger side effects on humans.



Imidacloprid heeft na meerjarige toepassing een dodelijke werking op hexapoden, collembola, tripsen en kevers in de bodem

D.C. Peck (2009) Pedobiologia 52, 287-299

- A study was conducted over 3 years on an experimental home lawn to detect, measure and contrast the effects of white grub control products on the abundance of soil-active arthropods.
- A consistent short-term effect due to individual applications was not detected. But the cumulative results of three consecutive yearly applications to the same field plots showed that imidacloprid suppressed numbers of total hexapods, Collembola, Thysanoptera and Coleoptera adults by 54-62%.
- Trichlorfon, halofenozide, sulfur and nematodes had no discernible impact on the abundance of non-target arthropods as measured in this study.



Imidacloprid in de bodem is al na een week giftig voor regenwormen

N. Dittbrenner et al (2010) Ecotoxicology

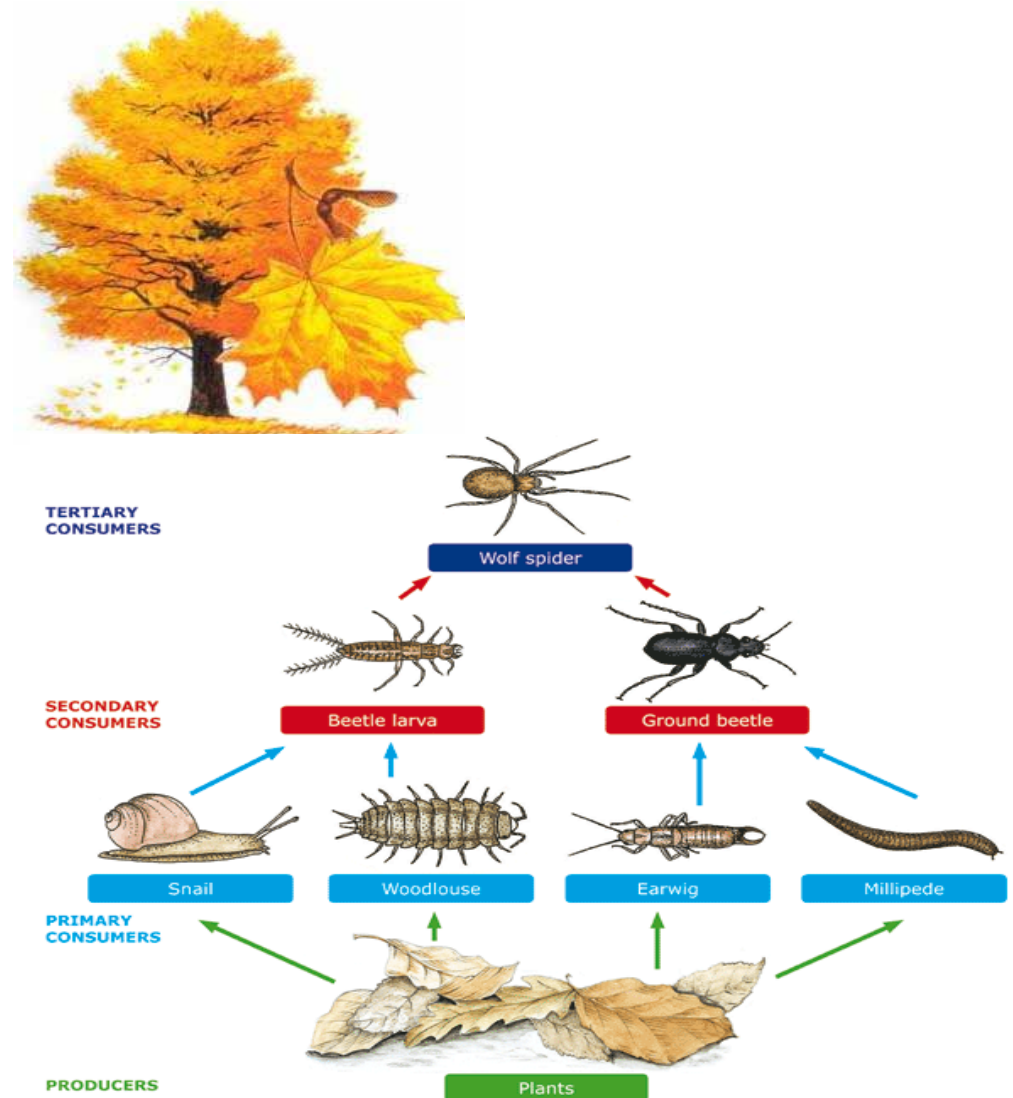
- In laboratory experiments we have assessed sub-lethal effects of imidacloprid on two earthworm species commonly found in different agricultural soils (*Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa*).
- After 7 days of exposure in contaminated soil, a significant loss of body mass was found in both species exposed to imidacloprid concentrations as low as 0.66 mg kg⁻¹ dry soil. These losses ranged from 18.3 to 39% for *A. caliginosa* and from 7.4 to 32.4% for *L. terrestris*, respectively.
- The detected sub-lethal effects were found close to the predicted environmental concentration (PEC) of imidacloprid, which is in the range of 0.33–0.66 mg kg⁻¹ dry soil.



