



EESTI MAAÜLIKOOL
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Anna Dronova

**SULFOKSAFLOORI MÕJU KARUKIMALASTE (*BOMBUS
TERRESTRIS*) HINGAMISFÜSIOLOOGIALE**

**EFFECT OF SULFOXAFLOL ON THE RESPIRATORY
PHYSIOLOGY OF BUFF-TAILED BUMBLEBEES (*BOMBUS
TERRESTRIS*)**

Bakalaureusetöö
Aianduse õppekava

Juhendajad: Risto Raimets, *PhD*

Reet Karise, *PhD*

Tartu 2021

Eesti Maaülikool, Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Autor: Anna Dronova		Õppekava: Aianduse õppekava	
Pealkiri: Sulfoksafloori mõju karukimalaste (<i>Bombus terrestris</i>) hingamisfüsioloogiale			
Lehekülgi: 53	Jooniseid: 2	Tabeleid: -	Lisasisid: 1
Osakond / Õppetool: Taimetervise õppetool			
ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: B390 Taimekaitse			
Juhendaja(d): Risto Raimets, Reet Karise			
Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu, 2021			
<p>21. sajandi jooksul on toimunud suur tolmeldajate arvukuse langus ning üheks põhjuseks peetakse sagedast pestitsiidide kasutamist. Tänu arvukatele uuringutele on tõestatud teatud pestitsiidide (neonikotinoide) ohtlikkust mesilastele, ning antud pestitsiidide kasutamine keelustati. Pärast neonikotinoide keelustamist hakati otsima nende asendust ning võimalikeks asendusaineteks peetakse sulfoksomiinidel põhinevaid insektitsiide. Antud töös vaatluse alla tuleva insektitsiidi sulfoksafloori kohta on hetkeseisuga vähe andmeid, kuna see on uudne pestitsiid.</p> <p>Töö eesmärgiks oli uurida sulfoksafloori mõju karukimalaste (<i>Bombus terrestris</i>) pere eri liikmete (emaste, tööliste ja isaste karukimalaste) hingamisfüsioloogiale. Katsed viidi läbi Eesti Maaülikooli laboris. Individuaalselt puuridesse pandud karukimalased töödeldi kontaktelt erinevate lahustega, mis sisaldasid atsetooni ning sulfoksafloori erinevaid kontsentratsioone.</p> <p>Tulemused näitasid, et isased karukimalased olid sulfoksafloorile kõige tundlikumad, nende süsihappegaasi eraldumise ning veekao tulemustest võib järeldada, et sulfoksaflooril oli statistiliselt oluline mõju nende näitajate suurenemisele. Sulfoksafloor mõjutas oluliselt kimalasisade toitumist. Kimalastöölisel avaldus statistiliselt oluline mõju nende veekao näitajate puhul LD₅₀ doosi juures. Kõige vastupidavamad olid kimalasemad, kellel ei tekkinud statistiliselt olulist mõju mitte ühegi näitaja juures sulfoksaflooriga töötluste puhul, kuid nende</p>			

ainevahetuse taset tõstis atsetooni lahus. Eeltoodud tulemustest võib järeldada, et sulfoksafloor mõjutab eri kimalaspere liikmeid erinevalt.

Antud bakalaureusetöö ning teiste autorite uuringutulemuste põhjal võib järeldada, et sulfoksaflooril on ohtlik mõju karukimalastele. Tulevikus tasub edasi tegeleda sulfoksafloori mõju uurimisega teistele tolmeldajatele, et välja selgitada selle pestitsiidi tõeline mõju tolmeldajatele ning selle sobivus neonikotinoidide asendusainena.

Märksõnad: insektitsiidi, sulfoksafloor, toksilisus, hingamisfüsioloogia, kimalased

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Abstract of Bachelor's Thesis	
Author: Anna Dronova		Curriculum: Horticulture	
Title: Effect of sulfoxaflor on the respiratory physiology of buff-tailed bumblebees (<i>Bombus terrestris</i>)			
Pages: 53	Figures: 2	Tables: -	Appendixes: 1
Department / Chair: Chair of Plant Health Field of research and (CERC S) code: B390 Plant Protection Supervisors: Risto Raimets, Reet Karise Place and date: Tartu, 2021			
<p>During the 21st century, there has been a sharp decline in the number of pollinators, one of the reasons considered is the frequent use of pesticides. Numerous studies have shown that certain pesticides (such as neonicotinoids) are harmful to bees and the use of these pesticides has been banned. After the ban on neonicotinoids, substitution for these substances was sought and sulfoxamine-based insecticides are considered as possible substitutes. There is currently limited data on the insecticide sulfoxaflor, which is under consideration in this work, as it is a novel pesticide.</p> <p>The aim of this study was to investigate the effect of sulfoxaflor on the respiratory physiology of different members of the buff-tailed bumblebee (<i>Bombus terrestris</i>) colony (queens, workers and male bumblebees). The experiments were performed in the laboratory of the Estonian University of Life Sciences. Individually caged bumblebees were contactly treated with various solutions containing different concentrations of sulfoxaflor and acetone. The results showed that male bumblebees were the most sensitive to sulfoxaflor, and the results of their carbon dioxide emissions and water loss suggest that sulfoxaflor had a statistically significant effect on these parameters. Sulfoxaflor had significant effect on the diet of male bumblebees. Bumblebee workers experienced a statistically significant effect on the water loss parameters at the LD₅₀ dose. The most resistant were bumblebee queens, which did not show a statistically significant effect on any of the parameters with sulfoxaflor</p>			

treatments, but their metabolic rate was increased by acetone solution. From the above results, it can be concluded that sulfoxaflor affected different members of the bumblebee family differently.

Based on this bachelor's thesis and the research results of other authors, it can be concluded that sulfoxaflor has a dangerous effect on buff-tailed bumblebees. In the future, it will be worthwhile to further investigate the effects of sulfoxaflor on other pollinators in order to determine the true effects of this pesticide on pollinators and its suitability as a substitute for neonicotinoids.

Keywords: insecticide, sulfoxaflor, toxicity, bumble bees, respiratory physiology

SISUKORD

SISSEJUHATUS	7
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	9
1.1. Kimalased ja teised olulised tolmeldajad	9
1.1.1. Kimalased	9
1.1.2. Meemesilased	11
1.1.3. Muud tolmeldajad.....	12
1.2. Tolmeldajate arvukuse langus ja võimalikud põhjused.....	12
1.2.1. Muutused kliimas ja maakasutuses.....	13
1.2.2. Saaste	14
1.2.3. Erinevate faktorite koostoime.....	15
1.3. Pestitsiidide leiud mesindussaadustest	17
1.4. Pestitsiidide mõjud looduslikele tolmeldajatele	18
1.5. Subletaalsete dooside mõju tolmeldajate füsioloogilistele näitajatele	21
1.6. Sulfoksafloor ja selle mõjud tolmeldajatele	23
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	27
2.1. Kimalased	27
2.2. Ettevalmistused ja töötused	27
2.3. Katsetöö käik	28
2.4. Andmete statistiline analüüs	28
3. TULEMUSED	29
3.1. Töötuste mõju kimalaste süsihappegaasi eraldumisele	29
3.2. Töötuste mõju töötusgruppide vee eraldumisele.....	31
4. ARUTELU.....	33
KOKKUVÕTE	38
SUMMARY.....	40
KASUTATUD KIRJANDUS.....	42
LISAD	52

SISSEJUHATUS

Mesilased on ühed ökoloogiliselt ja majanduslikult olulisemad tolmeldajad üle kogu maailma. Vaatamata mesilaste olulisusele ähvardavad tänapäeval nende populatsioone erinevad antropogeensed kui ka looduslikud (sh kliimaatilised) mõjud (1). 21. sajandi jooksul on toimunud suur tolmeldajate arvukuse langus (2). See langus jätkub ka kimalaste (*Bombus spp.*) hulgas (3).

