

Toksikološka analiza ostataka pesticida u uzorcima Apis mellifera carnica (Pollman, 1879) multirezidualnom metodom

Kostanjski, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:975389>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**TOKSIKOLOŠKA ANALIZA OSTATAKA PESTICIDA U
UZORCIMA *Apis mellifera carnica* (Pollman, 1879)
MULTIREZIDUALNOM METODOM**

ZAVRŠNI RAD

Nikolina Kostanjski

Zagreb, srpanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Preddiplomski studij:
Fitomedicina

**TOKSIKOLOŠKA ANALIZA OSTATAKA PESTICIDA U
UZORCIMA *Apis mellifera carnica* (Pollman, 1879)
MULTIREZIDUALNOM METODOM**

ZAVRŠNI RAD

Nikolina Kostanjski

Mentor: dr. sc. Helena Virić Gašparić

Zagreb, srpanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Nikolina Kostanjski**, JMBAG 0178128426, izjavljujem da sam samostalno izradila završni rad pod naslovom:

**TOKSIKOLOŠKA ANALIZA OSTATAKA PESTICIDA U UZORCIMA *Apis mellifera carnica*
(Pollman, 1879) MULTIREZIDUALNOM METODOM**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga završnog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga završnog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI ZAVRŠNOG RADA

Završni rad studentice **Nikoline Kostanjski**, JMBAG 0178128426, naslova

**TOKSIKOLOŠKA ANALIZA OSTATAKA PESTICIDA U UZORCIMA *Apis mellifera carnica*
(Pollman, 1879) MULTIREZIDUALNOM METODOM**

mentor je ocijenio ocjenom _____.

Završni rad obranjen je dana _____ pred povjerenstvom koje je prezentaciju
ocijenilo ocjenom _____, te je student/ica postigao/la ukupnu ocjenu¹ _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. dr. sc. Helena Virić Gašparić, mentorica _____
2. izv. prof. dr. sc. Darija Lemić, članica _____
3. _____ član _____

¹ Ocjenju završnog rada čine ocjena rada koju daje mentor (2/3 ocjene) i prosječna ocjena prezentacije koju daju članovi povjerenstva (1/3 ocjene).

Zahvala

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Helena Virić Gašparić na usmjeravanju, vođenju i velikoj pomoći prilikom pisanja završnog rada što je omogućilo uspješan završetak preddiplomskog studija.

Sadržaj

1.	Uvod	1
1.1.	Cilj rada	2
2.	Pregled literature	3
2.1.	Povijest pčelarstva	3
2.2.	Pčelarstvo na području Republike Hrvatske	3
2.3.	Siva pčela, <i>Apis mellifera carnica</i> Pollmann, 1879.	4
2.3.1.	Sistematika sive pčele	4
2.3.2.	Rasprostranjenost sive pčele.....	5
2.3.3.	Morfologija sive pčele	5
2.3.4.	Biološke osobine sive pčele.....	10
2.3.5.	Važnost medonosne pčele	11
2.3.6.	Antropogen utjecaj na pčele	11
2.4.	Kolaps pčelinje zajednice (CCD – colony collapse disorder).....	12
2.4.1.	Uzroci kolapsa pčelinje zajednice	12
2.5.	Izloženost pesticidima	13
2.6.	Slučajevi pomora pčela u Republici Hrvatskoj	14
2.7.	Multirezidualna metoda	16
3.	Materijali i metode	18
3.1.	Lokalitet istraživanja	18
3.2.	Prikupljanje uzorka i način rada	18
3.3.	Analiza uzorka multirezidualnom metodom	19
4.	Rezultati.....	21
5.	Rasprrava	22
6.	Zaključak	26
7.	Popis literature	27
8.	Prilog.....	33
	Životopis	38

Sažetak

Završnog rada studentice **Nikoline Kostanjski**, naslova

TOKSIKOLOŠKA ANALIZA OSTATAKA PESTICIDA U UZORCIMA *Apis mellifera carnica* (Pollman, 1879) MULTIREZIDUALNOM METODOM

Siva pčela (*Apis mellifera carnica*) zbog svojih bioloških i proizvodnih osobina smatra se optimalnom pasminom pčela za suvremeno pčelarstvo. Zadnjih godina učestalost pomora pčela je sve veći. Navode se brojni razlozi kolapsa pčelinjih zajednica, a jedan od razloga je raširena uporaba insekticida u poljoprivredi, šumarstvu i komunalnoj higijeni. Cilj rada je utvrditi toksikološke razlike između živih i uginulih pčela s područja gdje je zabilježen masovni pomor. U istraživanju je korištena LC-MS/MS metoda kako bi se utvrdile toksikološke razlike između živih i uginulih uzoraka pčela dobivenih s područja Međimurske županije, u naselju Vučetinec, gdje je 2023. godine zabilježen masovni pomor ove vrste. Uzroci uginulih pčela nasumce su prikupljeni iz najveće skupine otrovanih pčela, dok su uzorci živih pčela uzeti iz iste košnice na području masovnog pomora. Korištena je multirezidualna metoda za određivanje ostataka pesticida plinskom i tekućinskom kromatografijom. Analiza ostataka pesticida pokazala je značajne razlike u koncentracijama određenih tvari između uginulih i živih pčela. Kumafos je u uginulim pčelama bio prisutan u koncentraciji od 0,095 mg/kg, dok je u živim bio ispod granice detekcije. Fipronil je također bio prisutan u oba uzorka, ali u većoj koncentraciji kod uginulih (0,064 mg/kg) nego kod živih pčela (0,010 mg/kg). Difenkonazol je pronađen samo u uginulim pčelama (0,012 mg/kg). Ostali pesticidi bili su ispod granica detekcije. Ovo istraživanje ističe potrebu za boljom komunikacijom između poljoprivrednika koji koriste pesticide i pčelara. Pravovremena razmjena informacija o tretmanima pesticidima omogućava pčelarima da zaštite pčele prilagodbom aktivnosti ili premeštanjem košnica. Nedostatak komunikacije može dovesti do neželjenog izlaganja pčela pesticidima i ugroziti njihov opstanak i zdravlje, što naglašava potrebu za boljim sustavima obavještavanja i suradnje u poljoprivredi.

Ključne riječi: *Apis mellifera carnica*, LC-MS/MS metoda, pesticidi, pčelarstvo

Summary

Of the final work - student **Nikolina Kostanjski**, entitled

TOXICOLOGICAL ANALYSIS OF PESTICIDE RESIDUES IN SAMPLES OF *Apis mellifera carnica* (Pollman, 1879) BY MULTIRESIDUAL METHOD

The gray bee (*Apis mellifera carnica*) is considered the optimal bee breed for modern beekeeping due to its biological and production characteristics. In recent years, the frequency of bee deaths has been increasing. There are many reasons for the collapse of bee colonies, and one of the reasons is the widespread use of insecticides in agriculture, forestry and communal hygiene. The aim of the work is to determine the toxicological differences between live and dead bees from the area where mass destruction was recorded. In the research, the LC-MS/MS method was used to determine the toxicological differences between live and dead bee samples obtained from the area of Međimurje County, in the settlement of Vučetinec, where a mass extinction of this species was recorded in 2023. The causes of dead bees were randomly collected from the largest group of poisoned bees, while samples of live bees were taken from the same hive in the area of the mass pest. The multiresidue method was used to determine pesticide residues by gas and liquid chromatography. The analysis of pesticide residues showed significant differences in the concentrations of certain substances between dead and alive bees. Coumaphos was present in dead bees at a concentration of 0.095 mg/kg, while in living bees it was below the detection limit. Fipronil was also present in both samples, but in a higher concentration in dead bees (0,064 mg/kg) than in live bees (0,010 mg/kg). Difenoconazole was found only in dead bees (0,012 mg/kg). Other pesticides were below detection limits. This research highlights the need for better communication between farmers who use pesticides and beekeepers. Timely exchange of information about pesticide treatments enables beekeepers to protect bees by adjusting activities or moving hives. Lack of communication can lead to unwanted exposure of bees to pesticides and threaten their survival and health, which highlights the need for better information and cooperation systems in agriculture.

Keywords: *Apis mellifera carnica*, LC-MS/MS method, pesticides, beekeeping

1. Uvod

Priroda je dom velikom broju kukaca bez kojih život nije zamisliv. Među njima su posebno važni kukci oprašivači, s pčelama kao najpoznatijima. Iako postoje već oko 110 milijuna godina, čovjek je tek prije nekoliko tisuća godina počeo shvaćati i koristiti njihove brojne koristi. Pčele su odgovorne za više od jedne trećine hrane koju konzumiramo. Primarni faktor koji utječe na plodnost biljne vrste je oprašivanje. Budući da je 80 % biljaka u divljini entomofilno, potrebni su im kukci za oprašivanje, mnoge biljne vrste ovise o pčelama i drugim oprašivačima kako bi preživjele. Pčelama je pelud neophodan ne samo za oprašivanje već i za vlastiti rast, ishranu legla, formiranje zimskog masnog tijela, izlučivanje voska i sintezu pčelinjeg otrova (Laktić i Šekulja, 2008.).

Oprašivači su danas ugroženiji nego ikad. Postoji nekoliko razloga za smanjenje njihove populacije, ali gotovo svi su povezani s ljudskom aktivnošću. Oprašivači, posebno oni u prirodi, na rubu su izumiranja zbog onečišćenja okoliša, devastacije prirodnih staništa, krčenja šuma te pretjerane i neoprezne uporabe pesticida. Zbog toga se danas sve češće poduzimaju mjere radi njihovog očuvanja. To uključuje izgradnju domova ili osiguravanje zemljišta i resursa za njihovu izgradnju, kao i educiranje poljoprivrednika o vrijednosti oprašivača, njihovom očuvanju i nezamjenjivoj ulozi u poljoprivredi.

Suvremena poljoprivredna praksa često uključuje uporabu sredstava za zaštitu bilja (SZB) kako bi se spriječili napadi štetnih organizama. SZB su kemijski spojevi koji mogu selektivno suzbiti štetne organizme; ipak, zbog njihovog negativnog utjecaja na biološke sustave i neciljane organizme, njihova je toksičnost temeljito proučavana (Abdollahi i sur., 2004.; Lushchak i sur., 2018.). SZB se mogu kategorizirati u više skupina na temelju njihove namjene; međutim, bilo da se radi o herbicidima, insekticidima, fungicidima ili sredstvima za ostale namjene, njihova kontinuirana uporaba zagađuje prirodne ekosustave, uključujući tlo, zrak, podzemne, površinske i izvorske vode, kao i biljni i životinjski svijet.

Upravo se prekomjerna i nestručna uporaba SBZ pesticida pripisuje se sve većem broju gubitaka pčelinjih zajednica diljem svijeta, uz ostale uzroke smrti s kojima se pčele suočavaju (bolesti, nedostatak prirodne hrane, uništavanje prirodnih staništa) (Johnson i sur., 2010.; Potts i sur., 2010.). Pčelari se suočavaju sa sve većim brojem uginulih pčela, pri čemu im jedino preostaje prebrojati preživjele zajednice. Samo u Hrvatskoj je prošle godine stradala trećina svih zabilježenih pčela. Poljoprivrednici često tretiraju biljke insekticidima u proljeće, što uzrokuje pomor zajednica na širim područjima. Ovaj problem se sve više širi diljem Europske unije (Morski.hr, 2024.).

1.1. Cilj rada

Cilj rada je LC-MS/MS metodom utvrditi toksikološke razlike između uzoraka živih i uginulih pčela *Apis mellifera carnica* (Pollman, 1879) prikupljenih s područja Međimurja gdje je tijekom 2023. godine zabilježen masovni pomor ove vrste.

2. Pregled literature

2.1. Povijest pčelarstva

Fosili i prapovijesna otkrića govore da su pčele letjele i opravljivale biljke na Zemlji još prije 300 milijuna godina. To nam ukazuje na dugotrajnu evolucijsku povezanost između pčela i biljaka, koja je ključna za održavanje ekosustava. Pčele, kao opravivači, igraju vitalnu ulogu u reprodukciji mnogih biljnih vrsta, što doprinosi bioraznolikosti i stabilnosti prirodnih staništa.

Jedan od najranijih ljudskih pothvata je pčelarstvo. Odnos između pčela i ljudi datira još od prije 20 000 godina; primjeri za to mogu se naći na kamenim liticama prapovijesnih španjolskih špilja. Na tim crtežima, ljudi su prikazani kako skupljaju med iz divljih pčelinjih gnijezda, što nam govori o važnosti meda i pčelinjih proizvoda u njihovom svakodnevnom životu. Med se koristio ne samo kao hrana, već i u ritualima i medicinskim tretmanima.

U pretpovijesnim društvima med se smatrao hranom bogova, a pčele su bile visoko cijenjene zbog njegove proizvodnje. "Tko jede med, živjet će duže," tvrdnja je izrečena u drevnim indijskim rukopisima od prije čak 4000 godina. Ova izjava odražava vjerovanje da med ima ljekovita svojstva i može produžiti život. Med kao glavni pčelinji proizvod bio je uvijek simbol bogatstva, besmrtnosti i ponovnog rođenja. Njegova uporaba u raznim obredima i ceremonijama potvrđuje njegovu važnost u drevnim kulturama.

Med se također povezuje s muževnošću, plodnošću i općom snagom, te mu se pripisuju afrodizijačka svojstva. Ova svojstva meda bila su cijenjena u mnogim kulturama, gdje se vjerovalo da konzumacija meda može poboljšati vitalnost i seksualnu energiju. U gotovo svim kulturama, žene su koristile med u kozmetičke svrhe. Med je bio sastojak mnogih drevnih kozmetičkih preparata, koji su se koristili za njegu kože i kose. Njegova hidratantna i hranjiva svojstva čine ga i danas popularnim sastojkom u kozmetici.

Kroz povijest, med i pčelinji proizvodi su zauzimali posebno mjesto u ljudskom životu, ne samo kao hrana, već i kao lijek, simbol i ritualni predmet. Ova duga tradicija pčelarstva i korištenja pčelinjih proizvoda svjedoči o trajnoj vrijednosti i značaju pčela u ljudskoj civilizaciji (Belčić i Sulimanović, 1982.).

2.2. Pčelarstvo na području Republike Hrvatske

Pčelarstvo u krajeve današnje Republike Hrvatske donose Kelti 400 godina prije Krista. U doba Rimskog carstva spominje se najbolji med u Carstvu, med s otoka Šolte. Zanimljivo je da čak i danas zahvaljujući određenim čimbenicima imamo vrlo sličnu tržišnu pozicioniranost hrvatskog meda (Belčić i Sulimanović, 1982.).

Danas se hrvatsko pčelarstvo ubraja među naprednija pčelarstva u regiji i Europi, a niti u svjetskim razmjerima ne zaostajemo po tehnologiji. Godišnje se proizvede otprilike 8000 tona meda, u assortimanu od desetak vrsta monoflornih (sortnih) medova (Bučar, 2011.). Profesionalni pristup ovom zanimanju ovisi o samim pčelarima, pa je u Hrvatskoj samo u

proteklih pet godina broj pčelara porastao za 2000 te ih sada ima više od 9000, a broj pčelinjih zajednica povećao se za 110 000, te ih sada ima više od 460 000. Ukupna proizvodnja meda u 2022. godini iznosila je 9000 tona (Glas Slavonije, 2024.).