Systemisch imidacloprid remt de afbraak van herfstloof door subletale werkingen op arthropoden

Kreutzweiser DP et al (2009) Ecotoxicology and Environmental Safety 72: 1053-1057

- Applications to deciduous trees result in foliar concentrations of imidacloprid that could pose a risk of harm to non-target decomposer invertebrates when autumn-shed leaves fall to forest floors or adjacent water bodies
- Our results indicate that imidacloprid at realistic concentrations in leaves can inhibit leaf litter breakdown through adverse sub-lethal effects on decomposer invertebrates



Het inzaaien van met neonicotinoiden behandeld maiszaad veroorzaakt bijensterfte

- The corn sowing posed a significant threat to honeybees, with thiamethoxam being the most probable toxic agent.

P. Tremolada et al (2010) Field Trial for Evaluating the Effects on Honeybees of Corn Sown Using Cruiser® and Celest xl® Treated Seeds. Bull Env Contam Toxicol 85, 229-234

- Collected data indicate that the higher number of bee losses events occurred in intensively cultivated flat areas, located in the North of Italy, mainly during or after corn sowing. The chemical analyses of dead bees revealed the presence of three neonicotinoid residues.

L. Bortolotti et al. Spring honey bee losses in Italy.

In: Hazards of pesticides to bees – 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group, Julius-Kühn-Archiv 423, 2009

- In late April and early May 2008 a bee mortality occurred in parts of South-West Germany, which affected approximately 12,000 colonies of bees, Very soon, maize seeds which had been treated with the insecticidal substance clothianidin were suspected as a possible cause. Only two weeks later a clothianidin poisoning was confirmed.

R. Forster. Bee poisoning caused by insecticidal seed treatment of maize in Germany in 2008. In: Hazards of pesticides to bees – 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group, Julius-Kühn-Archiv 423, 2009

Het inzetten van deflectoren op maïszaamachines blijkt in Oostenrijk bijensterfte niet te kunnen verhinderen

- Es ist jedes Jahr das gleiche Trauerspiel: Nach dem Ausbringen von insektizid-gebeiztem Mais- und Kürbissaatgut melden die umliegenden steirischen Imker Bienensterben. So auch heuer wieder. Einmal mehr sind vor allem die östlichen Bezirke betroffen, Schadensmeldungen kommen aber auch aus Ober- und Niederösterreich.



GLOBAL 2000: Bienenschäden durch chemisch behandeltes
Mais-Saatgut nun schon das dritte Jahr! (mei 2010)

De schadelijke werking van systemische neonicotinoiden op niet-doelwit insecten

R. A. Cloyd and J. A. Bethke (2011) Pest Management Science 67, 3-9

- Systemische neonicotinoiden zijn schadelijk voor niet-doelwit insecten (inclusief natuurlijke vijanden, die bij biologische bestrijding worden ingezet, zoals roofinsecten en parasitoiden) wanneer deze:



(1) zich voeden met stuifmeel, nectar of plant weefsel dat verontreinigd is met het werkzame bestanddeel;

(2) het werkzame bestanddeel consumeren via plant vochten;

(3) zich voeden met prooi die bladeren heeft geconsumeerd die verontreinigd waren met het werkzame bestanddeel.



Guttatiewater van jonge maisplanten (uit zaad behandeld met neonicotinoiden) is dodelijk voor bijen

A Tapparo et al (2011) J. Environ. Monit

- The researchers show that concentrations of neonicotinoids present in drops collected from the leaves of corn plants are high enough to kill bees within a few minutes.
- Although Tapparo doesn't think the mechanism they identify is the primary cause - noting that bee decline is probably due to many different factors - he says it can't be ignored. 'It must not be neglected that bees can be exposed to high doses of insecticides,' he says.