Põllumajandus on antropogeensete tegurite hulgas silmapaistval kohal ning selle intensiivistumisega suuereneb ka pestitsiidide kasutamine. Pestitsiidide kasutamist peetakse üheks tolmeldajate arvukuse languse peamiseks põhjuseks (4). Kimalased puutuvad paljudel juhtudel kokku pestitsiidide subletaalsete kogustega, mis ei pruugi küll letaalselt mõjuda, kuid võivad põhjustada muutusi nende füsioloogias ja käitumises, mille tulemusena putukas nõrgeneb või hiljem ka hukub. Selles mängivad suurimat rolli just insektitsiidid, sest nende hulgas sageli esinev spetsiifilisuse puudumine (lai toimespekter) on toonud kaasa paljude sihtrühma mittekuuluvate putukate suremuse (3).

Viimastel aastakümnetel on mesinikud märganud muutusi oma mesilaste käitumises. Muutusi võivad põhjustada kõik laiatoimelised insektitsiidid, kuid viimasel ajal on erilise tähelepanu all neonikotinoiidid. On täheldatud nii töölistmesilaste kui ka mesilasemade suurenenud hukkumist. Järeldati, et selle põhjuseks oli põllumajanduses kasutatav pestitsiid neonikotinoiid (5). Tänu teadustöödele on siiski mitmed tolmeldajatele kahjulikud pestitsiidid (nagu näiteks enamik neonikotinoiididest) tänaseks päevaks Euroopa Liidus keelustatud (3). Seetõttu on hakatud otsima neonikotinoiididele asendust.

Võimalikeks asenduaineteks peetakse sulfoksomiinidel põhinevaid insektitsiide. Antud töös vaatluse all olnud insektitsiidi sulfoksafloori kohta on hetkeseisuga vähe andmeid, kuna see on uudne pestitsiid. Sulfoksafloor on süsteemne putukamürk, mis toimib putukatele neurotoksiinina ja kuulub kemikaalide klassi, mida nimetatakse sulfoksimiinideks ja mis mõjutavad putukate kesknärvisüsteemi (6). Seda peetakse nikotiinse atsetüülkoliini retseptori (nAChR) agonistiks. Sulfoksafloor on osutunud tõhusaks paljude taimemahladest toituvate putukkahjurite suhtes (näiteks karilased, täid, tirtsud ja lutikad), kaasa arvatud tänapäeval kättesaadavate putukamürkide vastu resistentsete putukate suhtes (6).

Tavaliselt tehakse pestitsiidide toime selgitamiseks katseid meemesilaste töölistega või ka tervete peredega (7)(8)(9). Oluliselt vähem tähelepanu on saanud sotsiaalse eluviisiga mesilaste teiste pereliikmete, mesilasemade ja -isade uurimine (10)(11). Veel vähem on töid kimalastega ning võrdluskatsed erinevate pere liikmete vahel peaaegu puuduvad. Kuna autonoomsed protsessid, nagu hingamine, tagavad mis tahes organismi normaalse funktsioneerimise, annab nende protsesside häirete hindamine toksikoloogia uuringutes väärtuslikke andmeid. Putukate hingamine on ülitundlik süsteem, mis reageerib kiiresti igale stressorile, pestitsiidide puhul ka juba väikeste dooside juures (12). Pestitsiidide mõju uurimine putukate hingamisfüsioloogiale on põhiliste füsioloogiliste muutuste mõõtmise meetodika, kuna see võimaldab mõõta puutumatut elusat putukat. Närvi- või lihaskoe funktsiooni kõrvalkalded põhjustavad autonoomsete protsesside, nagu termoregulatsioon, hingamine ja veetasakaal, muutust. Leiti, et putukatel saab pöörduva ja pöördumatu toksikoosi uurimiseks kasutada hingafüsioloogia näitajaid (12).

Antud töö eesmärgiks on välja selgitada uudse pestitsiidi sulfoksafloori madala kontsentratsiooniga dooside mõju karukimalaste (*Bombus terrestris* L.) pere eri liikmete hingamisfüsioloogilistele näitajatele. Püstitatud hüpoteesi alusel mõjub see pestitsiid kimalasemade, -isade ning -tööliste hingamisfüsioloogiale erinevalt.

Soovin tänada Risto Raimetsa, kes oli minu lõputöö juhendajaks ja õpetas mind käsitsemata läbivoolu-respiromeetrit. Lisaks soovin avaldada tänu kaasjuhendajale Reet Karisele, kes oli samuti suureks toeks töö kirjutamisel. Tänuõnad Margret Jürisonile, kes aitas läbi viia laborikatsed ning Kaarel Pentile, kes oli abiks statistikaandmete töötlemisel ja jooniste koostamisel. Seda tööd on finantseerinud Euroopa Regionaalarengu Fond koos Eesti Teadusagentuuriga (ETAg) RITA projekt ning Horizon 2020 Poshbee projekt.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Kimalased ja teised olulised tolmeldajad

1.1.1. Kimalased

Kimalased (perekond *Bombus*, sugukond *Apidae*) on meemesilastest suurema kehaehitusega looduslikud tolmeldajad (13). Nende keha kattev tihe karvkate aitab neil püüda õietolmu ning võimaldab neil toitu koguda ka madalamate temperatuuride korral. Termoregulatsiooni mehhanismid säilitavad külma ilmaga kehatemperatuuri ümbritsevast keskkonast kõrgemal, võimaldades neil olla aktiivsed teiste mesilaste jaoks liiga äärmuslikes tingimustes (13). Kimalased kasutavad mitmesuguseid elupaiku, alates alpi niitudest kuni troopiliste metsadeni. Ökoloogilised võimalused ja käitumuslikud kohandumised mängivad olulist rolli erinevate elupaikade koloniseerimisel. Näiteks parasvöötme liigid loovad peresid igal aastal ühest kimalasemast, samas kui troopilised liigid on mitmeaastased (13). Olenevalt liigist on suve lõpul normaalselt arenenud kimalaseperes kuni mõnisada töolist (14). Liigiti võib pere suurus erineda – enamasti on suurema perega liigid ka suurema lennuraadiusega (14). Pere võib üldiselt suuruse järgi jaotada: väikeseks (kuni ~100 töolist), keskmiseks (ligi 100–200 töolist), suureks (kuni mõnisada töolist) (14). Kimalaste pere eluea võib sõltuvalt liigist jaotada: lühikeseks, keskmiseks või pikaks (14). Mõned liigid suudavad aktiivsusperioodi jooksul läbi teha kaks peretsüklit (14). Kimalased võib jagada päriskimalasteks ning nende pesaparasitiitideks – kägukimalasteks. Eestis esineb 21 liiki päriskimalasi ning 8 liiki kägukimalasi. Nendest 18 liiki päriskimalasi kuuluvad Eesti looduskaitseaduse alusel III kaitsekategooriasse (14).