Prema Nedialkovu i sur. (1986.) količina izlučenog nektara ovisi o zemljopisnoj širini, nadmorskoj visini, meteorološkim prilikama (temperature, vjetar), gnojenju, navodnjavanju, te o sortama. Iskorištavanje medonosnog bilja odvija se u radiusu oko 2 – 3 kilometra od pčelinjaka, te da bi sakupile oko 1 kg meda pčele trebaju obići oko 1 milijun cvjetova lavande ili 4- 5 milijuna cvjetova metvice. Najčešća staništa u kojima se nalazi važno medonosno bilje su šume, livade i pašnjaci, voćnjaci, parkovi, oranice i vrtovi, dok su nešto manje bitna staništa obale rijeka, ledine i sušna mjesta.

Područje Republike Hrvatske bogato je raznim medonosnim biljem, kako livadnim, tako i šumskim. Raznolikost terena, klime i područja zaslužna je za stalnu pčelinju pašu, odnosno cvatnju bilja u različitim dobima godine. Same paše dijele se na one nektarne, te na mednu rosu ili medljikovac. Neke od najbitnijih godišnjih paša su: bagrem, lipa, kesten, ružmarin, lavanda, uljana repica itd. (Hrvatska enciklopedija, 2013. – 2024.).

Pčelari proizvode više od dvadeset vrsta meda dostatnog za domaće tržište, a dio se proizvoda i izvozi (Ministarstvo poljoprivrede, 2013.).

2.3. Siva pčela, *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879.

2.3.1. Sistematika sive pčele

Pčela pripada razredu Hexapoda – kukci, podrazredu Pterygota (krilati kukci), redu Hymenoptera (opnokrilci), podredu Apocrita (ubrajaju se u prirodne neprijatelje štetnika), porodici Apidae (pčele), te se ubraja u kukce s potpunom preobrazbom – holometabolija (ličinka je jako različita od imaga, a između ličinke i imaga postoji stadij kukuljice) (Maceljski, 1999.).

Carstvo: Animalia

Koljeno: Arthropoda

Razred: Insecta

Red: Hymenoptera

Podred: Apocrita

Natporodica: Apoidea

Porodica: Apidae

Potporodica: Apinae

Rod: *Apis*

Vrsta: *Apis mellifera*

Podvrsta: *Apis mellifera carnica*

2.3.2. Rasprostranjenost sive pčele

Siva pčela je podvrsta medonosne pčele koja prirodno nastanjuje (slika 2.3.2.) područje južno od Alpa, sjeverno od Italije te istočno od Slovenije prema Rumunjskoj (Engel, 1999.; Ruttner, 1988.), gdje su klimatske prilike karakteristične po dugim i oštrim zimama, te iznimno vrućim ljetima. Pod utjecajem različitih okolišnih i klimatskih uvjeta razvili su se na određenim područjima posebni tipovi sive pčele (ekotipovi), koji se međusobno ne razlikuju po vanjskim tjelesnim karakteristikama već samo po ponašanju. Osim navedenog, jedinstveni ekološki uvjeti ove lokacije utjecali su na formiranje tri različita ekotipa sivih pčela: gorski, panonski te mediteranski. Gorski ekotip je rasprostranjen na području Like i Gorskog kotara, odlikuje se mirnoćom, snažnijim nagonom za rojenjem, dobrom iskorištenošću pašnjaka i dobrim proljetnim razvojem. Panonski ekotip pronalazimo na području kontinentalne Hrvatske. U usporedbi s alpskom vrstom, roji se nešto slabije i proljetni razvoj započinje ranije. Mediteranski ekotip je na priobalnom i otočnom području. Proljetni je razvoj polaganiji, dosta se roji, nemirna je i više se zalijeće na povratku s pašnjaka u tuđe košnice. Leti nisko i pri skupljanju hrane pokriva manji prostor zbog slabijih vjetrova. U Republici Hrvatskoj, siva pčela je priznata kao autohtona podvrsta (pasmina) medonosne pčele i zakonski je zabranjen uvoz bilo koje druge podvrste (Uzgojni program sive pčele, 2019.).



Slika 2.3.2. Rasprostranjenost sive pčele

Izvor: <https://www.gbif.org/species/8391660>

2.3.3. Morfologija sive pčele

Medonosne pčele se ubrajaju u vrstu holometablnih kukaca, čiji životni ciklus prolazi kroz četiri razvojna stadija: jaje (*ovum*), ličinka (*larva*), kukuljica (*pupa*) i odrasli stadij (*imago*).

Tijelo pčele (slika 2.3.3.1.) člankovite je građe i podijeljeno je na tri glavna dijela koji su glava, prsa i zadak. Tijelo im je pokriveno hitinskim oklopom koji štiti unutarnje organe od vanjskih utjecaja i služi za učvršćivanje organa i mišića (Laktić i Šekulja, 2008.). Tijelo sive pčele je prekriveno kratkim dlačicama sive boje koje se nalaze na čitavom tijelu. Prema boji dlačica

i kutikule, siva pčela je dobila ime. Boja prstenova na abdomenu je najbolje vidljiv znak rasne pripadnosti pčela (Poklukar, 1999.), ali i jedan od najmanje pouzdanih (Ruttner, 1988.).



Slika 2.3.3.1. Medonosna pčela (*Apis mellifera carnica*)

Izvor: <http://pcelarskizurnal.blogspot.hr/2014/02/zbog-cega-pcele-jos-ukek-nisu-domace.html>

Članovi pčelinje zajednice (slika 2.3.3.2.) su: radilica, trut i matica. Razlikuju se po osnovnim karakteristikama kako je prikazano u Tablici 2.3.3. Osnovne karakteristike pasmine sive pčele.

Tablica 2.3.3. Osnovne karakteristike pasmine sive pčele

Karakteristika	Radilica	Trut	Matica
Masa / g	0,1	0,2	0,2
Duljina / mm	12 – 14	15 – 17	15 – 20
Duljina dlačica na 5. kolutiću / mm	0,25 – 0,35		
Duljina rila / mm	6,4 – 6,8		
Kubitalni indeks / mm	2,4 – 3,0	1,8 – 2,3	

Izvor: <https://pcelarstvo.hr/o-pcelama/apis-mellifera-carnica-karakteristike/?v=fd4c638da5f8>

Radilice su najbrojniji članovi pčelinje zajednice. Dugačke su od 12 do 13 mm, a teške 0,1 grama, tako da u jednom kilogramu ima oko 10 000 pčela. Sakupljaju nektar dugim rilom i pohranjuju do dolaska u košnicu gdje ga zatim prenose u sače sa zalihama hrane ili ga odmah koriste za prehranu drugih pčela koje su s njima u društvenoj interakciji. Na zadnjem paru nogu imaju korbikule, odnosno košarice za prikupljanje peludi. Žalac im je ponajprije namijenjen obrani od kukaca; ima završetak sličan udici, pa ga pčele ne mogu izvući iz kože ljudi, već pri pokušaju otkinu dio tijela i ugibaju ubrzo nakon uboda (Laktić i Šekulja, 2008.).

Tijelo matice dugačko je između 18 i 20 mm, što ga čini jednostavnim za prepoznavanje. Duljina zatka, koja varira ovisno o tome je li matica intenzivno rasla ili je u mirovanju te je li oplođena ili još nije. Maticama su stražnje noge duže i veće nego kod radilica, ali nemaju korbikulae za sakupljanje peluda, jer to tijekom života nikada i ne čine (Laktić i Šekulja, 2008.).

Mužjaci u pčelinjoj zajednici nazivaju se trutovi. Dužina tijela im je oko 15 mm, što znači da su dulji od radilice i kraći od matice. Vrlo se lako razlikuju već na prvi pogled od radilica. Ticala su im dulja, a na nogama nemaju korbikulae. Jezik im je prekratak da skupljaju nektar,

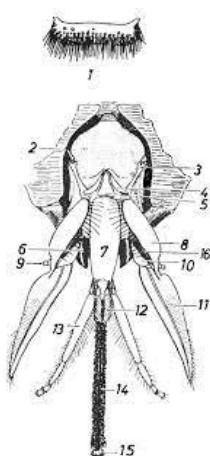
pa se hrane samo hranom koju su skupile radilice. Medni mjehur im je manji nego kod radilica, jer ga rabe samo za vlastitu prehranu. Trutovi nemaju žalac, već imaju razvijene muške spolne organe (Laktić i Šekulja, 2008.).



Slika 2.3.3.2. Članovi pčelinje zajednice

Izvor: <https://farmia.rs/blog/matica-njeno-pcelarsko-visocanstvo/>

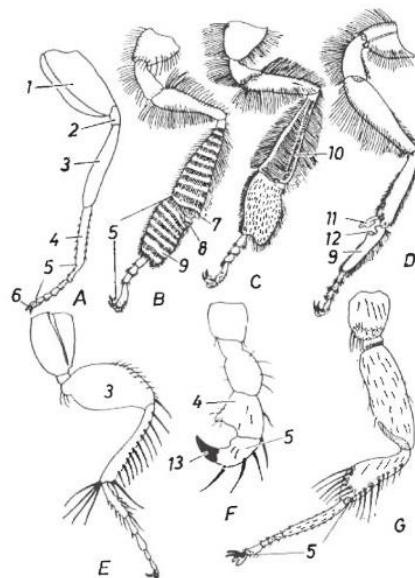
Usni ustroj (slika 2.3.3.3.) pčele je složen i specijaliziran za različite zadatke koje pčela obavlja, poput hranjenja, prikupljanja peludi i nektara, te komunikacije s drugim pčelama. Sastoje se od gornje i donje čeljusti, jezika i sisaljke te omogućuje prikupljanje, manipulaciju i konzumiranje hrane. To uključuje gornju usnu (Labrum), donju čeljust (Mandibulae), gornju čeljust (Maxillae), donju usnu (Labium) s Paraglossom, Glossom (jezikom) i labijalnim palama, hipofarinksom te proboscisom (sisaljkom), ključnom strukturom za hranjenje na cvjetovima. Pčele nektar posišu tako da ispruže jezik do kraja, te se pokretima stvara vakuum koji omogućuje pčelama da sakupe svu količinu nektara (Kezić i sur., 2014.).



Slika 2.3.3.3. Usni aparat medonosne pčele s ključnim anatomskim dijelovima prilagođenim za lizanje i sisanje cvjetnog nektara

Izvor: <https://veterina.com.hr/?p=83303>

Na prsima se nalaze tri para nogu, prednje, srednje i stražnje noge koje se nalaze na prvom, drugom i trećem kolutiću prsa. Nogu (slika 2.3.3.4.) čine kuk, bedreni valjak, bedro i goljenica na kojoj je pričvršćeno pet članaka stopala. Na prvom i drugom članku smještene su dlačice koje pčele koriste za čišćenje peludi, prašine i drugih čestica. Zatim se na prvom članku stopala prednjih nogu nalazi polukružno udubljenje za čišćenje ticala (Adjare, 1990.). Dalje se na stopalu nalaze dvije uvinute pandžice između kojih su smješteni jastučići za prianjanje. Pandžice služe za kretanje po hrapavim površinama, dok za kretanje po glatkim površinama služe jastučići. Svrha srednjih nogu je čišćenje tijela i skupljanje peluda. Stražnje noge su važne za skupljanje peluda, smolastih i balzamskih tvari poput propolisa. Na zadnjem paru člankovitih nogu pčela radilica se nalaze korbikule, poznatije kao košarice. Ove strukture služe za prikupljanje i transport peludi. Korbikule su posebno prilagođene za ovu svrhu, imaju dlake koje pomažu u držanju peludi dok pčela leti natrag do košnice. Peludne košarice prazne koristeći ostrugu koji se nalaze na prvom članku stopala (Kezić i sur., 2014.). Na količinu proizvedenog meda neizravno utječe veličina tibije stražnje noge. Prema Caleu (1968.) postoji odnos između količine sakupljenog polena i količine proizvedenog meda. Pčele s većom goljenicom mogu ponijeti više peluda te zajednica može uzgojiti više legla, te time i povećati prinos meda. Poklukar (1999.) je utvrdio da je prosječna površina tibije sive pčele iznosi $2,647 \text{ mm}^2$, a volumen peludnih kuglica kreće se od $1,54$ do $20,89 \text{ mm}^3$. To ukazuje da pčele s većom goljenicom imaju kapacitet za nositi više peluda.



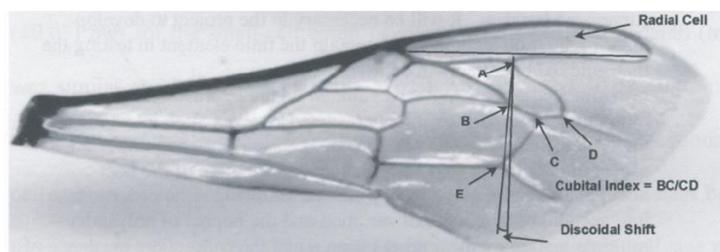
Slika 2.3.3.4. Noga medonosne pčele s ključnim anatomskim dijelovima (kotarica, gornji red, treća) prilagođenim za sakupljanje peludi

Izvor: <https://veterina.com.hr/?p=83303>

Pčele za let koriste dva para tankih prozirnih hitinskih krila koja su spojena s grudnim mišićima. Cijela nosiva struktura krila sastoji se od tankih hitinskih žilica koje mogu izdržati do jedne trećine njihove težine; sama krila nemaju mišića. Veličina stražnjeg krila je jedna trećina veličine prednjih. Tijekom mirovanja, krila su smještena uz tijelo u smjeru njegove dužine. Kada

pčela želi uzletjeti, pomakne krila u vodoravnom smjeru i međusobno ih spoji u jednu plohu pomoću hamalusa. Hamulus je posebna struktura na gornjoj prednjoj strani stražnjeg krila pčele, koja se zakvači u žlijebasti nabor na stražnjem rubu prednjeg krila. Krila se potom pokreću gore-dolje, uz lagane kružne kretnje koje omogućuje kontrakcija grudnih mišića (Belčić i sur., 1979.; Laktić i Šekulja, 2008.).

Kubitalni indeks (slika 2.3.3.5.) je odnos stranica A i B treće kubitalne stanice na prednjem krilu pčele radilice, a mjeri se na najmanje 100 krila pčela radilica i dobivene vrijednosti se razvrstavaju u 30 razreda. Kubitalni indeks ima presudnu ulogu u selekciji budući da daje informacije o čistoći pčelinje pasmine, omogućujući nam da razaznamo učinak drugih pčelinjih pasmina. Naročito se može uočiti utjecaj tamne europske pasmine pčela, čiji točni kubitalni indeks iznosi 1,7. Prema Gajgerovoj (2007.) analizi kubitalnog indeksa pčela u kontinentalnoj Hrvatskoj, vrijednost indeksa varirala je između 1,4 i 3,9, a samo 25,6 % pčela su pripadnici kranjske rase, dok preostalih 61,8 % pčela postoji u zoni gdje se preklapaju s drugim rasama.