Systemisch imidacloprid is dodelijk voor de parasitoïde *Anagyrus pseudococci*

Krischik VA et al (2007) Environ. Entomol. 36(5): 1238-1245

Behavior was altered and survivorship was reduced when parasitoids, *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae), were fed flowers from buckwheat, *Fagopyrum esculentum* L. (Polygonaceae), treated with soil applications of imidacloprid (Marathon 1% G).



Parasitoids at 1 d had significantly reduced survivorship of $38 \pm 6.7\%$ on label rate and $17 \pm 4.2\%$ on twice label rate compared with $98 \pm 1.2\%$ on untreated flowers.

Parasitoids trembled 88% on label rate and 94% on twice label rate compared with 0% on untreated flowers.

Het voeden van het zwervend lieveheersbeestje met bladluizen die op (met imidacloprid) systemisch behandelde tuinbonen waren gekweekt had een nadelige werking op ontwikkeling, levensverwachting en vruchtbaarheid

D. P. Papachristos et al (2008) Biological Control 47(1): 77-81

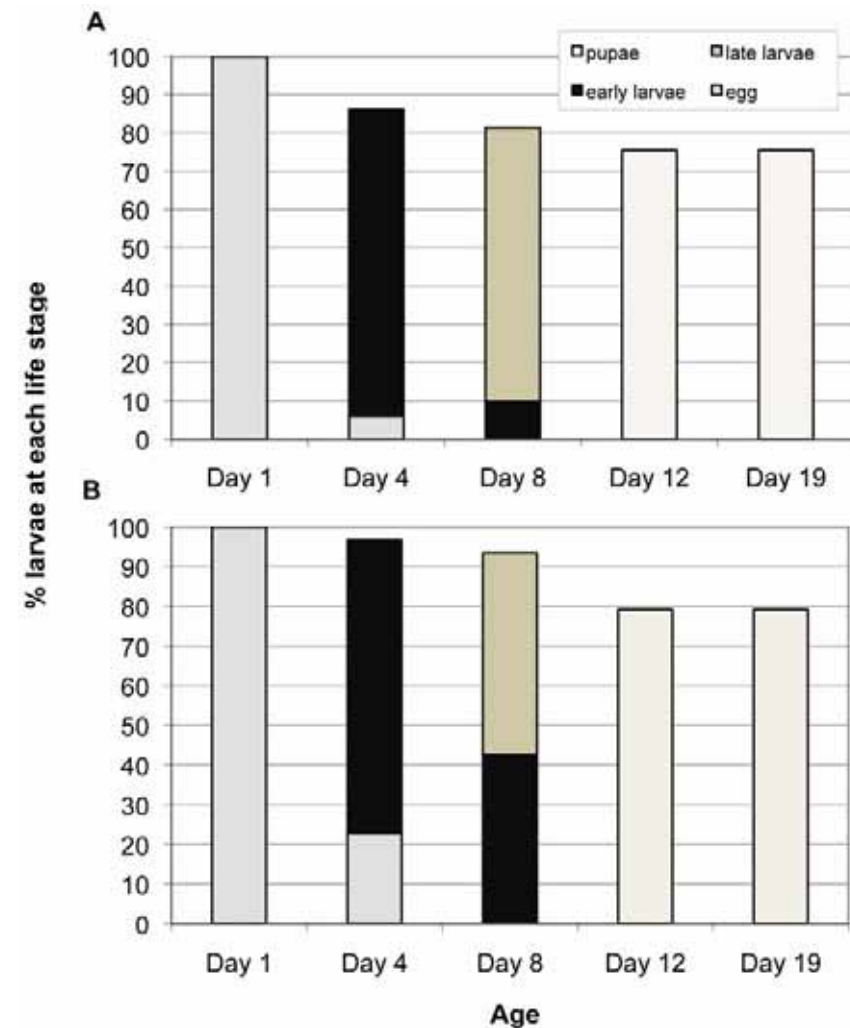
- We studied, under laboratory conditions, the possible effects of sublethal doses of soil-applied imidacloprid on development, survival and fecundity of the predator *Hippodamia undecimnotata*.
- For studies, predator fed upon *Aphis fabae* that was reared on *Vicia faba* plants treated with systemic imidacloprid.
- Survival of immature stages in insecticide treatment (52.2%) was lower than control (77.4%).
- Adult average longevity was significantly higher for the control than the insecticide treatment.
- Moreover, females oviposited fewer eggs in insecticide treatment than the control (33% reduction in average fecundity for imidacloprid).