Kimalased on generalistid, kes koguvad toitu ühe korjelennu käigus paljudelt erinevatelt taimeliikidelt. Javorek jt (15) tõestasid oma katses, et kimalased ja mesilased on mitte ainult võrdsed oma tolmeldamise kiiruse poolest, vaid et kimalased võivad selles osas olla isegi efektiivsemad, külastades ja tolmeldades kindla aja jooksul rohkem taimi, kui mesilased. Metsikute kimalaste perede tolmeldamisteenuseid kasutatakse sageli nii põllukultuuride

tolmeldamiseks avamaastikes kui ka erinevate kultuuride tolmeldamiseks kasvuhoonetes (16). Kimalased on haplo-diploidsed putukad, kus isased (haploidsed) ja emased (diploidsed) täidavad reproduktiivset rolli ja kus töölisel (diploidsed) täidavad muid vajalikke ülesandeid, mis aitavad perel korras püsida (17).

Viik jt (14) on Eestis leiduvate kimalaste kohta kirjutanud järgmist. Kimalased on üheaastase elutsükliga, talvituma jäävad vaid emasisendid. Kevadel alustab kimalasema uut pere elutsüklit üksinda. Kimalasema pole munemiseks valmis enne, kui ta pole piisavalt toitunud. Kui pesa on leitud ning üles ehitatud, hakkab kimalasema munema, 3 nädala kuni 1,5 kuu pärast ilmuvad esimesed kimalased (14). Esialgu hoolitseb kimalasema järglaste toitmise ja pesa puhtuse eest. Kui töövõimekaid järglasi on piisavalt, jääb kimalasema ülesandeks munemine, kimalastöölised aga ehitavad kärgi, hoolitsevad järglaste ja puhtuse eest, valvavad pesa ning koguvad toitu. Kimalastöölised on emased, kuid tavaliselt on nad kimalasemadest väiksemad. Kimalasisad ilmuvad kesksuvest ja nende eluiga on lühem, kuna nende peamiseks eesmärgiks on vaid emaste viljastamine (14).

Karukimalased

Karukimalane (*Bombus terrestris*) on üks arvukamaid kimalaste liike. Pealegi on see eusotsiaalne putukas, millel on põlvkondade kattuvus, tööjaotus ja kooperatiivne hoolitsemine haudepesa eest. Pesad asuvad tavaliselt maa all, näiteks hüljatud näriliste poolt pesades (18). Karukimalaste pere on suur – ühes pereb paikneb üle 200 isendi (14). Kimalastöölised on tõhusad tolmeldajad, kuna on suutelised õppima tundma õite värve ja seetõttu külastada just konkreetse taimeliigi õisi korraga (19).

Karukimalane on kõige levinum kogu Euroopas ja ja elab selle parasvöötmeosas. Kuna ta suudab ellu jääda väga erinevates elupaikades, on populatsioon ka Lähis-Idas, Vahemere saartel ja Põhja-Aafrikas (20). Lisaks looduslikule levialale, kasvatatakse seda liiki ka kasvandustes ning müüakse tolmeldamise eesmärgil. Kuid, kuna see on üks peamisi kasvuhoone tolmlemisel kasutatavaid liike, võib seda võib leida paljudes riikides ja piirkondades, kus see pole kohalik, näiteks Tasmaanias, Jaapanis, Tšiilis, Argentiinas ja Tasmaania, invasiivseks liigiks (19).

Kimalasema pikkus on ligi 20–22 mm, kimalasisade pikkus jääb vahemikku 14–16 mm ja kimalastöölistel on see 11–17 mm. Karukimalased on teiste kimalastega võrreldes ainulaadsed selle poolest, et nende tööliste seas on suurus väga varieeruv - rindkere suurus võib olla 2,3–6,9 mm ja kehamass vahemikus 68–754 mg (21). Kimalasemadel, nagu ka kimalastöölistel, on valge otsaga tagakeha ja nad on väga sarnased maakimalastega (*B. lucorum*), kuid neil esineb siiski mõningaid erinevusi, nt triipude värvuses ja laiuses (22).

Karukimalastel esineb alloetism, kus erineva suurusega isendid täidavad erinevaid rolle (21). Sellist käitumist võib kõige sagedamini täheldada korjekimalastel. Suuremad isendid käivad tavaliselt korjelennul ning väiksemad täidavad vajalikke ülesandeid pesas (21). Väiksemaid isendeid saab soodsamalt kasvatada, samal ajal kui ainult mõnda vastset toidetakse piisavalt, et sellest saaks suur korjekimalane (21).

1.1.2. Meemesilased

Mesilased on maismaaökosüsteemides looduslike taimede ja põllukultuuride peamised tolmeldajad, mis teeb neist olulised tolmeldamisteenuse pakkujad. Arvukad uuringud on näidanud nende majanduslikku väärtust põllumajandusele (2). Eelmisel aastakümnel toimunud uuring näitas, et putukate tolmeldamise väärtus tõuseb, ning aastaks 2009 oli tolmeldamisteenuse ülemaailmseks koguväärtuseks ligi 350 miljardit Ameerika dollarit aastas (23).

Meemesilased (*Apis mellifera* L.) on põllumajanduse jaoks väga olulised tolmeldajad. Rohkem kui 75% 115 juhtivast põllukultuurist kogu maailmas sõltuvad tolmeldamisest või saavad sellest suurt kasu. Mesilased vastutavad ligikaudu 70% kogu maailma põllukultuuride tolmeldamise eest. Kui väheneb mesilaste arvukus, siis on sellel ka tõsised majanduslikud tagajärjed (24).

Lisaks tolmeldamisteenusele kaasneb mesilaste ja mesindusega ka hulk mesindussaadusi. Mesindussaaduseid kasutatakse mitmel viisil: mesilasvaha erinevates tehnoloogiates, mesi toiduna ja ka meditsiinis. Samuti taruvaik, õietolm, mesilasmürk ja mesilasema toitepiim (25).

1.1.3. Muud tolmeldajad

Liblikad on tuntud kui ainult mõnevõrra tõhusad tolmeldajad (26) või tõhusad ainult teatud taimeliikide jaoks (27). Mõned autorid peavad neid ka nektari varasteks, sest liblikad korjavad tavaliselt vaid väikeseid õietolmu koguseid (28). Teised autorid (29)(30) aga ei ole nõus ning väidavad, et liblikad mängivad tolmeldamisel olulist rolli, kuid uuringuid, mis näitavad liblikate tõhusust tolmeldajatena, ei ole piisavas koguses. Kõigi lilleküllastajate seas on liblikad pälvinud kõige vähem tähelepanu (31).

Koid on rikkalikud lilleküllastajad, kes on võimelised tolmeldama erinevaid taimeliike, millest mitmed on spetsialiseerunud koide tolmeldamisele (nt teatud orhideed). Koide rolli tolmeldajatena tõenäoliselt alahinnatakse tänapäeval, sest on olemas vaid piiratud arv uuringuid koide tolmeldamise kohta (32). Koisid peetakse, nagu ka liblikaid, kahjurputukateks, kes hävitavad põllukultuure. Näiteks 90-ndatel aastatel oli peetud teemantkoid (*Plutella xylostella*) üheks maailma suurimaks ristõieliste taimede hävitajaks, mille haldamise aastane kulu oli hinnanguliselt 1 miljard Ameerika Ühendriikide dollarit (33).

Lisaks aitavad taimi tolmeldada ka mitmed muud putukad, kes tahtmatult kannavad õietolmu oma kehaosadel ühelt taimelt teisele, sealhulgas ka loomad ning muud olendid, kellele võib samuti mingil viisil õietolm külge jääda.