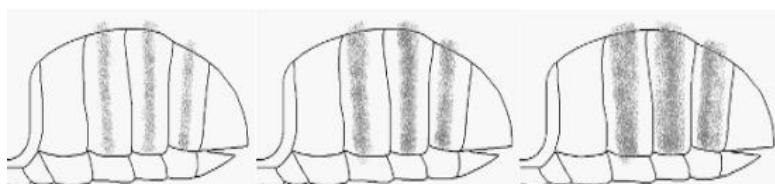


Slika 2.3.3.5. Kubitalni indeks

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/The-right-forewing-of-a-test-honeybee-showing-the-measurement-of-the-cubital-index-and_fig1_45687647

Boja kolutića na zatku je najbolji znak pasminske pripadnosti pčela. Leđni poluprstenovi sive pčele mogu biti crni, imati mrlje ili pjege sa strane, ili biti smeđe-crvenkasto-žuti. Kod sive pčele ocjenjuje se drugi i treći prsten, koji mogu imati crvenkasto-smeđe pjege i prstenove (Karlović, 2004.).

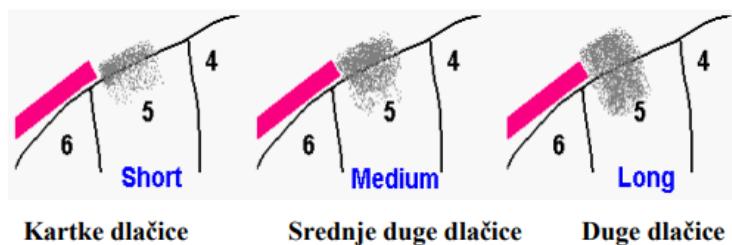
Širina tomentuma na četvrtom kolutiću zatka, odnosno prekrivenost dlačicama, jedan je od pomoćnih morfoloških markera za razlikovanje sivih i tamnih pčela. Ocjenjivanje se vrši pregledom pčela na saču, gdje se pčele raspoređuju u tri kategorije: s uskim, srednjim i širokim tomentumom. Ako je polje bez dlačica šire, pčela ima uski tomentum; ako su polja podjednake širine, tomentum je srednje širok; ako je obrasio polje oko dvije trećine širine terguma, tomentum je širok. Sive pčele obično imaju srednje širok ili širok tomentum, dok crne pčele imaju prvenstveno uzak (Karlović, 2004.).



Slika 2.3.3.6. Širina tomentuma na četvrtom prstenu

Izvor: http://www.pcelnjak.hr/.../images/.../pasminska_svojstva_i_karakteristike_pasmine_sive_pe

Jedna karakteristika koja izdvaja sivu pčelu od crne europske pčele je duljina dlačica na petom prstenu (slika 2.3.3.7.). Na temelju duljine dlačica na petom prstenu razlikujemo pčele s dugim, srednjim i kratkim dlačicama. Dužina dlačica tamne pčele je od 0,4 do 0,6 mm, dok je dužina dlačica sive pčele između 0,25 i 0,35 mm. Oko 2/3 sive pčele je s kratkim dlačicama, dok je kod tamne pčele slučaj obrnuto.



Slika 2.3.3.7. Duljina dlačica na petom kolutiću

Izvor: http://www.pcelnjak.hr/OLD/.../pasminska_svojstva_i_karakteristike_pasmine_sive_pele.do

2.3.4. Biološke osobine sive pčele

Većina poljoprivrednih kultura cvjeta samo ako su pčele prisutne u dovoljnem broju te za vrijeme cvatnje ostaju pri istom izvoru hrane, što ih čini pouzdanim opaćivačima. Istraživanja Lužaić i sur. (2008.) pokazala su da su na suncokretu (*Helianthus annuus* L.) u baranjskom agroekosustavu tijekom cvatnje suncokreta u 99,53 % slučajeva opaćivači bile medonosne pčele (*Apis mellifera* L.), bumbari (*Bombus spp.*) su utvrđeni u 0,32 % slučajeva, dok je cvjetna muha (*Volucella zonaria* Poda, 1761) primjećena u 0,15 % slučajeva.

Životni vijek pčela radilica varira ovisno o sezoni i intenzitetu rada. Dok u idealnim uvjetima pčele mogu živjeti do 45 dana, na nekim pašnjacima zbog umora mogu živjeti samo 30 dana. Takozvane zimske pčele imaju životni vijek šest mjeseci, a ponekad i duže. Duljina života obrnuto im je proporcionalna sa životnim aktivnostima. Matice se u normalnim okolnostima hrane matičnom mlječi, što im omogućuje da dnevno polažu više jaja nego što teže. Nakon izlijeganja nove matice, potrebno je nekoliko dana da se priviknu na novo okruženje. Nakon pet dana matica napravi prvi kratki orientacijski let, nakon čega uslijedi jedan ili više dužih oplodnih letova, tijekom kojih se matica pari s 10 do 20 trutova i napuni spermateku za cijeli život. U pravilu, matica treba obaviti samo jedan oplodni let ako su vremenski uvjeti optimalni, a tek ako bude sprječena u dostatnoj oplodnji zbog vremenskih prilika ili nedostatka trudova, izlazi na dodatne letove. Maksimalna dužina života matice iznosi pet godina. U komercijalnom pčelarenju matice se drže dulje od dvije godine. Preporučljivo je zamijeniti svake godine sve matice starije od dvije godine i 2/3 matice iz prethodne godine, pod pretpostavkom da su ostavljene samo izuzetno dobre matice. Jedini mužjaci u pčelinjoj zajednici su trutovi. Let im je sporiji i bučniji. Prosječno žive oko 50 dana. Zanimljivo je da postoje posebna mjesta, poznata kao "sakupljališta trutova", gdje se okupljaju svi trutovi iz okolice kako bi se natjecali za priliku parenja s maticom što je ključno za održavanje genetske raznolikosti unutar pčelinjih zajednica i osiguravanje zdravlja pčelinjeg roja. Na jesen, s prvim

hladnoćama pčele prestaju hraniti trutove i izbacuju ih iz košnice te oni tada ugibaju od gladi (Laktić i Šekulja, 2008.).

2.3.5. Važnost medonosne pčele

Ukupna vrijednost svih pčelinjih proizvoda je daleko manja od značaja i koristi od oprasivanja bilja (Ministarstvo poljoprivrede, 2023.). Dresura pčela je uobičajena metoda koja se koristi u uzgoju voća za oprasivanje određenih usjeva. Kako bi se oslobođio miris, cvjetovi određene biljke potapaju se u šećerni sirup cijelu noć. Pčele se ujutro prije izlaska iz košnice napajaju sa 100 mililitara sirupa, a tijekom dana traže nektar dotičnih biljaka. Unatoč tome, neke biljke imaju više ili manje privlačne cvjetove pčelama. Na primjer, manje atraktivni cvjetovi kruške zahtijevaju do pet zajednica po hektaru za oprasivanje, dok šljiva, jabuka ili trešnja zahtijevaju samo tri zajednice po hektaru. Za uspješno oprasivanje kruške, marelice, trešnje i kivija potrebno je u voćnjaku razmjestiti 16 košnica po hektaru. Pri oprasivanju suncokreta pomoću medonosne pčele prinos se može povećava do 30 %, a pri oprasivanju uljane repice prinos raste 15 – 20 % (Puškadija, 2000.).

2.3.6. Antropogen utjecaj na pčele

Antropogeni utjecaj odnosi se na promjene u prirodnom okolišu koje su rezultat ljudskih aktivnosti. To uključuje urbanizaciju, industrijalizaciju, poljoprivredne prakse, zagađenje i promjene u korištenju zemljišta. Ovi utjecaji često dovode do degradacije ekosustava i gubitka bioraznolikosti, što ima dalekosežne posljedice na oprasivače poput pčela (UNEP, 2010.).

Antropogeni utjecaji, poput izmijenjenog gospodarenja zemljištem, suvremenih poljoprivrednih praksi koje uključuju korištenje kemijskih metoda suzbijanja štetnih organizama te učinaka globalizacije, izravno su povezani s očuvanjem broja pčelinjih zajednica. Negativni primjeri uključuju širenje malog kornjaša košnice *Aethina tumida* (Murray, 1867.) iz Južne Afrike na Sjevernu Ameriku i grinje *Varroa destructor* (Anderson i Trueman, 2000.) iz srednje Azije, koja se u posljednjih 30 godina proširila na sve kontinente. Zbog varoe, pčele više ne mogu preživjeti u prirodi bez zaštite pčelara, što je ključno za očuvanje ekološke raznolikosti biljnih zajednica u šumama i livadama (Dražić, 2003.).

Antropogeni utjecaji stvaraju područja prilagođena ljudskim potrebama, što rezultira degradacijom i fragmentacijom prirodnih ekosustava. Jedan od glavnih uzroka smanjenja pčelinjih zajednica su ove promjene, koje smanjuju broj izvora hrane i raznolikost prehrane za pčele. Uništavanje staništa slabi razvoj pčelinjih zajednica i smanjuje njihovu sposobnost oprasivanja, što dodatno smanjuje broj biljnih vrsta.

Uzročnici pčelinjih bolesti također se mijenjaju i prilagođavaju, često prelazeći s jedne vrste na drugu, što mijenja kliničku sliku bolesti. Zagađenje zraka, vode i tla izravno utječe na brojnost i snagu pčelinjih zajednica te njihov oprasivački potencijal. Pčelinja hrana ovisi o

raznolikosti, dostupnosti i čistoći izvora hrane. Nedostatak hrane smanjuje potencijal razvoja zajednice, što rezultira slabim i neotpornim pčelinjim zajednicama (Frangen, 2019.).

Klimatske promjene utječu na kvalitetu, brojnost i rasprostranjenost biljnog pokrova, što će dovesti do značajnih promjena u kalendaru pčelarske sezone. Iskustvo i znanje pčelara bit će presudni za uspješnost sezone jer omogućuju predviđanje problema i pronalaženje rješenja koja će biti u korist pčela (Puškadija, 2011.).

Mnogi korovi i divlje cvijeće, prirodna staništa za oprasivače, iskorijenjeni su obradom zemlje, a uporaba sredstava za zaštitu bilja dramatično je porasla. To je dovelo do smanjenja broja oprasivača (Neumann, 2008.). S obzirom na sve veću učestalost problema s onečišćenjem vodotoka, reziduama pesticida i ispuštanjem gnojiva, voda je ključna za održavanje čistoće i zdravlja pčela (Frangen i sur., 2005.). Život pčela u velikoj mjeri ovisi o ljudskoj aktivnosti i njezinim učincima na okoliš i prirodne sustave.

2.4. Kolaps pčelinje zajednice (CCD – colony collapse disorder)

Kolaps pčelinje zajednice (CCD) je naziv za fenomen koji se nedavno pojavio kao najozbiljnija „bolest uginuća ili nestanka“ pčelinjih zajednica, pri kojem dolazi do iznenadne „smrti“ zajednice, uz nestanak odraslih pčela u košnici (slika 2.4.1.1.). Med i pelud su obično prisutni u košnicama kod kojih je došlo do kolapsa pčelinje zajednice, a povremeno može biti prisutna matica i nekoliko preživjelih pčela. Još jedna karakteristika je zakašnjeli početak grabežljivosti i sporija invazija uobičajenih štetnika poput voskovog moljca - veliki (*Galleria mellonella* L.) i mali (*Achroea grisella*) (Stanimirović i sur., 2009.).



Slika 2.4.1.1. Uginuće pčela

Izvor: <https://pcelarenje.com/poremećaj-kolapsa-kolonija-ccd/>

2.4.1. Uzroci kolapsa pčelinje zajednice

Prema Frangenu (2019.) najčešći uzroci CCD-a su:

- Prisustvo pesticida
- Nedostatak kvalitetne hrane (peluda i meda)
- Bakterijske infekcije (američka gnjiloća pčelinjeg legla)

- Gljivične infekcije (*Nosema ceranae* (Fries i sur., 1996.) i *Ascospshaera apis* L.S. Olive i Spiltoir, 1955.)
- Prisutnost grinje *Varroa destructor*
- Mješovite virusne infekcije pčelinjih zajednica
- Rezidue akaricida

Problem pesticida nastaje kada pčela posjeti tretiranu kulturu radi opršivanja i sa sobom ponese čestice pesticida u košnicu te ih djelomično koristi za svoje prehrambene potrebe, a dijelom pohranjuje kao zalihu. U istraživanju provedenom na Sveučilištu u Stirlingu (UK), pčele hranjene peludom i šećernim sirupom koji sadrži imidakloprid uspoređene su s pčelama hranjenim prirodnom hranom. Vaganje kolonija nakon šest tjedana otkrilo je da su one koje su bile izložene pesticidima znatno lakše od ostalih, što ukazuje na manji broj pčela i prirodni manji unos nektara. Također, utvrđeno je 85 % manje zalihevanje matica u zajednicama koje su bile izložene pesticidima. Budući da pesticidi ostaju u okolišu u tragovima godinama nakon uporabe, cvjetni prah koji pčele sakupljaju još je jedan od izvora pesticida u košnicama (Chauzat i sur., 2006.). Uz problem prisustva pesticida, jedan od glavnih uzroka kolapsa pčelinje zajednice je nedostatak kvalitetne hrane. Pčele su prilagođene usko specijaliziranoj hrani. One uporabljaju samo dva osnovna vida hrane – nektar i pelud, koje sakupljaju s cvjetova biljaka. Intenzivna primjena pesticida utječe na proizvodnju nedovoljne količine kvalitetne peludi, koji je primaran izvor proteina za pčele (Frangen i sur., 2005.).

2.5. Izloženost pesticidima

Uz ostale stresove koji negativno utječu na pčelinje zajednice, pesticidi također pridonose njihovom gubitku (Maini i sur., 2010.). Raširena uporaba insekticida u poljoprivredi, šumarstvu i komunalnoj higijeni jasno predstavlja opasnost za pčele. Navedeni kemijski pripravci namijenjeni su suzbijanju kukaca, a osim insekticida, pčele ugrožavaju i drugi pesticidi, poput akaricida (za suzbijanje varoe), herbicida i fungicida (Sanchez-Bayo i Goka, 2016.). Iako pčele nisu ciljni organizmi kod primjene pesticida, do njihove kontaminacije, može doći i preletom površina tretiranih folijarnih insekticidima te iznad oblaka insekticidne prašine nastalih tijekom sjetve tretiranog sjemena (Kiljanek i sur., 2016.). Prilikom kontakta s malom količinom sistemičnih insekticida pčele mogu biti izložene subletalnoj toksičnosti, koja ne dovodi izravno do njihove smrti, ali narušava kognitivne sposobnosti radilice, poput sposobnosti učenja i orientacije, pa se pčele ne vraćaju u košnicu, a unatoč činjenici da je život izvan zajednice za njih nemoguć dolazi do njihovog ugibanja (Rortais i sur., 2005.).

Najveća izloženost pčela štetnom utjecaju pesticida je tijekom sakupljanja nektara (van der Steen, 2015.). Širok niz simptoma pokazuje trovanje pčela pesticidima. Tako se kod pčela javlja ošamućenost, zbumjenost, paraliza, abnormalno trzanje i brzi pokreti tijela, dezorientiranost skupljačica sa smanjenom učinkovitosti u traženju hrane, letargičnost i zadržavanje na cvijetu, neuobičajeno ponašanje matice i polaganje jaja u ne kontinuiranom

rasporedu, mrtvo leglo i veći broj uginulih pčela ispred košnice (Hooven i sur., 2013.; Kiljanek i sur., 2016.; Kumar i sur., 2020.).