Vertraagde ontwikkeling van werksterbijen door blootstelling aan neonicotinoiden (verhoogt de vruchtbaarheid van de Varroa mijt)

Wu JY et al. (2011) Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker HoneyBee (*Apis mellifera*) Development and Longevity. PLoS ONE 6(2): e14720

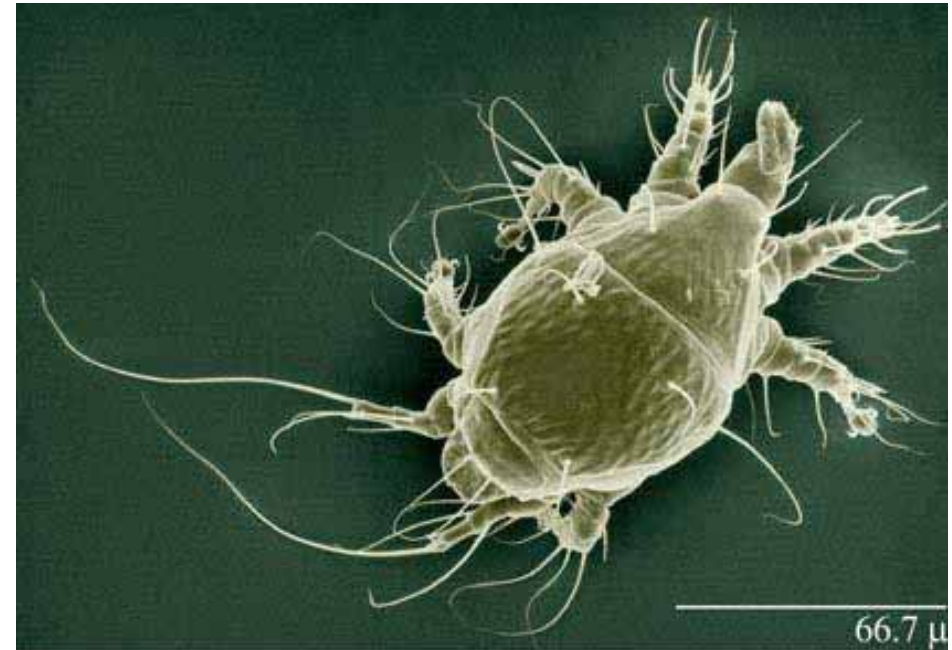
- Delayed development occurred in bees reared in treatment comb containing 17 different pesticides, including 9 systemic compounds and 5 neonicotinoid insecticides (clothianidin, dinotefuran, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam), particularly in the early stages (day 4 and 8) of worker bee development
- Delayed adult emergence may provide a reproductive advantage for a gravid foundress Varroa mite invading a cell occupied by a developing bee larva and laying four eggs in 30 hour intervals. The first egg results in a male, with subsequent eggs developing into multiple daughter mites.
- With delayed adult bee emergence the likelihood that the third daughter mite will successfully reach maturity and mate increases.



Imidacloprid verzwakt de weerstand van een bijenvolk tegen pathogene organismen

Cédric Alaux et al. Environ Microbiol. 2010 March; 12(3): 774–782

- We demonstrated that the interaction between the microsporidia *Nosema* and a neonicotinoid (imidacloprid) significantly weakened honeybees.
- This provides the first evidences that interaction between an infectious organism and a chemical can also threaten pollinators