1.2. Tolmeldajate arvukuse langus ja võimalikud põhjused

Tolmeldajate arvukuse langusel on mitmeid põhjuseid, mille seas on nii muutused maakasutuses, saaste (sealhulgas ka pestitsiidide kasutamine), kliimamuutused, invasiivsed võõrliigid, ning erinevate faktorite koostoime (3). Järgnevalt kirjeldatakse tolmeldajate arvukust mõjutavaid faktoreid. Järjekord pole valitud nende tähtsuse/osakaalu järgi.

1.2.1. Muutused kliimas ja maakasutuses

Kliimamuutuste mõju on raskem mõista, sest selle komponente on mitu ja nende tagajärjed on mõnikord vastupidised. Olles organismid, mis ei reguleeri oma temperatuuri, soodustab putukaid üldiselt temperatuuri tõus; kiiremini arenedes võivad nad näiteks mitmekordistada põlvkondade arvu aastas või isegi laiendada oma geograafilist ulatust. Samas tuleb märkida, et nad on ka tundlikumad termiliste šokkide ja kuumalainete suhtes, eriti kui temperatuurid ületavad surmavaid künniseid. Globaalne soojenemine on seotud süsinikdioksiidi kontsentratsiooni suurenemisega, mis kaudselt toob kaasa taimede toiteväärtuse halvenemise, millel on negatiivne mõju taimtoiduliste putukate ellujäämisele. Intensiivsemad põuad on putukatele kahjulikud, muutes nad läbikuivamise suhtes tundlikumaks. Ulatuslik metsatulekahju pärast põuaperioode ja kõrgeid temperatuure hävitab suured putukatele soodsad elupaigad (näiteks Vahemere kliimapiirkondade metsad). Vastupidi, tormide intensiivsuse suurenemine toob kaasa surnud puidu koguse suurenemise, mis aitab kaasa metsaputukate bioloogilise mitmekesisuse säilimisele (3).

Putukate vähenemise üheks põhjuseks on pakutud nende elupaikade halvenemist või hävimist. Põllumajanduslikuks kasutuseks või linnapiirkondade laiendamiseks mõeldud looduslike alade muutmine toob kaasa looduslikult metsastatud pinna pideva vähenemise (kadu umbes 5 miljonit hektarit aastas kogu maailmas (34)), rohumaade (70% on kadunud arenenud riikides (35)) ning märgalade (üle 85% hävitatud (36)) osakaalu vähenemise kogu maailmas. Kuid metsad, mis katavad sageli väga suuri pindu, mis koosnevad pikaajalistest puuliikidest, pakuvad erakordselt erinevaid elupaiku, mis kaitsevad paljusid putukaliike, eriti surnud puidus elavaid mardikaid (Prantsusmaal 3000 liiki). Samamoodi on rohumaal elupaikade kadumisel kahjulikud tagajärjed liblikate arvukusele ja mitmekesisusele ning tolmeldavatele putukatele (eelkõige kiletiivalistele *Hymenoptera*). Järvede, tiikide ja jõgede kuivamine vähendab putukate joogivee ressursse. Lisaks putukatele soodsate elupaikade pindala vähenemisele mõjub negatiivselt ka näiteks suurte põldude ja transpordiks mõeldud infrastruktuuride loomine. Elades väiksemates ja isoleeritumates elupaikades, mis on halvemini ühendatud kaduvate ökoloogiliste koridoridega (hekid, rohumaaribad), kipuvad putukate populatsioonid ressursside puudumise või vähenemise tõttu välja surema (3).

1.2.2. Saaste

Väetiste ebakorrekne kasutamine põllumajanduses võib tuua kaasa taimtoiduliste putukate mitmekesisuse vähenemise, kuna toimub taimestiku liigirikkuse vähenemine (näiteks üleväetamise tõttu) (3). Taimestiku muutus toob kaasa ka tolmeldajatele vajaliku ressursi vähenemise. Õhusaaste mõjutab ka putukaid, nagu ka valgusreostus, eriti linnades, sest kunstlikud valgusallikad toimivad putukatele püünistena (3).

Ehkki õhusaaste mõju inimeste tervisele on hästi uuritud, ei ole õhusaaste mõjud looduslikele isenditele, sealhulgas neile, kes pakuvad hädavajalikke ökosüsteemi teenuseid, enamasti teada. Rahvaarvult teine riik India on maailma suurim puuviljatootja, ning ühtlasi ka kümnest 9 kõige saastatumat linna maailmas asub just selles riigis. (37). Aasia hiidmesilasi *Apis dorsata* on uuritud erineva õhusaaste tasemega kohtades Bangalores, Indias. Täheledatai märkimisväärset korrelatsiooni suurenenud sissehingatava hõljuvate tahkete osakeste (RSPM - *Respirable Suspended Particulate Matter*) sadestumise ja mesilaste ellujäämise ja paljude teiste mõõdetud parameetrite vahel. Samades tingimustes olnud laboratoorselt kasvatatud harilik puuviljakärbes *Drosophila melanogaster* tulemused näitasid samuti sarnaseid molekulaarseid ja füsioloogilisi erinevusi (37).

Aromaatsed süsivesinikud (*Floral hydrocarbons*) annavad olulisi signaale tolmeldajate ligimeelitamiseks (38). Niipea kui need atmosfääri satuvad, hävitatakse süsivesinikud keemiliste reaktsioonide kaudu, milles osaleb selline saasteaine nagu osoon. Seetõttu on tõenäoline, et suurenenud õhusaaste häirib neid signaale (38). McFrederick jt (38) tulemused näitasid, et õhusaaste kontsentratsiooni dokumenteeritud suurenemine tööstuseelsest ajast tänapäevani võib viia lenduvate ühendite kontsentratsioonide vähenemiseni, mida putukad õisi tolmeldades tuvastavad. Kaugus allikast, kust tolmeldajad suudavad lõhnu tuvastada, võib praeguse aja saastatumates oludes muutuda võrreldes tööstuseelse ajaga kilomeetrite pealt <200 meetrini. Õiesignaalide suur vähenemine saastunud õhumassides võib avaldada olulist mõju nii tolmeldajatele kui ka signaalitaimedele. Kui õitelaigud on tolmeldajate poolt nähtavast distantsist kaugemal, näiteks killustatud maastikul, võib lõhnasignaalide kadumine tähendada, et tolmeldajad kulutavad rohkem aega sobilike kohtade otsimiseks ja vähem toidu korjamiseks. See tolmeldajate korjetõhususe langus vähendab samaaegselt tolmeldajate paljunemisvõimet ja õistaimede õietolmu voogu (38).

Pestitsiidid jätavad endast jääke, mis võivad saastada nii pinda, õhku, kui ka veekogusid. Pestitsiidide väärkasutamine muutub üha tõsisemaks probleemiks, kuna tulemuseks on suur keskkonnareostus (39). Aastast 1960. on järeldatud suuri muutusi pestitsiidide kasutamises (39). Õhu, veekogude ja pinnase pestitsiidireostus on Hiinas viimastel aastatel olnud tõsiseks probleemiks (39). Riikliku veekvaliteedi hindamise programmi (*NAWQA – National Water-Quality Assessment*) teave näitab, et pestitsiidid on ojades ja põhjaveedes laialt levinud (40). Gilliom jt (40) oma uuringust leidsid, et enamik keskkonnas leiduvaid pestitsiide esineb tavaliselt segudena. Üheks tulemuseks oli ka see, et peaaegu igast kogutud veeproovist leiti üks või mitu pestitsiidi. Pestitsiidide kasutamise mustrite analüüs näitas, et herbitsiidide ja insektitsiidide kontsentratsioon põllumajanduslikes veekogudes ja enamikes jõgedes oli kõrgeim piirkondades, kus põllumajandus oli kõige intensiivsem (40). Kuna tolmeldajad tarbivad vett erinevatest allikatest, siis on suur tõenäosus, et nad võivad pestitsiididega kokku puutuda, võttes vett saastatud veekogudest. Tang jt (41) leidsid oma katses, et 64% kogu maailma põllumajandusmaast (umbes 24,5 miljonit km²) on pestitsiidide saasteohus rohkem kui ühe toimeaine poolt ja 31% on kõrge riskiga. Kõrge riskiga piirkondadest on umbes 34% suure bioloogilise mitmekesisusega piirkondades, 5% veepuudusega piirkondades ja 19% madala ja keskmise sissetulekuga riikides. Leiti, et Lõuna-Aafrika, Hiina, India, Austraalia ja Argentiina vesikonnad on eriti murettekitavad piirkonnad, kuna neil on kõrge pestitsiididega saaste oht, suur bioloogiline mitmekesisus ja veepuudus (41).