Akratanakul (1990.) navodi smjernice FAO za procjenu stupnja otrovanosti pčela pesticidima. Do 100 mrtvih pčela dnevno je normalna smrtnost. Od 200 do 400 mrtvih pčela ukazuje na nisku razinu trovanja, od 500 do 1000 mrtvih pčela ukazuje na srednju razinu trovanja, dok dnevna smrtnost od preko 1000 pčela ukazuje na visoku razinu trovanja pesticidima. Podatci Ministarstva poljoprivrede (2019.) pokazuju smanjenje broja pčelara i pčelinjih zajednica u Republici Hrvatskoj. Kao razlozi smanjenja broja pčelara i pčelinjih zajednica navode se nepovoljni klimatski uvjeti (najsušnije godine, najtoplje jeseni i najkišovitija ljeta), što je pčele učinilo podložnijim bolestima, a istovremeno je i pčelare, zbog nedostatka i nesigurnosti izvora hrane za pčele, dovelo do dodatnih finansijskih troškova u osiguranju dosta hrane.

2.6. Slučajevi pomora pčela u Republici Hrvatskoj

Pomor pčela je pojava u kojoj veliki broj pčela iznenada umire (Slika 2.7.). To može biti rezultat različitih faktora kao što su bolesti, paraziti, pesticidi ili nedostatak hrane. Pomor pčela je ozbiljan problem jer pčele igraju ključnu ulogu u opravšivanju biljaka i održavanju ekosustava. Danas pčela ima više nego ikada u povijesti. Međutim, gotovo sve pčele nalaze se kod pčelara na pčelinjacima, a u prirodnom staništu ima ih vrlo malo i teško preživljavaju. Zbog toga se pčela smatra ugroženom vrstom. Iako najveći dio ratara i voćara razumije važnost opravšivanja i pčela te vrlo savjesno i odgovorno obavlja svoju djelatnost, još se uvijek pojavljuju pojedinci koji zbog neznanja, nemara ili nestručne primjene sredstava za zaštitu bilja naprave golemu štetu.

Poznato je da su kemijski pesticidi, posebice insekticidi, jedna od primarnih prijetnji broju medonosnih pčela, kao i mnogim drugim vrstama divljih opravšivača (Ministratvo gospodarstva i održivog razvoja, 2022.).



Slika 2.7. Pomor pčela

Izvor: <https://emedjimurje.net.hr/vijesti/drustvo/296659/novi-pomor-pcela-izgubljeno-vise-od-300-pcelinjih-zajednica-na-podrucju-medjimurja/>

U posljednjih pet godina, u Hrvatskoj su zabilježeni brojni primjeri pomora pčela prikazani u Tablici 2.7. Neki od poznatih slučajeva uključuju pomor pčela zbog upotrebe pesticida, bolesti poput varooze i američke gnjiloče, kao i nedostatak kvalitetne paše zbog promjena u okolišu.

Tablica 2.7. Primjeri pomora pčela u Republici Hrvatskoj u posljednjih pet godina

Godina	Lokacija	Broj stradalih zajednica/košnica	Uzrok	Izvor
travanj 2024.	Konavle	60 košnica	trovanje nedozvoljenim insekticidima	Index Vijesti (2024.). Pomor pčela u Konavlima https://www.index.hr/vijesti/clanak/pomor-pcela-u-konavlima/2558438.aspx
lipanj 2023.	Osijek		trovanje uslijed špricanja komaraca	Dnevnik.hr (2023.). "Ovo dosad nisam doživio": Strava u Slavoniji, pomor 90 posto pčela, a ovo je razlog. https://dnevnik.hr/vijesti/hrvatska/pomor-pcela-zbog-tretiranja-komaraca---788141.html
travanj 2023.	*Međimurje	300 pčelinjih zajednica	neispravno korištenje registriranog sredstva koje se koristi prilikom tretiranja kulturna u cvatnji	Ekovjesnik (2023.). Novi pomor pčela u Međimurju. https://www.ekovjesnik.hr/clanak/6162/novi-pomor-pcela-u-medimurju
lipanj 2022.	Bilogora	25 pčelinjih zajednica	trovanje zbog tretiranja površina, konkretno pšenice i vinograda s insekticidima	Index Vijesti (2022.). Uginuli milijuni pčela u Bilogori, sve inspekcije na terenu. https://www.index.hr/vijesti/clanak/uginuli-milijuni-pcela-u-bilogori-sve-inspekcije-na-terenu/2368976.aspx
travanj 2022.	Međimurje	1 414 pčelinjih zajednica	trovanje nedozvoljenim pesticidima u povećanim količinama	Dnevnik.hr (2022.). Što se događa? Veliki pomor pčela u Hrvatskoj, u nekim mjestima skupljaju ih lopatom. https://dnevnik.hr/vijesti/hrvatska/na-milijune-mrtvih-pcela-u-hrvatskoj-je-li-problem-samo-u-insekticidu---720186.html
lipanj 2020.	Međimurje	preko 1 000 košnica	trovanje insekticidom u krivo	Index Vijesti (2020.). U Međimurju potrovani deseci milijuna pčela, pčelari nam otkrili na što

	vrijeme tretiranja	sumnjaju. https://www.index.hr/vijesti/clanak/sto-stoji-izanezapamcenog-trovanja-pcela-u-medjimiruju-pcelari-imaju-teoriju/2190521.aspx	
travanj 2019.	Istra, Dalma- cija i Slavo- nija	visoke temperaturе i prekomjerna upotreba pesticida	Hercegovački portal (2019.). Iz cijele Hrvatske dolaze vijesti o pomoru pčela https://hercegackiportal.com/2019/04/16/izcijele-hrvatske-dolaze-vijesti-opomoru-pcela/
proljeće 2014.	Vukovarsko- srijemska županija	visoke temperature	Index Vjesti (2014.). Nema pomora pčela u Vukovarsko-srijemskoj županiji: "Dobro smo se pripremili". https://www.index.hr/vijesti/clanak/Nema-pomora-pcela-u-Vukovarsko-srijemskoj-zupaniji-Dobro-smo-se-pripremili/722078.aspx

*Istraživana lokacija

2.7. Multirezidualna metoda

Multirezidualna metoda u poljoprivredi obuhvaća pristupe koji uključuju analizu višestrukih ostataka pesticida i drugih kemijskih spojeva u poljoprivrednim proizvodima i okolišu. Ove metode su od ključne važnosti za osiguranje sigurnosti hrane, zaštitu okoliša te pridržavanje zakonskih propisa (Schuh, 2015.). Multirezidualne metode su postale sve popularnije zbog svoje sposobnosti istovremenog određivanja širokog spektra spojeva u jednom analitičkom procesu. Jedna od najuniverzalnijih tehnika ekstrakcije za izolaciju različitih vrsta pesticida je QuEChERS metoda, koja je prvi put predstavljena 2003. godine (Anastassiades i sur., 2003.). Ova metoda osigurava izvrsno čišćenje ekstrakata i visok oporavak analita (García-Reyes i sur., 2007.) te se primjenjuje na različitim prehrabbenim matricama poput voća, povrća, voćnih sokova, žitarica, ribljeg tkiva, tla, maslina, maslinovog ulja, mlijeka, jaja, avokada, meda i pčela.

Mjerenje ostataka pesticida u hrani ili hrani za životinje od presudne je važnosti jer visoke razine pesticida mogu imati štetne učinke na zdravlje ljudi i životinja. U tom kontekstu, masena spektrometrija se preporučuje kao ključna tehnika za praćenje pesticida širom svijeta zbog svoje visoke informacijske sadržajnosti i nedvosmislene potvrde (Hajšlová i Zrostlíková, 2003.; Libin i sur., 2006.; Liu i sur., 2006.; Nguyen i sur., 2007.; Liu i sur., 2008.). Masena spektrometrija (MS) omogućuje identifikaciju različitih kemijskih spojeva, uključujući pesticide, mjerene prema omjeru mase i naboja ioniziranih molekula. Za identifikaciju i kvantifikaciju pesticidnih ostataka koriste se sofisticirane analitičke tehnike poput GC-MS (plinska kromatografija - masena spektrometrija), koja je učinkovita za detekciju isparljivih i poluisparljivih pesticida, te LC-MS/MS (tekuća kromatografija - tandem masena spektrometrija), koja se koristi za analizu neisparljivih pesticida. Rezultati se analiziraju i

kvantificiraju pomoću softverskih alata te se uspoređuju s maksimalno dopuštenim koncentracijama ostataka (MRL) propisanim zakonom (Thompson i sur., 2002.).

Multirezidualne metode u poljoprivredi temelje se na višestrukoj masenoj spektrometriji povezanoj s tekućom i plinskom kromatografijom (LC-MS/MS i GC-MS/MS), koje omogućuju određivanje različitih kemijskih skupina pesticida kao što su organofosforni, organoklorni, triazinski, strobilurinski, nikotinski, karbamati, avermektini i drugi. LC-MS/MS metoda posebno je napredna za identifikaciju i kvantifikaciju pesticida u složenim matricama kao što su biološki uzorci, hrana i okolišni uzorci zbog svoje visoke osjetljivosti i selektivnosti, kao i sposobnosti za analizu polarnih pesticida i njihovih metabolita (Stachniuk i Fornal, 2016.).

Prednosti multirezidualnih metoda u poljoprivredi uključuju istovremeno testiranje na širok spektar kemijskih skupina, smanjenje vremena i troškova analize te visoku točnost i osjetljivost detekcije. Primjena ovih metoda značajno doprinosi sigurnosti hrane, zaštiti okoliša i održivoj poljoprivrednoj praksi, omogućujući poljoprivrednicima i proizvođačima da identificiraju i kontroliraju prisutnost štetnih kemikalija (Placke i Weber, 2019.).

3. Materijali i metode

3.1. Lokalitet istraživanja

Uzorci pčela, analizirani u ovom radu, skupljeni su u Međimurskoj županiji, u naselju Vučetinec (slika 3.1.1.), u sastavu Općine Sveti Juraj na Bregu ($46^{\circ}26'13''N$ $16^{\circ}22'08''E$). Uzorci pčela prikupljeni su od predstavnika pčelarskih udruga Međimurja, koji su prijavili pomor nadležnom tijelu - Ministarstvu poljoprivrede, te poljoprivrednoj savjetodavnoj službi, Agronomskom fakultetu u Zagrebu i medijima.



Slika 3.1.1. Prikaz lokacija sakupljanja uzorka

Izvor: https://hr.wikipedia.org/wiki/Vu%C4%8Detinec#/media/Datoteka:Croatia_location_map.svg

3.2. Prikupljanje uzorka i način rada

Uzorci su prikupljeni 27. travnja 2023. godine prema metodologiji opisanoj u smjernicama za upravljanje rizicima za poljoprivrednike i pčelare u slučaju trovanja pčela (Connelly, 2012.). Uzroci uginulih prikupljeni su nasumce s najveće skupine otrovanih pčela kako bi se osigurao reprezentativan uzorak, a uzorci živih pčela prikupljeni su iz iste košnice s područja u kojem je utvrđen masovni pomor.

Uzorci su prikupljeni pomoću rukavica i pohranjeni u čiste nekorištene vrećice sa patentom za zatvaranje. Minimalna količina potrebna za analizu iznosi 300 pčela (količina dovoljna da napuni čašu od 100 mL), no prikupljeno je znatno više, odnosno pet puta po 100 grama za svaku skupinu. Tako prikupljeni uzorci pohranjeni su u zamrzivač na temperaturu od -18°C do analize.



Slika 3.2.1. Prikupljanje uzoraka uginulih pčela s najveće skupine otrovanih pčela

Izvor: <https://medjimurska-zupanija.hr/2023/04/27/pomor-pcela-u-gornjem-medimurju/>



Slika 3.2.2. Prikupljanje uzoraka živih pčela iz košnica u kojima je utvrđeno trovanje

Izvor: <https://medjimurska-zupanija.hr/2023/04/27/pomor-pcela-u-gornjem-medimurju/>

3.3. Analiza uzoraka multirezidualnom metodom

Analiza ostataka pesticida izvršena je u certificiranom laboratoriju Eurofins Croatakontrola d.o.o. u Zagrebu, Hrvatska. Korištena je multirezidualna metoda za određivanje ostataka pesticida plinskom i tekućinskom kromatografijom nakon ekstrakcije acetonitrilom i pročišćavanja disperzivnom ekstrakcijom čvrste faze (SPE)—Modularna metoda QuEChERS (EN 15662:2018). Ova metoda standardizirana je za analizu hrane biljnog podrijetla, ali je također validirana za uzorce životinjskog podrijetla, obzirom na širok raspon

matrica, uključujući uzorke s visokim sadržajem proteina i/ili masti, voska itd. (Bargańska i sur., 2014.).

U analizi je korištena tekućinski kromatograf Agilent 1260 (Slika 3.3.1.) s višestrukim detektorom masa (MS/MS) Agilent 6460, kromatografska kolona: Agilent Poroshell 120 SB-C18 3,0 x 100 mm, mobilna faza: 0,002 M formatni pufer, pH 2,8 i metanol (gradijent). Zabilježeni protok je 0,6 ml/min uz temperaturu kolone 35 °C.



Slika 3.3.1. tekućinski kromatograf
(Foto: Mihaela Grubelić, Eurofins Croatiakontrola d.o.o.)

Granica kvantifikacije ostataka, odnosno količina aktivne tvari koja se može otkriti ovom metodom, iznosila je 0,001 mg/kg. Prema HRN EN 15662:2018 za analizu multirezidua pesticida, postupak uključuje homogenizaciju uzorka. Minimalna količina svakog pojedinog uzorka za analizu iznosila je 5 g.

Ukupno su analizirana dva homogenizirana uzoraka pčela prikazana Tablicom 3.3.2.

Tablica 3.3.2. Homogenizirani uzorci pčela analizirani multirezidualnom metodom

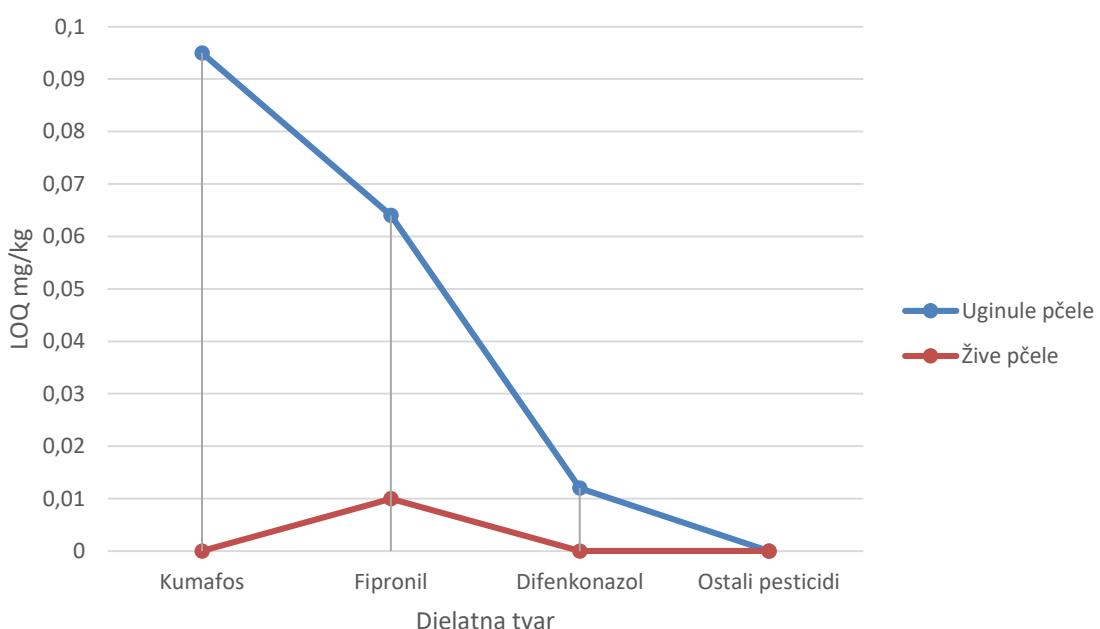
Opis	Lokacija	Datum analize
OZNAKA 01_VUČ_2023_D	Vučetinec	03.07.2023.
OZNAKA 02_VUČ_2023_A	Vučetinec	03.07.2023.