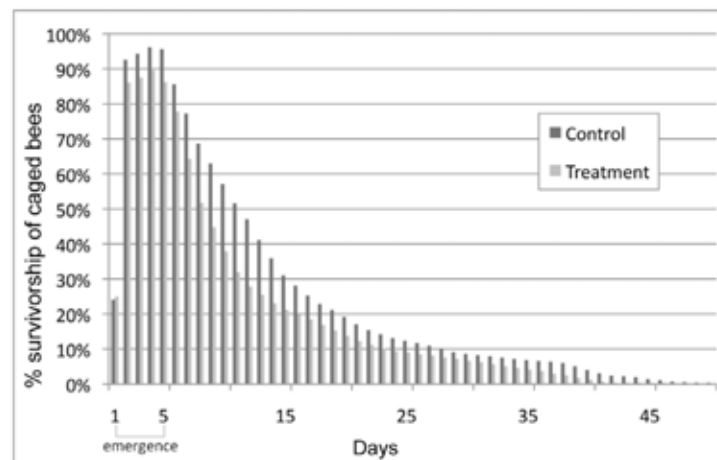


Neonicotinoiden kunnen de levensverwachting van bijen verkorten

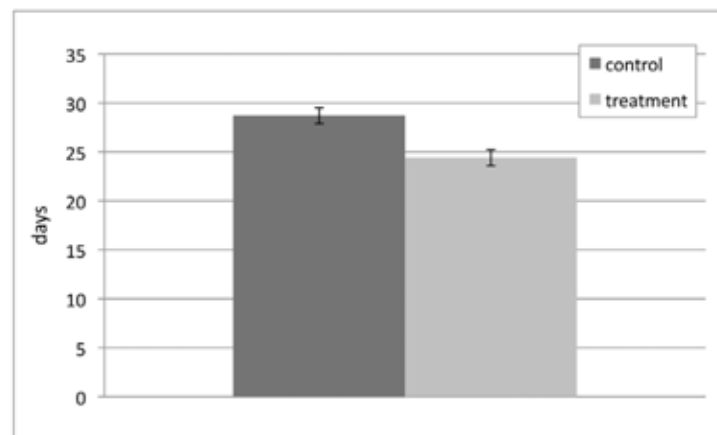
Wu JY et al. (2011) Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker HoneyBee (*Apis mellifera*) Development and Longevity. PLoS ONE 6(2): e14720

- Adult longevity was reduced by 4 days in bees exposed to residues of neonicotinoids in contaminated brood comb during development.
- Combined effects from honey bee exposure to neonicotinoid residue in brood comb, such as reduced adult longevity, increased brood mortality, higher fecundity of *Varroa* mites (due to delayed development and emergence of adult bees) and increased susceptibility to pathogens, may contribute to reduced honey bee colony health.

A



B



Subletale doseringen van imidacloprid kunnen een negatieve werking hebben op het foerageren en navigatievermogen van haalsterbijen

E. C. Yang et al (2008) Journal of Economic Entomology 101(6):1743-1748.

- The foraging behavior of the honey bee workers was investigated to show the effects of imidacloprid.
- When bees were treated with an imidacloprid concentration higher than 1,200 $\mu\text{g/liter}$, they showed abnormalities in revisiting the feeding site.
- Some of them went missing, and some were present again at the feeding site the next day. Returning bees also showed delay in their return trips.
- Our results demonstrated that sublethal dosages of imidacloprid were able to affect foraging behavior of honey bees.



Een recente meta-analyse van 14 laboratorium- en semi-veldstudies toonde aan dat sporen van imidacloprid in de nectar de prestaties van bijen verminderen

James E. Cresswell, *Ecotoxicology* (2010)

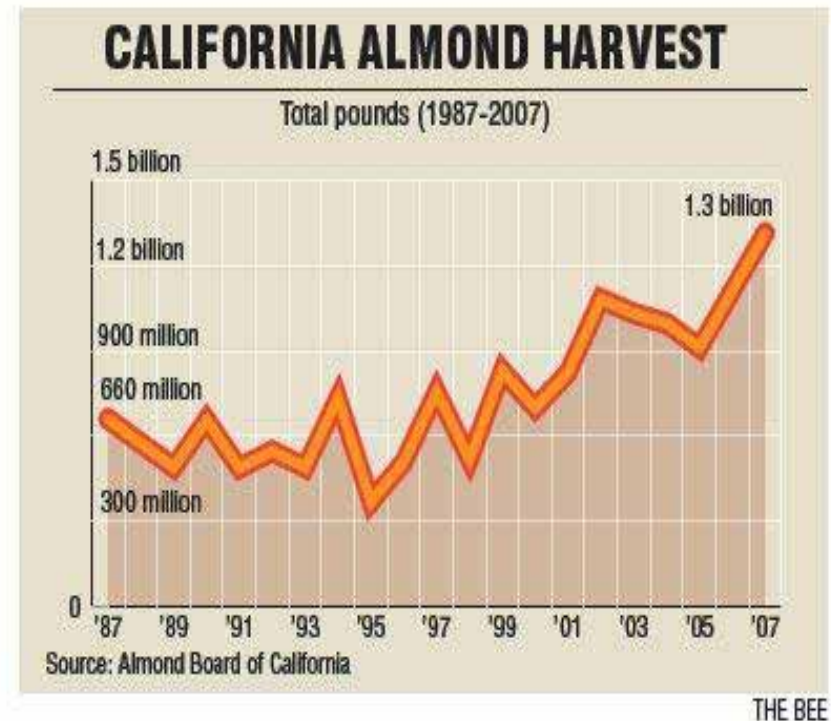
- In a meta-analysis of fourteen published studies of the effects of imidacloprid on honey bees under laboratory and semi-field conditions that comprised measurements on 7073 adult individuals and 36 colonies, fitted dose–response relationships estimate that trace dietary imidacloprid at field-realistic levels in nectar will have no lethal effects, but will reduce expected performance in honey bees by between 6 and 20%.