1.2.3. Erinevate faktorite koostoime

Tõenäoliselt puutuvad tolmeldajad oma elu jooksul mitmesuguste stressifaktoritega kokku. Erinevate faktorite koostoimel on mõju tolmeldajate erinevatele näitajatele aga veel suurem või lihtsalt ennustamatu (42).

Mitme stressori koosmõju võib olla teatud juhtudel kahjulikum kui üksiku stressori mõju (43). Mesilased puutuvad sageli kokku pestitsiidide ja muude kemikaalide segudega. Mõnedel, näiteks ergosterooli biosünteesi inhibiitoritel (EBI) fungitsiididel, on iseenesest väga madal toksilisus, kuid need võivad suurendada mõnede püretroidide toksilisust kuni 1000 korda (44). Piperonüülbutoksiidi (toimeaine tugevdaja) lisatakse sageli preparaatidesse

ja see toimib sünergiliselt ka mõnede neonikotinoididega, suurendades aine toksilisust (45). On täheldatud, et imidaklopriid ainuüksi halvendab haistmisõpet (8). Kombineeritud kokkupuude imidaklopriidi ja kumarofossiga toob aga kaasa meemesilaste õppimisvõime, haistmisõppe ja mälu halvenemise ning suremuse suurenemise (9).

Mitmed hiljutised uuringud on näidanud, et pestitsiidide ja patogeenide vaheline koosmõju võib olla mesilastele eriti kahjulik (46)(47). Näiteks imidaklopriid võib toimida koostoimes *Nosema* spp.-ga, suurendades *Nosema* infektsiooni levikut tarudes (48) ja suurendades *Nosema* poolt põhjustatud suremust (7). Aufauvre jt näitasid (49), et meemesilaste suremus oli suurem, kui mesilased puutusid kokku insektitsiidiga fiproniil ja nakatatusid *N. ceranae*'ga, võrreldes sellega, kui esines ainult üks stressitegur. Di Prisco jt (50) leidsid, et kokkupuude klotianidiini või imidaklopriidiga põhjustab meemesilaste immunosupressiooni, mis omakorda soodustab deformeerunud tiiva viiruse (DWV – *Deformed Wing Virus*) replikatsiooni putukatel. Seda mõju tuvastati väga madalatel kontsentratsioonidel, mis on tunduvalt väiksemad kui need, millega mesilased tõenäoliselt välitingimustes kokku puutuvad. Rinkevich jt (51) oma katses leidsid, et varroalest (*Varroa destructor*) ei suurendanud mesilaste tundlikkust insektitsiidide (nagu fenotriin, amitraas) suhtes ja isegi vähendas tundlikkust klotianidiini suhtes. See fakt oli ootamatu, kuna on dokumenteeritud, et varroa nakatumisel on füsioloogilised aspektid, mis on olulised pestsiidi tundlikkuse seisukohast (51). Teine uuring näitas, et *V. destructor*'i ning imidaklopriidi koosmõju vähendab mesilaste lennuvõimekust ning et stressorite mõju koos on palju suurem, kui iga stressori mõju eraldi (52).

Tolmeldajate võimet parasiitide infektsioone üle elada ohustab toitumisalane stress. Näiteks üks levinuim kimalaste parasiit *Crithidia bombi* põhjustab väikest suremust hästi toidetud kimalastel, kuid muutub piiratud toitumisega kimalastel virulentseks (53). Suurenenud toidutarbimine nakatunud mesilastel võib samuti suurendada kokkupuudet pestitsiididega. On näidatud, et halvenenud õppimisvõime (mida võivad põhjustada pestitsiidid) nii meemesilastel (54) kui ka kimalastel (55) vähendab mesilaste võimet leida ressursse, suurendades seeläbi toitumisalast stressi.

1.3. Pestitsiidide leiud mesindussaadustest

Üheks peamiseks tolmeldajate suremuse põhjuseks peetakse just pestitsiidide kasutamist (4). Mitmed uuringud näitavad, et pestitsiidide jääke leidub erinevates mesindussaadustes. 2017 aastal oli läbi viidud katse, mille raames koguti Seychelle saartelt materjali 21 mesilast, et selgitada välja pestitsiidide olemasolu. Tulemusena leidis pestitsiidide jääke kõikidest mesilastest. Mee sees avastati 9 keemilist jääki. Suurimate keemiliste jääkidega meeproovis oli 8 jääki, kõige vähem saastunud kahel proovil oli 3 jääki. DEET ja imidaklopriid olid kõige sagedamini avastatud insektitsiidid ning neid avastati vastavalt ligi 95% ja 86% analüüsitud meeproovidest. Karbendasiim ja metalaksüül olid kõige sagedamini avastatud fungitsiidid mee sees, vastavalt ligi 90% ja 76%. Asoksüstrobiin, karbarüül ja kumarfoss olid samuti sagedasti leitavad mees (56).

Õietolmu ei leitud igast uuritavast mesilast, kuid kõik analüüsitud õietolmuproovid olid saastunud, õietolmuproovides avastati 12 pestitsiidi. Suurimate keemiliste jääkidega õietolmuproovis oli 11 jääki, samas kui kõige vähem saastunud proovidel oli 9 jääki. Insektitsiidid DEET, imidaklopriid, kloropüriifoss, diasinon ja karbosulfaan avastati 100% analüüsitud õietolmu proovidest. Heksütiasoksi, atsetamipriidi ja dimetoaati avastati ligi 33% proovidest. 100% analüüsitud õietolmuproovidest avastati 3 fungitsiidi (karbendasiim, asoksüstrobiin ja metalaksüül), samas kui heksakonasooli avastati ligi 83% proovidest (56).

2007. ja 2008. aastal Ameerikas analüüsisiti õietolmu (kokku 320 suira- ja õietolmukoguritega kogutud õietolmu proovi), 238 vaha- (mis on saadud peamiselt mesilasperede haudmealalt), 34 haudme- ning 106 täiskasvanud mesilase proovi pestitsiidide jääkide uurimiseks (4).

749 proovi sisaldasid 118 erinevat pestitsiidi ja metaboliiti; kokkuvõttes 4894 jääki, millest 748 olid süsteemsed ja keskmiselt esines 6,5 leidu proovi kohta. 259 vahaproovist leiti 87 pestitsiidi ja metaboliiti, kus ühes proovis kuni 39 erinevat tuvastamist, keskmiselt ühes proovis 8 erinevat pestitsiidijääki. Analüüsitud 350 õietolmuproovis tuvastati 98 pestitsiidijääki, kus ühes proovis leiti kuni 31 erinevat jääki ning igas proovis oli keskmiselt 7,1 erinevat pestitsiidijääki. Mesilastest tuvastati vähem jääke (keskmiselt 2,5 jääki iga proovi kohta), maksimaalselt 25 ühes proovis. Ainult ühes vaha-, kolmes õietolmu- ja 12 mesilasproovis ei tuvastataud pestitsiidijääke (4).