*D – dead (uginule pčele); A – alive (žive pčele)

4. Rezultati

Po dojavi masovnog trovanja, u dva uzorkovanja prikupljeno je ukupno 500 g uzoraka uginulih pčela i 500 g živih pčela u Međimurskoj županiji, u naselju Vučetinec. Sve prikupljene vrste identificirane su kao siva medonosna pčela (*A. mellifera carnica*). Ukupno dva homogenizirana uzoraka pčela pripremljena su za analizu multirezidua. Svaki uzorak sadržavao je prosječno 300 pčela. Korištena je gore opisana metoda multirezidua za određivanje ostataka 500 različitih aktivnih sastojaka pesticida (Prilog 1).

Rezultati analize ostataka pesticida (grafikon 4.1.) u uzorcima uginulih i živih pčela pokazuju značajne razlike u koncentracijama određenih pesticida, što sugerira potencijalnu ulogu ovih djelatnih tvari u uginuću pčela.



Grafikon 4.1. Rezultati analize ostataka pesticida u uzorcima uginulih i živih pčela

Kumafos, organofosfatni insekticid, bio je prisutan u koncentraciji od 0,095 mg/kg u uginulim pčelama, dok je u živim pčelama njegova koncentracija bila ispod granice detekcije.

Fipronil, insekticid širokog spektra, je također prisutan u oba analizirana uzorka, ali je njegova koncentracija veća u uginulim pčelama (0,064 mg/kg) u usporedbi s živim pčelama (0,010 mg/kg).

Difenkonazol, fungicid, pronađen je u koncentraciji od 0,012 mg/kg u uginulim pčelama, a u živim pčelama bio je ispod granice detekcije.

Ostali analizirani pesticidi bili su ispod granica detekcije.

5. Rasprava

Rezultati analize ostataka pesticida u uzorcima uginulih i živih pčela ukazuju na prisutnost triju pesticida: kumafosa, fipronila i difenkonazola.

Kumafos je široko dostupni akaricid na bazi organofosfata. Koristi se u košnicama s ciljem kontroliranja parazitske varroa grinje. Djeluje sustavno, pri čemu pčele konzumiraju male količine i šire ga trofalaktički. Većina sredstva se raspoređuje po cijeloj zajednici u roku od tri sata putem dermalnog kontakta između članova zajednice (Buren i sur., 1992.; 1993.).

Ostaci kumafosa često se nalaze u raznim pčelinjim proizvodima poput peludi, propolisa, vosaka, sača i matične mlječi, koja je vitalna hrana za uzgoj ličinki i matica (Smodiš Škerl i sur., 2010.). U istraživanju Mullin i sur. (2010.) pronađeni su metaboliti 121 pesticida primjenjenih u cvatnji jabuke, pri čemu se kumafos nalazio u 98 % uzoraka voska u koncentracijama od 1,0 µg/kg do 91,9 mg/kg.

Akutna smrtonosna doza (LD_{50}) kumafosa za pojedinačne pčele varira od 3 do 6 µg/kg, pri čemu su niže doze dokazano toksičnije za starije pčele (Buren i sur., 1992.). Konična izloženost kumafosu može rezultirati smanjenom aktivnošću prikupljanja hrane (Siede i sur., 2009.), utjecati na veličinu hipofaringealnih žlijezda i povećati razinu programirane stanične smrti u tkivima pčela (Smodiš Škerl i sur., 2010.). Prema Grecorc (2015.) zabilježeno je neuobičajeno ponašanje pčela četiri sata nakon uvođenja trakica s kumafosom (CheckMite+; Bayer). Pčele su počele napuštati košnice, intenzivno letjeti oko njih, grupirati se na prednjoj zidu košnica i padati na travu ispred njih. Radilice su se također skupljale u male grupe od 10 do 40 pčela i umirale oko tretiranih košnica s raširenim krilima, savijenim, skraćenim i drhtavim abdomenom. Pčele su također bile grupirane na stražnjoj strani košnica, na ulazu u košnice i unutarnjim zidovima. Saće s ličinkama nije bilo adekvatno pokriveno pčelama, a mrtve pčele su pronađene na dnu košnice. Količine kumafosa u pčelama uzorkovanim iz komora s ličinkama, mednih odjeljaka i ispred košnica iznosile su 1.771, 606 i 514 µg/kg, redom. Navedeno ukazuje da uporaba kumafosa može uzrokovati akutne toksične učinke na pčele u zajednicama.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je koncentracija kumafosa od 0,095 mg/kg (95 µg/kg) pronađena u uginulim pčelama znatno viša od gornje granice akutne smrtonosne doze (LD_{50}) za kumafos kod pojedinačnih pčela, koja iznosi 6 µg/kg. Ova visoka koncentracija sugerira da je kumafos mogao imati značajan utjecaj na smrtnost pčela u ovom istraživanju.

Iako se kumafos smatra slabo toksičnim za pčele, potrebno je provesti dodatna istraživanja kako bi se utvrdilo smanjuje li ovaj akaricid preživljavanje pojedinačnih pčela i time utječe na kapacitet radne snage oprašivača (Network, 2001.; Gregorc i sur., 2018.). Kumafos se smatra jednim od glavnih pesticida koji izaziva zabrinutost zbog mogućih negativnih učinaka na zdravlje medonosnih pčela (Buren i sur., 1992.; 1993.).

Fipronil je insekticid širokog spektra djelovanja koji pripada skupini fenilpirazola. Fipronil ometa funkciju središnjeg živčanog sustava kukaca pri čemu dovodi do smrti kada ga kukci unesu u organizam putem usnih organa ili dođu u kontakt s njim. Prvi je insekticid koji cilja GABA (gama-aminomaslačnu kiselinu) receptor (Hainzl i Casida, 1996.; Hainzl i sur., 1998.; Ikeda i sur., 2004.). Fipronil ima snažan afinitet za GABA receptore u beskralježnjacima, što ga čini toksičnijim za kukce nego za sisavce. To je zbog jednostavnijeg živčanog sustava kod kukaca i strukturno različitih GABA receptora kod sisavaca (Narahashi i sur., 2007.).

Fipronil je kategoriziran kao pesticid klase II od strane Svjetske zdravstvene organizacije kao umjерено opasan pesticid (WHO, 2010.). Ne nadražuje kožu i sluznicu oka, niti izaziva kožne alergije (EFSA, 2006.). Ima nisku topljivost u vodi, topljiv je u mastima, ima nisku hlapljivost i slabo je pokretljiv u okolišu. Može biti prilično postojan u sustavima tla, ali je manje postojan u vodenim i sedimentnim sustavima.

U svijetu se učestalo koristi u poljoprivredi (u RH nema dozvolu) i za kućne ljubimce kao tretman protiv buha i krpelja što dovodi do njegove prisutnosti u okolišu i potencijalnog štetnog učinka na pčele. Kontaktni akutni LD₅₀ za pčele iznosi 0,0059 µg pčela⁻¹, dok oralni akutni LD₅₀ iznosi 0,00417 µg pčela⁻¹, odnosno 5,9 µg/kg i 4,2 µg/kg (PPDB, 2024.).

Prvi masovni pomor pčela zabilježen je u Francuskoj 1990-ih godina, a povezan je s korištenjem imidakloprida i fironila. Iako je imidakloprid često okriviljivan, istraživanja sugeriraju da je fipronil glavni uzrok zbog svoje sposobnosti bioakumulacije. Prema istraživanju Holdera i sur. (2018.) fipronil je uzrokovao smrtnost pčela kroz vremenski pojačanu toksičnost (TRT) s gotovo svim konzumiranim fipronilom prisutnim u uzorcima i šest dana nakon primjene. GC-MS analiza potvrdila je bioakumulaciju kao glavni uzrok TRT-a. Colin i sur. (2004.) istraživali su učinke oralne izloženosti fipronilu na aktivnost skupljanja nektara pčela u poluterenskim uvjetima. Fipronil je primijenjen u koncentraciji od 2 µg aktivne tvari/kg u sirupu na hranilištima postavljenim unutar tunela. Rezultati su pokazali smanjenje broja pčela koje su koristile hranilište nakon 4 dana, u usporedbi s netretiranom kontrolom. Također, primjećen je porast neaktivnih pčela na hranilištu. Aliouane i sur. (2009.) istraživali su niz subletalnih učinaka nakon kronične kontaktne i oralne izloženosti fipronilu pčelama medaricama u laboratorijskim uvjetima (0,1 ng/pčela/dan i 0,01 ng/pčela/dan). Doze fipronila od 0,1 ng/pčela/dan rezultirale su 100 % smrtnosti nakon tjedan dana izlaganja, dok su subletalni učinci praćeni dozom od 0,01 ng/pčela/dan. Nakon oralne izloženosti primjećeno je smanjenje osjetljivosti na stimulaciju otopinom saharoze. Nakon kontaktne izloženosti pčele su primjećene kako provode više vremena nepokretno, a povećana je bila i potrošnja vode. Decourtey i sur. (2005.) istraživali su učinkovitost učenja (PER test) nakon kronične oralne izloženosti fipronilu pčela medarica u laboratorijskim uvjetima. Fipronil je primijenjen u otopini saharoze u koncentracijama od 9, 4.5 i 2.2 µg a.s./L, što odgovara dozama od 0.3, 0.15 i 0,075 ng/pčela/dan. Zbog visoke smrtnosti od 91.1 % pri najvišoj dozi od 0,3 ng a.s./pčela/dan, procjene ponašanja provedene su samo za doze od 0,15 i 0,075 ng/pčela/dan. Na oba nivoa doza zabilježen je statistički značajan utjecaj na učinkovitost učenja pčela u usporedbi s neobrađenom kontrolom, s primjećenim smanjenjem odgovora tretiranih pčela

(7,1 % pri 0,15 ng/pčela/dan i 27,2 % pri 0,075 ng/pčela/dan, u usporedbi s 56,2 % u kontrolnoj skupini).

Koncentracije fipronila utvrđene našim istraživanjem u uginulim pčelama (64,000 µg/kg) i živim pčelama (10,000 µg/kg) značajno su više od LD₅₀ vrijednosti, koja iznosi 5,9 µg/kg što ukazuje na potencijalno visoku toksičnost fipronila za pčele, posebno u situacijama gdje su koncentracije u okolišu ili u hrani za pčele visoke. Prema navodima pčelara, sumnja se da je uzrok pomora pčela neispravno korištenje registriranog sredstva dozvoljenog za tretiranje usjeva uljane repice tijekom cvatnje. Prema FIS bazi (2023. i 2024.), nema dozvoljenih sredstava na bazi aktivne tvari fipronil za uporabu u poljoprivrednim kulturama, što dovodi do pitanja kako je fipronil došao u doticaj s pčelama. Nepravilna primjena pesticida, poput korištenja fipronila na usjevima ili područjima gdje nije odobren ili u vrijeme cvatnje, može dovesti do direktnе izloženosti pčela pesticidu. Drift pesticida prilikom prskanja, tretman tla i sjemena, kontaminacija okolišnih područja te sekundarna izloženost preko izvora vode ili biljaka mogu također rezultirati izlaganjem pčela fipronilu. Osim toga, upotreba fipronila za kontrolu parazita na domaćim životinjama može dovesti do kontaminacije okoliša putem izmeta ili kontakta s vegetacijom, dok nezakonita ili nepropisna upotreba fipronila bez poštivanja propisa može uzrokovati ozbiljnu kontaminaciju okoliša i povećati rizik za pčelinje zajednice.

Difenkonazol je fungicid koji se koristi za suzbijanje gljivičnih bolesti voćaka, povrća, žitarica i drugih ratarskih kultura, a njegova prisutnost u pčelinjim uzorcima može doprinijeti kumulativnom toksičnom teretu, iako nije izravno povezan s visokom smrtnošću. Topliv je u mastima dok ima nisku topljivost u vodi pa je mala vjerojatnost da će se isprati. Slabo je hlapljiv, postojan je u tlu i vodenom okolišu. Postoji određena zabrinutost u vezi s njegovim potencijalom bioakumulacije. Umjereno otovan za ljude, sisavce, ptice i većinu vodenih organizama. Kontaktni akutni LD₅₀ za pčele iznosi >100 µg pčela⁻¹, dok oralni akutni LD₅₀ iznosi >177 µg pčela⁻¹, odnosno 1,000 mg/kg i 1,770 mg/kg (PPDB, 2024.).

Prema FIS (2024.) difenkonazol u uljanoj repici ima dozvolu za suzbijanje crne lisne pjegavosti (*Alternaria brassicae*), bijele truleži (*Sclerotinia sclerotiorum*) i suhe truleži (*Phoma lingam* = *Leptosphaeria maculans*). Primjenjuje se u dozi od 0,8 l/ha u proljeće od početka rasta stabljike do najkasnije faze žutog pupa (BBCH 14 – 59) što odgovara vremenskom razdoblju od sredine ožujka do svibnja, odnosno vremenu kada je zabilježen pomor pčela na istraživanoj lokaciji. U našem istraživanju utvrđena koncentracija difenkonazola u uginulim pčelama osamdest puta je manja od kontaktne akutne LD₅₀ utvrđene za pčele pa se ne može pretpostaviti da je dovela do uginuća pčela. Međutim, tijekom svih svojih životnih faza, pčele su izložene rezidualnim koncentracijama pesticida, poput insekticida, herbicida i fungicida, pohranjenim u saču košnice. Fungicidi su odobreni za upotrebu tijekom cvatnje usjeva zbog svoje niske akutne toksičnosti za pčele. Tako pčela, koja je prethodno mogla biti izložena pesticidima putem kontaminirane hrane, može biti podvrgnuta prskanju fungicida kada započne svoj prvi let izvan košnice.

U istraživanju Almasri i sur. (2021.) istraživani su učinci akutne izloženosti fungicidu na pčele s različitim toksikološkim statusima. Tri dana nakon izlaska iz saća, pčele su bile podvrgнуте kroničnoj izloženosti insekticidu imidaklopridu i herbicidu glifosatu, bilo pojedinačno ili u kombinaciji, u koncentracijama od 0,01 i 0,1 µg/L u hrani (0,0083 i 0,083 µg/kg) tijekom 30 dana. Sedam dana kasnije, pčele su bile prskane fungicidom difenokonazolom u registriranoj dozi. Rezultati su pokazali smanjenje preživljavanja kod pčela tretiranih fungicidom. Pčele izložene svim kombinacijama pesticida pokazale su fiziološke poremećaje, uglavnom povezane s metabolizmom. Ovi rezultati sugeriraju da toksičnost aktivnih tvari može biti pogrešno procijenjena u postupku registracije pesticida, posebno za fungicide.