De verhoogde bijensterfte brengt de globale voedselproductie in gevaar

Rabobank Industry Note 252-2011: Why the Loss of Honey Bee Colonies May Sting Global Agriculture

- De landbouw in de Verenigde Staten loopt een groot risico. Terwijl de productie van bestuivingsafhankelijke gewassen sinds 1961 is verviervoudigd, is het aantal bijenvolken gehalveerd. Het gemiddelde aantal bijenvolken per bestuivings-afhankelijke hectare landbouwgrond is met bijna 90% gedaald.
- Deze ontwikkeling illustreert het groeiende inherente risico van bijenvolksterfte omdat het gemiddelde bijenvolk verantwoordelijk is voor een steeds grotere bestuivingstaak.



Conclusies I

Het werkingsmechanisme van neonicotinoïde insecticiden

- Het werkingsmechanisme van neonicotinoïde insecticiden berust op een nagenoeg onomkeerbare blokkade van post-synaptische nicotinerge acetylcholine receptoren (nAChRs) in het centrale zenuwstelsel.
- Imidacloprid is een zwakke agonist in de mens en een sterke agonist bij insecten.
- De toxiciteit van imidacloprid en thiacloprid voor arthropoden wordt versterkt door de blootstellingstijd. Ook bij bijen is dit het geval.
- De dosis-werkings-relaties zijn hetzelfde als die van carcinogenen waarvoor een veilig blootstellingsniveau niet definieerbaar is. Het is dus maar zeer de vraag of er wel een veilig blootstellingsniveau van neonicotinoiden voor niet-doelwit arthropoden is.
- Deze vraag is ook relevant omdat vrijwel iedere toepassing van imidacloprid in Nederland grond- en oppervlaktewaterverontreiniging veroorzaakt waardoor wilde planten (en daarmee ook niet-doelwit insecten) ongewild worden blootgesteld aan imidacloprid.

Conclusies II

De toxiciteit van neonicotinoiden voor arthropoden

- Imidacloprid heeft na meerjarige toepassing een dodelijke werking op arthropoden in de bodem. Imidacloprid in de bodem is schadelijk voor niet-doelwit insecten die ingezet worden voor biologische bestrijding. Imidacloprid in de bodem is al na een week giftig voor regenwormen.
- Met neonicotinoiden behandeld maiszaad veroorzaakt bij het inzaaien bijensterfte, die in Oostenrijk door het inzetten van deflectoren op maïszaamachines niet kon worden verhinderd.
- Imidacloprid verzwakt en vermindert de prestaties van een bijenvolk en maakt het gevoeliger voor parasieten. Er zijn aanwijzingen dat neonicotinoiden de ontwikkeling van werksterbijen kunnen vertragen (en daarmee de vruchtbaarheid van de Varroa mijt verhogen) en de levensverwachting van bijen kunnen verkorten. Subletale doseringen van imidacloprid kunnen een negatieve werking hebben op het navigatievermogen en foerageren van haalsterbijen.
- **Samengevat zijn er overduidelijke aanwijzingen dat chronische blootstelling van bijenvolken aan neonicotinoïden betrokken is bij de sinds enkele jaren verhoogde bijensterfte, die een bedreiging vormt voor de globale voedselproductie.**

Het toelatingsbeleid van neonicotinoiden verzuimt bijenvolken te beschermen

- Het werkingsmechanisme, de dosis-werkingsrelatie en fundamenteel onderzoek leveren overduidelijke aanwijzingen dat neonicotinoiden in onvoorstelbaar geringe hoeveelheden op de lange termijn o.a. een ongewenste schadelijke werking op een voor het ecosysteem cruciaal organisme hebben
- Met het oog op de onrustwekkende bijensterfte van de laatste jaren zou het nu toch voor de hand liggen maatregelen te nemen om chronische blootstelling van bijen aan welke hoeveelheid neonicotinoiden dan ook onder alle omstandigheden te verhinderen om zodoende risico's te minimaliseren
- Maatregelen worden echter tot op heden afhankelijk gemaakt van onomstotelijk bewijs voor een causaal verband tussen het gebruik van neonicotinoiden en bijensterfte (dat bijna niet te leveren is)