Viise, kuidas pestitsiidjäägid mesindussaadustesse jõuavad, on mitmeid. Fischer ja Moriarty (57) leidsid, et taimelehtedele kantud pestitsiididega on mesilastel sama suur nii kontaktne kui ka oraalne kokkupuude, samuti ka saastunud õietolmuga, nektari ja töödeldud toiduga (nt suiraga, meega ja mesilaspiimaga) kokkupuude. Süsteemsete ühendite (mida kasutatakse seemnete töötlemisel, mulla kastmisel või paagisegudes) puhul on kõige olulisem kokkupuuteviis õietolmu, nektari ja töödeldud toidu (nt suira või mesilaspiima) oraalsel manustamisel (57). Muud potentsiaalsed kokkupuuteviisid hõlmavad saastunud joogivett ja tarumaterjali (nt saastunud meekärg) ja ainete sissehingamist (57). Mitte *Apis* sugukonda kuuluvate tolmeldajate jaoks on ainulaadseks potentsiaalseks kokkupuuteviisiks saastunud pinnas (üksikute maapinnal pesitsevate liikide ja koobastes pesitsevate liikide puhul, kes kasutavad kärjekannude vaheseinte ehitamiseks muda) ning kokkupuude pritsitud lehtede ja pesamaterjaliga, mis võivad samuti olla saastunud (57).

1.4. Pestitsiidide mõjud looduslikele tolmeldajatele

Nii kasulikel putukatel kui ka kahjuritel tuleb kokku puutuda paljude erinevate pestitsiididega. Põllumajanduses kasutatakse peamiselt fungitsiide, herbitsiide ja insektitsiide. Määratluse kohaselt on põllukultuuride kahjurite (taimtoiduliste putukate) vastu võitlemiseks 20. sajandil välja töötatud keemilised insektitsiidid, kuid nende spetsiifilisuse puudumine (lai toimespekter) on toonud kaasa paljude sihtrühma mittekuuluvate putukate suremuse (3). Viimastel aastakümnetel on mesinikud märganud muutusi oma mesilaste käitumises. Näiteks täheldati nii tööliste, kui ka mesilasemade suurenenud hukkumist. Järeldati, et põhjuseks sellele oli põllumajanduses kasutatav pestitsiid neonikotinoid (5). Tänu teadustöödele on siiski mitmed tolmeldajatele kahjulikud pestitsiidid (nagu näiteks neonikotinoidid) tänaseks päevaks Euroopa Liidus keelustatud (3). Insektitsiidid võivad põhjustada putukate vähenemist isegi subletaalsete annuste korral, sest need häirivad putukate käitumist, toitumist, reproduktsiooni ja lisaks võib putuka immuunsüsteem nõrgeneda (3).

Kokkupuude pestitsiididega võib olla surmav või subletaalne, millel on krooniline kahjulik mõju üksikule tolmeldajale ja ka kogu perele. See, mida pestitsiidid tolmeldajatele teevad, ei mõjuta mitte ainult nende tervist ja eluiga, vaid ka nende võimet koos toimida (58).

Korjemesilased võivad kokku puutuda mitmete pestitsiididega, mida näiteks pihustatakse otse põllukultuuridele, sealhulgas õitsvatele taimedele. Seega võivad korjemesilased kannatada mitme pestitsiidi kombinatoorse mõju all. Kokkupuude pestitsiidide ja nende segudega võib põhjustada mesilaste suurt suremust, samas kui madalal tasemel on pestitsiididega kokkupuudet seostatud mesilaste käitumise muutustega, nagu näiteks korjeefektiivsuse vähenemine ja mesilasperedes mesilasema tootlikkuse langus (59). Kokkupuude kontsentratsioonidega, mida võib leida õistaimede õietolmust ja nektarist, mõjutab nii looduslikke kui ka majandatud mesilaste õppimisvõimet ja mälu ning võib halvendada mesilaste võimet leida nektari ja õietolmu ressursse ning neid pesasse tagasi viia (60). Õietolmu korje tõhususe halvenemine suurendab mesilasperede nõudlust toidu järele. Pestitsiididega kokku puutunud mesilaspered ei suuda koguda nii palju õietolmu kui terved mesilaspered, sest pestitsiididega kokku puutunud töölisemesilased on õietolmu kogumisel põllul oluliselt vähem tõhusad ning tulemuseks on töölisemesilaste juurdekasvu vähenemine (61). Pestitsiididega kokku puutunud mesilasperedes võib väike osa vastsetest ja nukkudest ellu jääda. Kuid noortel isenditel, kes ellu jäävad, on suur oht surra mõne päeva jooksul pärast koorumist. Lisaks võib putukate arenemine pärast kokkupuudet pestitsiididega vähendada täiskasvanud mesilaste saagikoristusvõimet ja eluiga (62). Sotsiaalsete mesilaste puhul võib mesilaspere mingil määral kompenseerida korjemesilaste kadumist või toidu tarbimise vähenemist, värvates täiendavaid korjemesilasi. Kuid nagu meemesilaste puhul on täheldatud, ei ole need äsja värvatud mesilased nii tõhusad kui kogenud korjemesilased (63). Seega, kui mesilaspere puutub pestitsiididega kokku pikemat aega, võib juhtuda, et mesilaspered jäävadki väikeseks ning ei saavuta piisavat suurust, et toota reproduktiivseid mesilasi või elada üle karme tingimusi. Mesilasperede demograafia tõsine tasakaalustamatus võib kaasa tuua ka mesilaspere kokkuvarisemise (63).

Stanley jt (64) katses leiti, et kimalaste pered, mis puutusid kokku neonikotinoidide kontsentratsioonidega, pakkusid vähem tolmeldamisteenust, mis oli tõenäoliselt tingitud korjajõu üldisest vähenemisest. Pestitsiidid ei mõjuta mitte ainult korjemesilasi, töölisi ja hauet, vaid ka isaseid. Suurem osa isaseid ei ela suguküpsuseni pärast kokkupuudet pestitsiididega isegi väga madalal tasemel (65). See võib mitte ainult vähendada üksikute mesilasperede sigivust, vaid võib mõjutada ka populatsioonitaseme geenivoogu ja geneetilist mitmekesisust, mis on mõlemad tuntud kui mesilaste tervise võtmekomponendid (65).

Thompson (66), kes uuris dimetoaadi mõju kimalastele, leidis, et kimalase kehamassi ja pestitsiidi vastupanuvõime vahel esineb seos – keskmise suurusega kimalastel (0,168 – 0,285 g) on sarnane LD₅₀ dimetoaadi suhtes, kuid väiksematel isenditel (0,162 g) on see madalam ja suurematel (0,297 g) on see kõrgem. Sellest võib järeldada, et erineva suurusega kimalastel on erinev LD₅₀. Dimetoaadi suurt toksilisust on tõendatud mesilastele ja teistele tolmeldajatele (66).