6. Zaključak

1. Ovo istraživanje doprinijelo je razumijevanju razloga masovnih pomora pčela koji sve češće bilježe u Hrvatskoj. Samo u posljednjih deset najviše pčela stradalo je u Međimurju, s velikim brojem uginulih zajednica u nekoliko različitih godina. Analiza uzoraka uginulih i živih pčela iz Međimurja, lokaliteta Vučetinec, pokazuje prisutnost pesticida kumafosa, fipronila i difenkonazola.
2. Visoka koncentracija kumafosa u uginulim pčelama ($95 \mu\text{g/kg}$) znatno premašuje gornju granicu akutne smrtonosne doze (LD_{50}) za pojedinačne pčele ($6 \mu\text{g/kg}$), što ukazuje na potencijalnu opasnost za pčele koje su bile izložene ovom pesticidu.
3. Fipronil, insekticid širokog spektra, također je pronađen u visokim koncentracijama ($64,000 \mu\text{g/kg}$ u uginulim pčelama). Ova otkrića naglašavaju potencijalnu toksičnost fipronila za pčele, što može biti povezano s nepravilnom uporabom ili izlaganjem u okolišu.
4. Iako koncentracija difenkonazola u uginulim pčelama nije bila visoka u usporedbi s LD_{50} vrijednostima za pčele, njegova prisutnost može doprinijeti kumulativnom toksičnom opterećenju, posebno uz kombinaciju s drugim pesticidima.
5. Nezakonita ili nepropisna upotreba pesticida, kao i kontaminacija okoliša tijekom primjene, mogu biti ključni čimbenici koji su doveli do izloženosti pčela pesticidima kao što su kumafos i fipronil. Ova istraživanja ističu potrebu za boljom regulacijom i nadzorom u primjeni pesticida radi zaštite pčelinjih zajednica i očuvanja njihove važne uloge u opravšivanju.
6. Ovo istraživanje naglašava važnost uspostave bolje komunikacije između poljoprivrednika koji koriste pesticide i pčelara koji održavaju pčelinje zajednice. Pravovremena razmjena informacija o planiranim tretmanima pesticidima može pomoći pčelarima da zaštite svoje pčele prilagodbom aktivnosti pčelarskih zajednica ili smještanjem košnica na sigurnije lokacije. Nedostatak takve komunikacije može dovesti do neželjenog izlaganja pčela pesticidima i potencijalno štetiti njihovom prezivljavanju i zdravlju, što naglašava potrebu za poboljšanim sustavima obavještavanja i suradnje između svih dionika u poljoprivrednoj praksi.

7. Popis literature

1. Abdollahi M., Ranjbar A., Shadni S., Nikfar S., Rezaie A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* 10, RA141-147.
2. Adjare S. O. (1990). *Beekeeping in Africa*. (No. 68/6, pp. xii+-130).
3. Akratanakul P. (1990). Pesticides and beekeeping. In Beekeeping in Asia. Rome: FAO Services Bulletin 68/4. Available at: <https://www.fao.org/4/X0083E/X0083E00.htm#Contents>, (Pristupljeno: 05. lipnja 2024.)
4. Aliouane Y., el Hassani A. K., Gary V., Armengaud C., Lambin M., Gauthier M. (2009). Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: Effects on behavior. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28: 113–122. doi: 10.1897/08-110.1.
5. Almasri H., Tavares D. A., Tchamitchian S., Péliissier M., Sené D., Cousin M., Belzunces L. P. (2021). Toxicological status changes the susceptibility of the honey bee *Apis mellifera* to a single fungicidal spray application. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 42807-42820.
6. Anastassiades M., Lehota S. J., Štajnbaher D., Schenck F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC international*, 86(2), 412-431.
7. Bargańska Ż., Słebioda M., Namieśnik J. (2014). Determination of pesticide residues in honeybees using modified QUEChERS sample work-up and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecules*. 2014 Mar 6;19(3):2911-24. doi: 10.3390/molecules19032911. PMID: 24662067; PMCID: PMC6271116.
8. Belčić J., Katalinić J., Loc D., Lončarević S., Peradin L., Šimunić F., Tomašec I. (1979). Pčelarstvo, 4. izd. Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
9. Belčić J., Sulimanović Đ. (1982). Pčelarstvo. Nakladni zavod Matice hrvatske, Zagreb, str. 9-66.
10. Bučar M. (2011). Pčelinje paše ljekovite kadulje, primorskog vriska i planike. Savez pčelarskih udruga Splitsko dalmatinske županije, Split, str. 31-34.
11. Buren N. W. V., Mariën A. G., Oudejans R. C., Velthuis H. H. (1992). Perizin, an acaricide to combat the mite varroa jacobsoni: its distribution in and influence on the honeybee *apis mellifera*. *Physiological entomology*, 17(3), 288-296.
12. Cale G. H. (1968). Pollen-gathering relationship to honey collection and egg-laying honeybees. *American Bee Journal*, 108.
13. Chauzat Mp., Faucon J.P., Martel A.C., Lachaize J., Cougoule N. (2006). Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. *J. Econ. Entomol.* 99 (2): str.253.-262.
14. Colin M. E., Bonmatin J.M., Moineau I., Gaimon C., Brun S., Vermandere J.P. (2004). A method to quantify and analyze the foraging activity of honeybees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. *Archives of environmental contamination and toxicology* DOI:10.1007/s00244-004-3052-y.

15. Connelly D. (2012). Honeybee pesticide poisoning. A risk management tool for Australian farmers and beekeepers.
16. Decourte A., Devillers J., Genecque E., Menach K. L., Budzinski H., Cluzeau S., Pham-Delègue M. H. (2005). Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 48, 242-250.
17. Dnevnik.hr (2022). Što se događa? Veliki pomor pčela u Hrvatskoj, u nekim mjestima skupljaju ih lopatom. <https://dnevnik.hr/vijesti/hrvatska/na-milijune-mrtvih-pcela-u-hrvatskoj-je-li-problem-samo-u-insekticidu---720186.html> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
18. Dnevnik.hr (2023). "Ovo dosad nisam doživio": Strava u Slavoniji, pomor 90 posto pčela, a ovo je razlog. <https://dnevnik.hr/vijesti/hrvatska/pomor-pcela-zbog-tretiranja-komaraca---788141.html> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
19. Dražić M., Bubalo D., Krakar D., Kezić N. (2003). Gospodarski značaj sive pčele i njezina zaštita. *Stočarstvo* 61:2007 (6) 467 – 468. UDK 636.02.028.
20. EFSA. (2006). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance - fipronil. EFSA Scientific Report 65, 1-110.
21. Ekovjesnik (2023). Novi pomor pčela u Međimurju. <https://www.ekovjesnik.hr/clanak/6162/novi-pomor-pcela-u-medimurju> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
22. Engel S.M. (1999). The Taxonomy of Recent and Fossil Honey Bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Hym. Res* Vol. 8(2), 165-196.
23. FIS - Fitosanitarni informacijski sustav. (2023). Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja. <https://fis.mps.hr/fis/javna-trazilica-szb/>.
24. FIS - Fitosanitarni informacijski sustav. (2024). Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja. <https://fis.mps.hr/fis/javna-trazilica-szb/>.
25. Frangen D., Tucaković I., Cvetković I., Seljan V. (2005). Priručnik Pčelarstvo. Učilište *Apis*, V.Gorica.
26. Frangen D. (2019). Antropogen utjecaj na sindrom nestanka medonosne pčele (*Apis mellifera carnica*) (Diplomski rad). Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek.
27. Gajger T.I., Matašin Ž., Petrinec Z. (2007). Krilni indeks pčela na području kontinentalne Hrvatske. Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu 30 prirodne i kulturne baštine, Šibenik 13. – 16. Novembra 2007., Knjiga sažetaka, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
28. García-Reyes J. F., Hernando M. D., Molina-Díaz A., Fernández-Alba A. R. (2007). Comprehensive screening of target, non-target and unknown pesticides in food by LC-TOF-MS. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(8), 828-841.
29. Glas Slavonije.hr (2024). U pet godina broj pčela porastao je za dvije tisuće <https://www.glas-slavonije.hr/518736/7/U-pet-godina-broj-pcela-porastao-je-za-dvije-tisuce> (Pristupljeno: 4. svibnja 2024.)
30. Grecorc (2015). Dodatak i sažetak opisa svojstva VMP. CheckMite+; Bayer. Ministarstvo poljoprivrede. <http://www.veterinarstvo.hr/UserDocsImages/vetMedPro/U-pute%20novo%20rujan%202015/CHECKMITE%20PLUS%20-%20SPC.pdf> (Pristupljeno: 05. lipnja 2024.)

31. Gregorc A., Alburaki M., Rinderer N., Sampson B., Knight P. R., Karim S, Adamczyk J. (2018). Effects of coumaphos and imidacloprid on honey bee (Hymenoptera: Apidae) lifespan and antioxidant gene regulations in laboratory experiments. *Scientific reports*, 8(1), 15003.
32. Hainzl D., Casida J. E. (1996). Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(23), 12764-12767.
33. Hainzl D., Cole L. M., Casida J. E. (1998). Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. *Chemical research in toxicology*, 11(12), 1529-1535.
34. Hajšlová J., Zrostlíková J. (2003). Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *J Chromatogr A* 1000 (1-2): 181-197. doi:10.1016/S0021-9673(03)00539-9.
35. Hercegovački portal (2019). Iz cijele Hrvatske dolaze vijesti o pomoru pčela <https://hercegovackiportal.com/2019/04/16/iz-cijele-hrvatske-dolaze-vijesti-o-pomoru-pcela/> (Pristupljeno: 4. svibnja 2024.)
36. Holder P. J., Jones A., Tyler C. R., Cresswell J. E. (2018). Fipronil pesticide as a suspect in historical mass mortalities of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(51), 13033-13038.
37. Hooven L., Sagli R., Johansen E. (2013). How to Reduce Bee Poisoning from pesticides. A PACIFIC NORTHWEST EXTENSION PUBLICATION, PNW 591, Washington.
38. Ikeda T., Nagata K., Kono Y., Yeh J. Z., Narahashi T. (2004). Fipronil modulation of GABA receptor single-channel currents. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 60(5), 487-492.
39. Index Vijesti (2014). Nema pomora pčela u Vukovarsko-srijemskoj županiji: "Dobro smo se pripremili". <https://www.index.hr/vijesti/clanak/Nema-pomora-pcela-u-Vukovarsko-srijemskoj-zupaniji-Dobro-smo-se-pripremili/722078.aspx> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
40. Index Vijesti (2020). U Međimurju potrovani deseci milijuna pčela, pčelari nam otkrili na što sumnjaju. <https://www.index.hr/vijesti/clanak/sto-stoji-iza-nezapamcenog-trovanja-pcela-u-medjimurju-pcelari-imaju-teoriju/2190521.aspx> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
41. Index Vijesti (2022). Uginuli milijuni pčela u Bilogori, sve inspekcije na terenu. <https://www.index.hr/vijesti/clanak/uginuli-milijuni-pcela-u-bilogori-sve-inspekcije-na-terenu/2368976.aspx> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
42. Index Vijesti (2024). Pomor pčela u Konavlima <https://www.index.hr/vijesti/clanak/pomor-pcela-u-konavlima/2558438.aspx> (Pristupljeno: 4. svibnja 2024.)
43. Johnson R. M., Ellis M. D., Mullin M. D., Frazier M. (2010). Pesticides and honey bee toxicity – USA*. Apidologie 30, 235-248.
44. Karlović A. (2004). Pčelarstvo.hr <https://pcelarstvo.hr/o-pcelama/apis-mellifera-carnica-karakteristike/?v=fd4c638da5f8> (pristupljeno: 12. veljače 2024.)
45. Kezić K., Bubalo D., Grgić Z., Dražić M., Barišić D., Filipi J., Jakopović I., Ševar M., Krakar D., Tretinjak V. (2014). Priručnik. Konvencionalno i ekološko pčelarenje. Zagreb.
46. Kiljanek T., Niewiadowska A., Malysiak M., Posyniak A. (2016). Pesticide poisoning of honeybees: a review of symptoms, incident classification, and causes of poisoning. J. APIC. SCI. 60 (2): 5-24. doi 10.1515/JAS-2016-0024.

47. Kumar G., Singh S., Nagarajaiah R.P.K. (2020). Detailed Review on Pesticidal Toxicity Honey Bees and Its Management. IntechOpen.
48. Laktić Z., Šekulja D. (2008). Suvremeno pčelarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb.
49. Libin L., Hashi Y., Yaping Q., Haixia Z., Jinming L. (2006). Rapid Analysis of Multiresidual Pesticides in Agricultural Products by Gas Chromatography-mass Spectrometry. *Chinese J Anal Chem* 34 (6): 783–786. doi:10.1016/S1872-2040(06)60040-6.
50. Liu L.B., Hashi Y., Qin Y.P. (2008). Mass spectrometry for measuring multiresidual pesticides in agricultural products. *J Chromatogr B* 845: 61–68.
51. Liu P., Liu Q., Ma Y., Liu J., Jia X. (2006). Analysis of Pesticide Multiresidues in Rice by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Coupled with Solid Phase Extraction. *Chinese J Chromatogr* 24 (3): 228–234. doi:10.1016/S1872-2059(06)60011-4.
52. Lushchak V., Matciishyn T. M., Husnjak V., Storey J. M., Storey K. B. (2018). Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI J.* 17, 1101-1136.
53. Lužaić R., Puškadija Z., Florijancic T., Opačak A., Bošković I., Jelkić D. (2008). Posjećenost suncokreta (*Helianthus annuus L.*) medonosnom pčelom (*Apis mellifera L.*) u agro-eko sustavu Baranje. *Krmiva.* 50: 3, 123-128. 11 ref. CAB Abstracts AN 20083215191
54. Maceljski M. (1999). Poljoprivredna entomologija. Čakovec: Zrinski d. d.
55. Maini S., Medrzycki P., Porrini C. (2010). The puzzle of honey bee losses: a brief review. *Bulletin of Insectology* 63 (1): 153-160.
56. Ministarstvo poljoprivrede (2019). Nacionalni pčelarski program za razdoblje od 2020. do 2022. godine. Available at <https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocs/Images/dokumenti/poljoprivreda/pcelarstvo/Nacionalni%20p%C4%8Derlarski%20program%202020.-2022..pdf> (Pristupljeno: 05. lipnja 2024.)
57. Ministarstvo poljoprivrede (2023). Pčelarstvo. <https://stocarstvo.mps.hr/pcelarstvo/> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
58. Ministarstvo poljoprivrede. (2013). Nacionalni pčelarski program za razdoblje od 2014. do 2016. godine.
59. Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja, Zavod za zaštitu okoliša i prirode (2022). Pomori pčela. <https://www.haop.hr/hr/novosti/pomori-pcela> (Pristupljeno: 24. veljače 2024.)
60. Morski.hr (2024). POMOR PČELA NA JADRANU Prošle godine u Hrvatskoj je stradala trećina svih pčela! <https://www.morski.hr/za-oprasivace-koji-zivot-znace-ne-pise-se-dobro-pomor-pcela-i-na-krajnjem-jugu/> (Pristupljeno: 4. svibnja 2024.)
61. Mullin C. A., Frazier M., Frazier J. L., Ashcraft S., Simonds R., VanEngelsdorp D., Pettis J. S. (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *Plos one*, 5(3), e9754.
62. Narahashi T., Zhao X., Ikeda T., Nagata K., Yeh J. Z. (2007). Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. *Human & experimental toxicology*, 26(4), 361-366.
63. Nedialkov S., Bižev B., Mitev B., Simitčijev T., Venov B. (1986). Praktično pčelarstvo, Nolit, Beograd, str. 138 - 156
64. Network E. T. (2001). Pesticide information prople: coumaphos. *Extoxnet*.
65. Neumann P. (2008). Izgube čebeljih družin in projektna povezava "COLOSS". Čebelarska zveza Slovenije, Lukovica, str.91-96.