Thompson (66) vaatles neurotoksiliste putukamürkide mõju putukate reproduktiivsele käitumisele ja jõudis järeldusele, et kõik insektitsiidide klassid, sealhulgas putukate kasvu regulaatorid, vähendavad järglaste tootmist. Mesilaste puhul võib haudme ja uute mesilaste arvu vähenemine olla perede ellujäämisele kahjulikum kui korjemesilaste kadumine; korjemesilasi asendatakse kiiresti, kui hauet ja ammesilasi on piisavalt (66). Pestitsiididega kokkupuutumise mõjud pere ellujäämisele varieeruvad sõltuvalt alternatiivse korje tasemest, s.t. nektari voolust peresse. Raskemad mõjud ilmnevad madalate nektarivoolude ajal, kui peres on vähem toitu (66). Vähesel alternatiivse korje puhul täheldati suuri mõjusid kärje tootmisele, munemisele ja korjele dimetoaadiga töötlemisel (66). Paljudes töödes on uuritud lühiajalist mõju perede arengule ja ellujäämisele. Uuurida pikemaajalist ellujäämist, nt üle talve, on tähtis, kuid sellega tegeletakse harva. Karbofuraaniga töödeldud pered elasid suve üle, saades märkimisväärselt vähem täiskasvanud mesilasi, kuid talve isendid üle ei elanud (66).

Pestitsiidid võivad mõjutada nii perede mesilasema staatust (tema olemasolu ja tema võimet feromoonide vabanemisega vältida uute emade edasist kasvatamist) kui ka mesilasema võimet munedada (66). Thompson (66) refereeris, et katses kokkupuutunud karbofuraani, diflubensurooni ja metüülparatiooni sisaldavate pestitsiididega peredes surid enamus mesilasemadest viimastena, mis viitab sellele, et need ained pole mesilasperedes süsteemsed (66). Kimalasemad surid, kuna pestitsiididega kokku puutunud peredes oli vähenenud kaasabiliste töölistemesilaste arv (66). Kokkupuude asefaadi, dimetoaadi ja fentiooniga põhjustas perede mittevõimekust taas toota kimalasema. Väga madalate tsüpermetriini annustega (80%) kokkupuutunud peredes oli aseemakuppude määr statistiliselt oluliselt suurem kui kontrollgruppidel (30%) (66).

Fungitsiide peetakse tavaliselt mesilastele ja kasulikele putukatele vähem ohtlikumaks, kuid ka need on ohtlikud. Näiteks kaptaan ja propikonasool võivad avaldada erinevaid negatiivseid mõjusid (67). Erinev võib olla nii kontaktse kui suukaudse manustamise mõju. Propikonasool ei avaldanud kontaktsele toksilist mõju katsealustele mesilasliikidele *O. lignaria* ja *A. mellifera*, kuid see mõjutas oluliselt mõlema liigi ellujäämist oraalset manustamise korral (67), kuid ohtlikkuse koefitsient (*Hazard Quotient*) jäi ohtlikkuse künnisest allapoole. Seetõttu ainuüksi seda fungitsiidi ei peetud kahele mesilasliigile ohtlikuks, kuid märgiti, et selle kasutamist tuleks ära jätta nektari kättesaadavuse perioodil (67). Lisaks täheldati subletaalset mõju *O. lignaria* mesilasemade pesitsemisele pärast propikonasooli kasutamist paagisegus pindaktiivse aine ja väetisega (67). Kahe mesilase liigi vahel ilmnis suur erinevus nende vastuvõtlikkuses kaptaanile. Isegi suurte annuste korral ei põhjustanud kaptaan *A. mellifera*'s märkimisväärset suremust, kuid *O. lignaria* puhul oli mõju olemas ja ohtlikkuse koefitsient tõusis märkimisväärselt nende puhul. Kohe pärast kaptaaniga kokkupuudet või oraalset manustamist ilmnisid *O. lignaria* emastel käitumuslikud kõrvalekalded, nagu inaktiivsus, allaneelatud suhkrulahuse oksendamine, suisete, kere ja suguelundite pikenemine. Sarnaseid toimeid ei täheldanud *A. mellifera* töölistel, kes puutusid kokku kaptaaniga (67). Sama uuringu ajal, kui kaptaani ja benomüüli kasutati kirsipuuaias paagisegus, kadusid *O. lignaria* emased mõne päeva jooksul viljapuuaiast täielikult. Leiti ka, et kõik *A. mellifera* vastsed surid ühepäevastena, kui olid kaptaaniga saastunud toitu söönud (67).

Jõgar jt (68) leidsid, et suur-kapsaliblika (*Pieris brassicae* L.) nukkudel 0,001% Neem EC lahus põhjustas katkendliku gaasivahetuse kadumise 2–3 päeva jooksul ning kõikide nukkude surma 21 päeva jooksul. Katse näitas, et katsealused putukad kaotasid rohkem vett ning eeldati, et surm tuli läbikuivamise tõttu.

1.5. Subletaalsete dooside mõju tolmeldajate füsioloogilistele näitajatele

Lisaks tolmeldajate orienteerumisvõimele, kognitiivsele võimele ja paljunemisvõimele on eriti problemaatiline subletaalne pestitsiidide immuunsüsteemi pärssiv toime ja sellest tulenev tolmeldajate suurenenud vastuvõtlikkus patogeenidele. On kahtlustatud, et see on

üks tolmeldajate vähenemise põhjuseid. Kuid täpselt, kuidas pestitsiidid võivad tolmeldajate immuunsust pärssida, on lõpuni uurimatta (69). Kõige levinumad insektitsiidid (fosfororgaanilised ühendid, püretroidid ja neonikotinoidid) on suunatud närvisüsteemile, mis kontrollib organismi autonoomseid funktsioone (südamerütm, hingamine, seedimine jt) (70).

Muljar jt (71) jälgisid oma katses kimalaste ja püretroidi "Fastac 50 EC", milles toimeaineks on alfa-tsüpermetriin, kokkupuute efekti. Oma olemuselt on alfa-tsüpermetriin närvimürk. Märgati metabolismi kiiruse langust karukimalastes (*Bombus terrestris*) pärast 0,004% ja insektitsiidi 0,002% lahusega töötlemist. Suurema kontsentratsiooniga kokkupuutel lõppesid regulaarsed katkendliku gaasivahetuse tsüklid esimese 30 minuti möödudes, samas kui madalama kontsentratsiooni korral muutusi ei täheldatud. Katkendlike gaasivahetuste tsüklite kadumine toimus paralüüsi tõttu, kuna lihaste aktiivsust ei tuvastatud.

Oma katses Karise jt (70) vaatasid bioinsektitsiidide mõju karukimalastele (*Bombus terrestris*) ning ei leidnud muutusi ainevahetuse kiiruses ega hingamismustrites, kuid leidsid, et veekao määr suurenes. Kimalaste hingamise mõjuteguriks oli inertne materjal kaoliin, mis suurendas kutikulaarset veekadu, mis viitab teatud kutikulaarsetele häiretele.

Varasematel aastatel läbiviidud katsetest selgus, et kaoliin ning biopreparaadid Prestop-Mix ja BotaniGard avaldavad subletaalselt mõju kimalastele, nende metaboolsele kiirusele, veekaole ning mõjutavad eluiga putukatel (72). Kokkupuude kaoliiniga suurendas kutikulaarset veekadu ja vähendas ainega töödeldud kimalaste elujõudu, samas kui Prestop-Mix ei avaldanud kimalaste elueale negatiivset mõju. BotaniGard põhjustas kimalaste suremust selles sisalduvate entomopatoogeensete eoste tõttu. Katse andmed näitasid, et inertsete materjalidena ja biotõrjevahendites kasutatavad ained, mida kasutatakse integreeritud taimekaitses ja mahepõllumajandussüsteemides, võivad entomovektoritehnoloogias kasutatavatele kimalastele põhjustada suuri ohte (72).