66. Nguyen T.D., Lee B.S., Lee B.R., Lee D.M., Lee G.H. (2007). A multiresidue method for the determination of 109 pesticides in rice using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) sample preparation method and gas chromatography/mass spectrometry with temperature control and vacuum concentration. *Rapid Commun mass Spectrom RCM* 21 (18): 3115–3122.
67. pčelarstvo. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2013 – 2024. <https://www.enciklopedija.hr/clanak/pcelarstvo> (Pristupljeno: 12. veljače 2024.)
68. Placke F., Weber J. F. (2019). "Multi-Residue Methods for Pesticide Residue Analysis: Current Status and Future Trends". *Trends in Analytical Chemistry*, 113, 54-61.
69. Poklukar J. (1999). Kranjska čebela je osvojila Češko (Carniolan bee has conquered Bohemia). *Slovenski Čebelar* 101: 277-278.
70. Potts S. G., Biesmeijer J. C., Kremen C., Neumann P., Schweiger O., Kunin W.E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* 25, 345-353.
71. PPDB: Pesticide Properties DataBase (2024). Difenoconazole (Ref: CGA 169374) <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/230.htm> (Pristupljeno: 4. svibnja 2024.)
72. PPDB: Pesticide Properties DataBase (2024). Fipronil (Ref: BAS 350I) <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/316.htm> (Pristupljeno: 4. svibnja 2024.)
73. Puškadija Z., Ozimec S. (2000). Opršivanje biljaka i prednosti pčele pred ostalim opršivačima, Hrvatska pčela časopis HPS.
74. Puškadija Z. (2011). Utjecaj klimatskih promjena na proizvodnju meda. Savez pčelarskih udruga Splitsko dalmatinske županije, Split, str.38-41.
75. Rortais A., Arnold G., Halm M-P., Touffet-Briens F. (2005). Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie* 36 (1): 71-83.
76. Ruttner F. (1988). Biogeography and Taxonomy of Honeybees, Springer Verlag, Berlin, 1–284.
77. Sanchez-Bayo F., Goka K. (2016). Impacts of Pesticides on Honey Bees. Beekeeping and Bee Conservation - Advances in Research. doi: 10.5772/62487
78. Schuh R. (2015). "Advancements in Multi-Residue Analysis of Pesticides in Agricultural Products". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(23), 5694-5703.
79. Siede R., Meixner M., Büchler R., Sekulja D., Fries I., Forsgren E., Wallner K. (2009). Association des Instituts de Recherche sur les abeilles Comptes rendus du 56 e Congrès à Schwerin 24–26 mars 2009. *Apidologie*, 40, 651-670.
80. Smodiš Škerl M. I., Kmec V., Gregorc A. (2010). Exposure to pesticides at sublethal level and their distribution within a honey bee (*Apis mellifera*) colony. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 85, 125-128.
81. Stachniuk A., Fornal E. (2016). Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in the Analysis of Pesticide Residues in Food. *Food Anal Methods* 9 (6): 1654–1665. doi:10.1007/S12161- 015-0342-0/FIGURES/5.
82. Stanimirović Z., Stevanovi J., Ćirković D. (2009). Mogući uzroci kolapsa pčelinjih zajednica. Pčelarski savez Vukovarsko-srijemske županije, Zbornik radova, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, str.57-83.

83. Thompson M., Ellison S. L. R., Wood R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 835-855.
84. United Nations Environment Programme. (2010.). Global Honey Bee Colony Disorders and Other Threats to Insect Pollinators. <https://www.unep.org/resources/report/unep-emerging-issues-global-honey-bee-colony-disorder-and-other-threats-insect> (Pristupljeno: 4. srpnja 2024.).
85. Uzgojni program sive pčele *Apis mellifera carnica* (2019). Udruga uzugajivača selekcioniranih matica pčela Hrvatske.
86. Van Buren N. W. M., Mariën A. G. H., Velthuis H. H. W. (1993). The effectiveness of systemic agents used to control the mite, Varroa jacobsoni, in colonies of the honey bee, *Apis mellifera* depends on food distribution patterns. *Apidologie*, 24(1), 33-43.
87. van der Steen J.J.M. (2015). The Foraging Honey Bees. BBKA News incorporating The British Bee Journal.
88. WHO. (2010). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009. <https://iris.who.int/handle/10665/44271>

8. Prilog

Prilog 1

Pesticidi - multirezidualna metoda

U60R6 Pesticidi (GC-MS/MS) -0-0-N

Parametar	LOQ	Parametar	LOQ
Aklonifen	<0.01 mg/kg	Alaklor	<0.01 mg/kg
Aldrin	<0.01 mg/kg	Aldrin / dieldrin (zbroj)	<0.01 mg/kg
Anilofos	<0.01 mg/kg	Azinfos-metil	<0.01 mg/kg
Benfluralin	<0.01 mg/kg	Bifenoks	<0.01 mg/kg
Bifentrin	<0.01 mg/kg	Bromfenvinfos	<0.01 mg/kg
Bromfenvinfos-metil	<0.01 mg/kg	Bromofos-etil	<0.01 mg/kg
Bromofos-metil	<0.01 mg/kg	Bromopropilat	<0.01 mg/kg
Bromukonazol (zbroj)	<0.01 mg/kg	Bromukonazol I	<0.01 mg/kg
Bromukonazol II	<0.01 mg/kg	Butilat	<0.01 mg/kg
Cianofenos	<0.01 mg/kg	Cianofos	<0.01 mg/kg
Ciflutrin	<0.01 mg/kg	Cihalofop-butil	<0.01 mg/kg
Cihalotrin lambda (uključ. cihalotrin gama)	<0.01 mg/kg	Cikloat	<0.01 mg/kg
Cipermetrin	<0.01 mg/kg	DDD-o,p'	<0.01 mg/kg
DDD-p,p'	<0.01 mg/kg	DDE-o,p'	<0.01 mg/kg
DDE-p,p'	<0.01 mg/kg	DDT (zbroj)	<0.01 mg/kg
DDT-o,p'	<0.01 mg/kg	DDT-p,p'	<0.01 mg/kg
Deltametrin	<0.01 mg/kg	Demeton-S	<0.01 mg/kg
Demeton-S-metil sulfon	<0.01 mg/kg	Dialat (zbroj)	<0.01 mg/kg
Dialat I	<0.01 mg/kg	Dialat II	<0.01 mg/kg
Dieldrin	<0.01 mg/kg	Difenilamin	<0.01 mg/kg
Diklofention	<0.01 mg/kg	Diklofop-metil	<0.01 mg/kg
Dikloran	<0.01 mg/kg	Diklorvos	<0.01 mg/kg
Dikofol, o,p-	<0.01 mg/kg	Dikofol, p,p-	<0.01 mg/kg
Dinikonazol	<0.01 mg/kg	Dinitramin	<0.01 mg/kg
Dioksabenzofos	<0.01 mg/kg	Disulfoton	<0.01 mg/kg
Ditalimfos	<0.01 mg/kg	Edifenfos	<0.01 mg/kg
Endosulfan (zbroj)	<0.01 mg/kg	Endosulfan I (alfa)	<0.01 mg/kg
Endosulfan II (beta)	<0.01 mg/kg	Endosulfan sulfat	<0.01 mg/kg
Endrin	<0.01 mg/kg	EPN	<0.01 mg/kg
EPTC	<0.01 mg/kg	Esfenvalerat	<0.01 mg/kg
Etakonazol	<0.01 mg/kg	Etafluralin	<0.01 mg/kg
Etofenproks	<0.01 mg/kg	Etrimfos	<0.01 mg/kg
Fenitrotion	<0.01 mg/kg	Fenklorvos	<0.01 mg/kg
Fenpropatrin	<0.01 mg/kg	Fenson	<0.01 mg/kg
Fention	<0.01 mg/kg	Fentoat	<0.01 mg/kg
Fenvalerat	<0.01 mg/kg	Fenvalerat (zbroj)	<0.01 mg/kg
Flucitrinat (zbroj)	<0.01 mg/kg	Flucitrinat I	<0.01 mg/kg
Flucitrinat II	<0.01 mg/kg	Flumioksazin	<0.01 mg/kg
Fonofos	<0.01 mg/kg	Forat	<0.01 mg/kg
Forat okson	<0.01 mg/kg	Formotion	<0.01 mg/kg
Fosmet	<0.01 mg/kg	Furalaksil	<0.01 mg/kg
HCH-alfa	<0.01 mg/kg	HCH-beta	<0.01 mg/kg
HCH-delta	<0.01 mg/kg	Heksabromobenzen	<0.01 mg/kg
Heksaklorobenzen	<0.01 mg/kg	Heksaklorobutadien	<0.01 mg/kg
Heksakonazol	<0.01 mg/kg	Heptaklor	<0.01 mg/kg
Heptaklor egzo-epoksid	<0.01 mg/kg	Heptaklor endo-epoksid	<0.01 mg/kg
Heptenofos	<0.01 mg/kg	Isazofos	<0.01 mg/kg
Izodrin	<0.01 mg/kg	Izofenfos	<0.01 mg/kg
Izokarbofos	<0.01 mg/kg	Izoprokarb	<0.01 mg/kg

Jodofenfos	<0.01 mg/kg	Karbofention	<0.01 mg/kg
Kinalfos	<0.01 mg/kg	Klorbenzid	<0.01 mg/kg
Klorbufam	<0.01 mg/kg	Klordan (zbroj)	<0.01 mg/kg
Klordan, cis-	<0.01 mg/kg	Klordan, trans-	<0.01 mg/kg
Klorden	<0.01 mg/kg	Klorfenapir	<0.01 mg/kg
Klorfenprop-metil	<0.01 mg/kg	Klorfenson	<0.01 mg/kg
Klorfenvinfos	<0.01 mg/kg	Klormefos	<0.01 mg/kg
Klorobenzilat	<0.01 mg/kg	Klorpirifos (-ethyl)	<0.01 mg/kg
Klorpirifos-metil	<0.01 mg/kg	Klorprofam	<0.01 mg/kg
Klortal-metil	<0.01 mg/kg	Klortiofos	<0.01 mg/kg
Kvintozen	<0.01 mg/kg	Kvintozen (zbroj)	<0.01 mg/kg
Leptofos	<0.01 mg/kg	Lindan (gama-HCH)	<0.01 mg/kg
Mefenpir-dietil	<0.01 mg/kg	Metakrifos	<0.01 mg/kg
Metoksiklor-olefin	<0.01 mg/kg	Mireks	<0.01 mg/kg
Nitrofen	<0.01 mg/kg	Nitrotal-izopropil	<0.01 mg/kg
Oksifluorfen	<0.01 mg/kg	Paration	<0.01 mg/kg
Paration-metil	<0.01 mg/kg	Pebulat	<0.01 mg/kg
Pendimetalin	<0.01 mg/kg	Pentakloroanilin	<0.01 mg/kg
Pentaklorobenzen	<0.01 mg/kg	Pantanoklor	<0.01 mg/kg
Permetrin (zbroj)	<0.01 mg/kg	Permetrin-cis	<0.01 mg/kg
Permetrin-trans	<0.01 mg/kg	Petoksi amid	<0.01 mg/kg
Pirimifos-metil	<0.01 mg/kg	Procimidon	<0.01 mg/kg
Profam	<0.01 mg/kg	Propetamfos	<0.01 mg/kg
Teflutrin	<0.01 mg/kg	Teknazen	<0.01 mg/kg
Terbufos	<0.01 mg/kg	Terbutilazin	<0.01 mg/kg
Tetradifon	<0.01 mg/kg	Tetraklorvinfos	<0.01 mg/kg
Tetrametrin (zbroj)	<0.01 mg/kg	Tetrametrin I	<0.01 mg/kg
Tetrametrin II	<0.01 mg/kg	Tiometon	<0.01 mg/kg
Tolklofos-metil	<0.01 mg/kg	Tralometrin	<0.01 mg/kg
Trialat	<0.01 mg/kg	Triazofos	<0.01 mg/kg
Trifluralin	<0.01 mg/kg	Tritikonazol	<0.01 mg/kg
Vinklozolin	<0.01 mg/kg		

U60R8 Pesticidi (LC-MS/MS) -M1P-0-N

Parametar	LOQ	Parametar	LOQ
Abamektin	<0.01 mg/kg	Acefat	<0.01 mg/kg
Acetamiprid	<0.01 mg/kg	Acetoklor	<0.01 mg/kg
Acibenzolar-S-metil	<0.01 mg/kg	Aldikarb	<0.01 mg/kg
Aldikarb (zbroj)	<0.01 mg/kg	Aldikarb sulfoksid	<0.01 mg/kg
Aldikarb sulfon	<0.01 mg/kg	Aletrin	<0.01 mg/kg
Ametoktradin	<0.01 mg/kg	Ametrin	<0.01 mg/kg
Amidosulfuron	<0.01 mg/kg	Aminokarb	<0.01 mg/kg
Amisulbrom	<0.01 mg/kg	Amitraz	<0.01 mg/kg
Amitraz (zbroj)	<0.01 mg/kg	Aramit	<0.01 mg/kg
Atraton	<0.01 mg/kg	Atrazin	<0.01 mg/kg
Azakonazol	<0.01 mg/kg	Azinfos-etyl	<0.01 mg/kg
Aziprotrin	<0.01 mg/kg	Azoksistrobin	<0.01 mg/kg
Beflubutamid	<0.01 mg/kg	Benalaksil	<0.01 mg/kg
Bendiokarb	<0.01 mg/kg	Benzovindiflupir	<0.01 mg/kg
Bifenazat	<0.01 mg/kg	Biksafen	<0.01 mg/kg
Bitertanol	<0.01 mg/kg	Boskalid	<0.01 mg/kg
Bromacil	<0.01 mg/kg	BTS 44595	<0.01 mg/kg
BTS 44596	<0.01 mg/kg	Bupirimat	<0.01 mg/kg
Buprofezin	<0.01 mg/kg	Butokarboksims	<0.01 mg/kg
Butokarboksims sulfoksid	<0.01 mg/kg	Butoksikarboksims	<0.01 mg/kg
Butralin	<0.01 mg/kg	Buturon	<0.01 mg/kg
Cianazin	<0.01 mg/kg	Ciantraniliprol	<0.01 mg/kg

Ciazofamid	<0.01 mg/kg	Ciflufenamid	<0.01 mg/kg
Ciflumetofen	<0.01 mg/kg	Cikloksidim	<0.01 mg/kg
Cimoksanil	<0.01 mg/kg	Ciprodinil	<0.01 mg/kg
Ciprokonazol	<0.01 mg/kg	Dazomet	<0.01 mg/kg
DEET	<0.01 mg/kg	Demeton-S-metil	<0.01 mg/kg
Dezmedifam	<0.01 mg/kg	Dezmetrin	<0.01 mg/kg
Dialifos	<0.01 mg/kg	Diazinon	<0.01 mg/kg
Dietofenkarb	<0.01 mg/kg	Difenamid	<0.01 mg/kg
Diflufenikan	<0.01 mg/kg	Dikrotofos	<0.01 mg/kg
Dimefoks	<0.01 mg/kg	Dimefuron	<0.01 mg/kg
Dimetaklor	<0.01 mg/kg	Dimetenamid-P	<0.01 mg/kg
Dimetoat	<0.01 mg/kg	Dimetomorf	<0.01 mg/kg
Dimoksistrobin	<0.01 mg/kg	Dinotefuran	<0.01 mg/kg
Dioksakarb	<0.01 mg/kg	Dipropetrin	<0.01 mg/kg
Disulfoton sulfoksid	<0.01 mg/kg	Disulfoton sulfon	<0.01 mg/kg
Diuron	<0.01 mg/kg	DMF	<0.01 mg/kg
DMPF	<0.01 mg/kg	DMST	<0.01 mg/kg
Dodemorf	<0.01 mg/kg	Dodin	<0.01 mg/kg
Emamektin(-benzoat)	<0.01 mg/kg	Epoksikonazol	<0.01 mg/kg
Etofenkarb	<0.01 mg/kg	Etion	<0.01 mg/kg
Etirimol	<0.01 mg/kg	Etofumezat	<0.01 mg/kg
Etoksazol	<0.01 mg/kg	Etoprofos	<0.01 mg/kg
Famfur	<0.01 mg/kg	Famoksadon	<0.01 mg/kg
Fenamidon	<0.01 mg/kg	Fenamifos	<0.01 mg/kg
Fenamifos (zbroj)	<0.01 mg/kg	Fenamifos sulfoksid	<0.01 mg/kg
Fenamifos sulfon	<0.01 mg/kg	Fenarimol	<0.01 mg/kg
Fenazakin	<0.01 mg/kg	Fenbukonazol	<0.01 mg/kg
Fenheksamid	<0.01 mg/kg	Fenklorvos okson	<0.01 mg/kg
Fenmedifam	<0.01 mg/kg	Fenobukarb	<0.01 mg/kg
Fenoksaprop-P-etyl	<0.01 mg/kg	Fenoksikarb	<0.01 mg/kg
Fenpikoksamid	<0.01 mg/kg	Fenpirazamin	<0.01 mg/kg
Fenpirokсимат	<0.01 mg/kg	Fenpropidin	<0.01 mg/kg
Fenpropimorf	<0.01 mg/kg	Fensulfotion	<0.01 mg/kg
Fensulfotion okson	<0.01 mg/kg	Fensulfotion oksonsulfon	<0.01 mg/kg
Fensulfotion sulfon	<0.01 mg/kg	Fention okson	<0.01 mg/kg
Fention oksonsulfoksid	<0.01 mg/kg	Fention oksonsulfon	<0.01 mg/kg
Fention sulfoksid	<0.01 mg/kg	Fention sulfon	<0.01 mg/kg
Fenuron	<0.01 mg/kg	Flamprop-izopropil	<0.01 mg/kg
Flamprop-metil	<0.01 mg/kg	Flonikamid	<0.01 mg/kg
Florporauksifen-benzil	<0.01 mg/kg	Fluazifop-P-butil	<0.01 mg/kg
Flubendiamid	<0.01 mg/kg	Flufenacet	<0.01 mg/kg
Flufenoksuron	<0.01 mg/kg	Flukinkonazol	<0.01 mg/kg
Fluksapiroksad	<0.01 mg/kg	Fluoksastrobin	<0.01 mg/kg
Fluometuron	<0.01 mg/kg	Fluopikolid	<0.01 mg/kg
Fluopiram	<0.01 mg/kg	Fluridon	<0.01 mg/kg
Flurokloridon	<0.01 mg/kg	Flurtamon	<0.01 mg/kg
Flusilazol	<0.01 mg/kg	Flutianil	<0.01 mg/kg
Flutolanil	<0.01 mg/kg	Flutriafol	<0.01 mg/kg
Fluvalinat-tau	<0.01 mg/kg	Foksim	<0.01 mg/kg
Forat oksonsulfoksid	<0.01 mg/kg	Forat oksonsulfon	<0.01 mg/kg
Forat sulfoksid	<0.01 mg/kg	Forat sulfon	<0.01 mg/kg
Forklorfenuron	<0.01 mg/kg	Formetanat	<0.01 mg/kg
Fosalon	<0.01 mg/kg	Fosfamidon	<0.01 mg/kg
Fosfolan	<0.01 mg/kg	Fosmet okson	<0.01 mg/kg
Fostiazat	<0.01 mg/kg	Fuberidazol	<0.01 mg/kg
Furatiokarb	<0.01 mg/kg	Haloksifop	<0.01 mg/kg
Haloksifop (zbroj)	<0.01 mg/kg	Haloksifop-2-etoksietil	<0.01 mg/kg
Haloksifop-metil	<0.01 mg/kg	Heksazinon	<0.01 mg/kg
Heksitiazoks	<0.01 mg/kg	Imazalil	<0.01 mg/kg
Imidakloprid	<0.01 mg/kg	Indoksakarb	<0.01 mg/kg
Ipkonazol	<0.01 mg/kg	Iprobenfos	<0.01 mg/kg
Iprovalikarb	<0.01 mg/kg	Izofetamid	<0.01 mg/kg

Izoksaflutol	<0.01 mg/kg	Izopirazam	<0.01 mg/kg
Izoprotiolan	<0.01 mg/kg	Izoproturon	<0.01 mg/kg
Kaduzafos	<0.01 mg/kg	Karbaril	<0.01 mg/kg
Karbendazim / benomil (zbroj)	<0.01 mg/kg	Karbetalid	<0.01 mg/kg
Karbofuran	<0.01 mg/kg	Karbofuran-3-OH	<0.01 mg/kg
Karboksin	<0.01 mg/kg	Karfentrazon-etyl	<0.01 mg/kg
Kinoklamin	<0.01 mg/kg	Kinoksifen	<0.01 mg/kg
Kizalofop-etyl	<0.01 mg/kg	Kizalofop-P-tefuril	<0.01 mg/kg
Kletodim	<0.01 mg/kg	Klimbazol	<0.01 mg/kg
Klodinafop-propargil	<0.01 mg/kg	Klofentezin	<0.01 mg/kg
Klomazon	<0.01 mg/kg	Klorantraniliprol	<0.01 mg/kg
Klorbromuron	<0.01 mg/kg	Klorfluazuron	<0.01 mg/kg
Klorfoksim	<0.01 mg/kg	Kloridazon	<0.01 mg/kg
Kloroksuron	<0.01 mg/kg	Klorotoluron	<0.01 mg/kg
Klotianidin	<0.01 mg/kg	Krezoksim-metil	<0.01 mg/kg
Kromafenoziđ	<0.01 mg/kg	Lenacil	<0.01 mg/kg
Linuron	<0.01 mg/kg	Lufenuron	<0.01 mg/kg
Malaokson	<0.01 mg/kg	Malation	<0.01 mg/kg
Malation (zbroj)	<0.01 mg/kg	Mandipropamid	<0.01 mg/kg
Mefentriflukonazol	<0.01 mg/kg	Mefosfolan	<0.01 mg/kg
Mekarbam	<0.01 mg/kg	Mepanipirim	<0.01 mg/kg
Mepronil	<0.01 mg/kg	Metabenziazuron	<0.01 mg/kg
Metaflumizon	<0.01 mg/kg	Metalaksil	<0.01 mg/kg
Metamidofos	<0.01 mg/kg	Metamitron	<0.01 mg/kg
Metazaklor	<0.01 mg/kg	Metidation	<0.01 mg/kg
Metiokarb	<0.01 mg/kg	Metiokarb (zbroj)	<0.01 mg/kg
Metiokarb sulfoksid	<0.01 mg/kg	Metiokarb sulfon	<0.01 mg/kg
Metkonazol	<0.01 mg/kg	Metobromuron	<0.01 mg/kg
Metoksifenoziđ	<0.01 mg/kg	Metoksuron	<0.01 mg/kg
Metolaklor	<0.01 mg/kg	Metolkarb	<0.01 mg/kg
Metomil	<0.01 mg/kg	Metrafenon	<0.01 mg/kg
Metribuzin	<0.01 mg/kg	Mevinfos	<0.01 mg/kg
Miklobutanil	<0.01 mg/kg	Monokrotofos	<0.01 mg/kg
Monolinuron	<0.01 mg/kg	Monuron	<0.01 mg/kg
Napropamid	<0.01 mg/kg	Neburon	<0.01 mg/kg
Nitenpiram	<0.01 mg/kg	Norflurazon	<0.01 mg/kg
Novaluron	<0.01 mg/kg	Nuarimol	<0.01 mg/kg
Ofurace	<0.01 mg/kg	Oksadiazon	<0.01 mg/kg
Oksadiksil	<0.01 mg/kg	Oksamil	<0.01 mg/kg
Oksatiapiprolin	<0.01 mg/kg	Oksidemeton-metil	<0.01 mg/kg
Oksikarboksín	<0.01 mg/kg	Ometoat	<0.01 mg/kg
Paklobutrazol	<0.01 mg/kg	Paraokson-etyl	<0.01 mg/kg
Paraokson-metil	<0.01 mg/kg	Pencikuron	<0.01 mg/kg
Penflufen	<0.01 mg/kg	Penkonazol	<0.01 mg/kg
Pentiopirad	<0.01 mg/kg	Pikoksistrobin	<0.01 mg/kg
Pikolinafen	<0.01 mg/kg	Pimetrozin	<0.01 mg/kg
Pinoksaden	<0.01 mg/kg	Piperofos	<0.01 mg/kg
Piraflufen-etyl	<0.01 mg/kg	Piraklostrobin	<0.01 mg/kg
Pirazofos	<0.01 mg/kg	Piridaben	<0.01 mg/kg
Piridafenton	<0.01 mg/kg	Piridalil	<0.01 mg/kg
Pirifenoks	<0.01 mg/kg	Pirimetanil	<0.01 mg/kg
Pirimifos-etyl	<0.01 mg/kg	Pirimikarb	<0.01 mg/kg
Pirimikarb-dezmetil	<0.01 mg/kg	Priofenon	<0.01 mg/kg
Piriproksifen	<0.01 mg/kg	Profenofos	<0.01 mg/kg
Prokinazid	<0.01 mg/kg	Prokloraz	<0.01 mg/kg
Prokloraz (zbroj)	<0.01 mg/kg	Promekarb	<0.01 mg/kg
Prometon	<0.01 mg/kg	Prometrin	<0.01 mg/kg
Propakizafop	<0.01 mg/kg	Propaklor	<0.01 mg/kg
Propamokarb	<0.01 mg/kg	Propargit	<0.01 mg/kg
Propazin	<0.01 mg/kg	Propikonazol	<0.01 mg/kg
Propizamid	<0.01 mg/kg	Propoksur	<0.01 mg/kg
Prosulfokarb	<0.01 mg/kg	Protiofos	<0.01 mg/kg

Protikonazol(-dezetio)	<0.01 mg/kg	Rotenon	<0.01 mg/kg
Saflufenacil	<0.01 mg/kg	Sedaksan	<0.01 mg/kg
Setoksidim	<0.01 mg/kg	Simazin	<0.01 mg/kg
Simetrin	<0.01 mg/kg	Spinetoram	<0.01 mg/kg
Spinosad	<0.01 mg/kg	Spinosan A	<0.01 mg/kg
Spinosan D	<0.01 mg/kg	Spirodiklofen	<0.01 mg/kg
Spiroksamin	<0.01 mg/kg	Spiromezifen	<0.01 mg/kg
Spirotetramat	<0.01 mg/kg	Spirotetramat (zbroj)	<0.01 mg/kg
Spirotetramat-enol	<0.01 mg/kg	Sulfoksaflor	<0.01 mg/kg
Sulfosulfuron	<0.01 mg/kg	Sulfotep	<0.01 mg/kg
Sulprofos	<0.01 mg/kg	Tebufenozid	<0.01 mg/kg
Tebufenpirad	<0.01 mg/kg	Tebukonazol	<0.01 mg/kg
Tebupirimfos	<0.01 mg/kg	Tebuturon	<0.01 mg/kg
TEPP	<0.01 mg/kg	Terbufos sulfoksid	<0.01 mg/kg
Terbufos sulfon	<0.01 mg/kg	Terbumeton	<0.01 mg/kg
Terbutrin	<0.01 mg/kg	Tetrakonazol	<0.01 mg/kg
Tiabendazol	<0.01 mg/kg	Tiakloprid	<0.01 mg/kg
Tiametoksam	<0.01 mg/kg	Tienkarbazon-metil	<0.01 mg/kg
Tiodikarb	<0.01 mg/kg	Tiofanat-metil	<0.01 mg/kg
Tiofanoks	<0.01 mg/kg	Tiofanoks sulfoksid	<0.01 mg/kg
Tionazin	<0.01 mg/kg	Tolfenpirad	<0.01 mg/kg
Tolilfluanid	<0.01 mg/kg	Tolilfluanid (zbroj)	<0.01 mg/kg
Tralkoksidim	<0.01 mg/kg	Triadimefon	<0.01 mg/kg
Triadimenol	<0.01 mg/kg	Tribenuron-metil	<0.01 mg/kg
Tribufos	<0.01 mg/kg	Triciklazol	<0.01 mg/kg
Trifloksistrobin	<0.01 mg/kg	Triflumizol	<0.01 mg/kg
Triflumizol (zbroj)	<0.01 mg/kg	Triflumizol FM-6-1	<0.01 mg/kg
Triflumuron	<0.01 mg/kg	Triflusulfuron-metil	<0.01 mg/kg
Triforin	<0.01 mg/kg	Triklorfon	<0.01 mg/kg
Tritosulfuron	<0.01 mg/kg	Valifenalat	<0.01 mg/kg
Vamidotion	<0.01 mg/kg	Zoksamid	<0.01 mg/kg

U620G Pesticidi (LC-MS/MS)-M1N-0-N

Parametar	LOQ	Parametar	LOQ
Diflubenzuron	<0.01 mg/kg	Fipronil sulfon	<0.005mg/kg
Fluazinam	<0.01 mg/kg	Fludioksonil	<0.01 mg/kg
Heksaflumuron	<0.01 mg/kg	Joksinil	<0.01 mg/kg
Propanil	<0.01 mg/kg	Teflubenzuron	<0.01 mg/kg

Životopis

Nikolina Kostanjski rođena je 07. siječnja 2003. godine u Zagrebu gdje 2017. godine upisuje srednju školu Zdravstveno učilište, smjer medicinski kozmetičar. Tijekom svog srednjoškolskog obrazovanja iskazuje interes prema biologiji i poljoprivrednim zanimanjima. Godine 2021. upisuje preddiplomski studij Fitomedicine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Obiteljski se bavi uzgojem pčela i proizvodnjom meda pri čemu razvija interes prema pčelarstvu i entomologiji. Aktivno se služi engleskim jezikom. U slobodno vrijeme bavi se trčanjem i planinarenjem.