Pestitsiidid võivad mõjutada ka mesilasemade viljakust (66). *Megachile rotundata* emaste töötlemine püretroidiga (20% LD₅₀-st) põhjustas 6-nädalase perioodi jooksul pärast manustamist 20% vähem munade tootmist. Laboritöötuse uuring väikeste kimalasemadeta

peredega näitas, et imidaklopriid vähendas töölisshaudme tootmist, ehkki see ei mõjutanud vastsete arenguaega (66).

Meemesilastel ei avaldunud neonikotinoidsete insektitsiididega imidaklopriidiga töödeldud mõju perede arengule (haudepindalale), kuid munemise tsükliks ning vastsete ja nukkude arvukuses oli mõningaid erinevusi (66). Pestitsiidide mõju perele võib olla tõsine, sealhulgas mõju kärje tootmisele (mis vähendab haudme kasvatamiseks ja mee hoidmiseks saadaolevat pinda), munemisele, talve üleelamisele, emade asendamisperioodile ja perede tugevusele. Kõigil neil näitajatel võib olla suur mõju perede ellujäämisele (66).

Kui rääkida pestitsiidide mõningatest mõjudest tolmeldajataele, siis näiteks deltametriini subletaalsed doosid häirivad meemesilaste korjelendu (73). Insektitsiid paratioon häirib mesilaste korjetantsu (74). Imidaklorpiid häirib assotsiatiivset õppimist ning kiirendab oksidatiivset metabolismi ajus (8). Kuid uuringud on näidanud, et korrektsete dooside ning realistlikute kokkupuudete korral (välitingimustes) on imidaklorpiidi negatiivne mõju tolmeldajatele minimaalne (75). Propikonasool ja müklobutaniil võivad olla insektitsiidi tsühalotriini sünergistid, mis tekitavad mesilastel negatiivseid kõrvalmõjusid (76). Lisaks subletaalne kokkupuude perimetriiniga pidurdab mesilaste arengut (77).

1.6. Sulfoksafloor ja selle mõjud tolmeldajatele

Sulfoksafloor on süsteemne putukamürk, mis toimib putuka neurotoksiinina ja kuulub kemikaalide klassi, mida nimetatakse sulfoksimiinideks ja mis mõjutavad putukate kesknärvisüsteemi (6). Sulfoksafloor on osutunud tõhusaks paljude taimede mahlast toituvate putukahjurite suhtes (näiteks karilased, täid, tirtsud ja lutikad). On täheldatud, et sulfoksafloor on meemesilastele akuutse kokkupuute korral väga toksiline (6). Sulfoksaflooril on ülemaailmne tähtsus – aastal 2019 oli see registreeritud kasutamiseks 81 riigis (78). Sulfoksafloori võib leiduda tõenäoliselt nektaris ja õietolmus, kuna tegu on süsteemse insektitsiidiga, ning võib seal püsida ka üle 24 tunni pärast taimede töötlemist (66).

Sulfoksafloor on pestitsiid, mis lahustub vees ja kandub pärast taimelehtede või seemnete töötlemist taime kudedesse (79). Sulfoksaflooril, nagu ka neonikotinoididel põhinevaid pestitsiide, saab peale kanda mõlema meetodi abil (pritsimine ja seemnete töötlemine) ning hiljuti on mesilasi ligimeelitavate põllukultuuride (sealhulgas õlikultuuride) seemnete jaoks välja töötatud sulfoksafooril põhinevad tooted. Enamik praegu turustatavatest preparaatidest on siiski pihustatavad (79).

Mesilaste kokkupuudet sulfoksafooriga võib vähendada leevendusmeetmetega, näiteks on Ameerika Ühendriikide ja Euroopa Liidu seadustega keelatud aine pealekandmine põllukultuuridele, mis meelitavad mesilasi õitsemise ajal (79). Paljudes teistes maades aga puuduvad sellised meetmed sageli või piirduakse tootesildi soovitustega. Seemnetöötluste puhul pole sellised meetmed võimalikud (79). Sulfoksafloori mõju saab võrrelda varasemate katsetega, mis keskendusid neonikotinoididega kokkupuutevõimalutsele. Leiti, et sulfoksaflooriga kokku puutunud peredes vähenes koorunud järglaste koguarv 54% võrra võrreldes kontrollgruppidega, mis viitab sellele, et sulfoksafloori kasutamine tõenditel põhinevate õigusaktide puudumisel võib põhjustada sarnaseid keskkonnamõjusid kui neonikotinoidid, kui neid kasutatakse põllukultuuridel, mis meelitavad mesilasi (79).

Taning jt (80) hindasid sulfoksafloori mõju karukimalastele (*Bombus terrestris*). Selle eesmärgi saavutamiseks kasutati kimalasemata mikroperesid, mis olid eelnevalt kasvatatud ja mida kasutati neonikotinoidsete insektitsiidide (imidaklopriid ja tiametoksaam) toksilisuse ja toitumiskäitumise mõju hindamiseks karukimalastel. Pered olid varustatud suhkruisirupiga, millele oli lisatud oraalse kokkupuute korral realistlik sulfoksafoori kontsentratsioon (alates 15 µg/ml kuni 5 ja 1 µg/ml) 15 päeva jooksul. Lisaks kimalastöölise ellujäämise märkimisväärsele vähenemisele näitasid tulemused ka seda, et reaalses kontsentratsioonides sulfoksafloori doosi poolt põhjustatud toksilisus oli sama suur, olenemata sellest, kas käidi korjelennul või mitte (80).

Raine (81) on refereerinud katset, milles koguti loodusest kimalasemasid ja lasid neil pered luua. Ehkki katsetamiseks on mugav kasutada kaubanduslikult kasvatatud peresid, otsustasid autorid kasutada looduslikke peresid – seda võib lugeda heaks otsuseks, kuna see suurendab uuringu ökoloogilist realismi (81). Katse käigus õnnestus kasvatada peresid 52 kimalasemast. Seejärel eraldati paarideks kas kontroll- või pestitsiidiga kokkupuutuvate

gruppide jaoks. Pered toitunud iseseisvalt kahe nädala jooksul kas puhtast suhkrusiirupist või suhkrusiirupist, mis sisaldas 5 µg/kg sulfoksafloori, enne välitingimustesse viimist, et oleks võimalik jälgida kimalaste käitumist ja perede arengut välitingimustes. Leiti, et sulfoksaflooriga kokkupuutel oli oluline ja järjepidev mõju perede kasvu kiirusele, mis ilmnis vaid kahe kuni kolme nädala jooksul põllul (81). Sulfoksaflooriga kokku puutunud pered tootsid vähem kimalastöölisi kui kontrollpered. Samuti said nad 54% vähem sigimisjärglasi. Selle olulise erinevuse taga oli peamiselt toodetud kimalasisade koguarvu vähenemine, kuid see peegeldab ka asjaolu, et kõik 36 uut toodetud kimalasema pärinesid vaid kolmest kontrollperest. (81). Kui kokkupuude neonikotinoidega mõjutab kimalaste õietolmu korjamist (mis põhjustab vastsete piiratud toitumist), ei leidnud autorid tõendeid selle kohta, et sulfoksaflooriga kokkupuude põhjustaks korje produktiivsust (81). Arvatakse, et on võimalik, et perede arenemist varajases staadiumis ja sellele järgnevat paljunemisvõimet võis mõjutada sulfoksafloori toksilisus vastsetele või ka mõni muu kaudne mehhanism (81). Siviter jt (79) näitasid, et kroonilisel kokkupuutel sulfoksaflooriga põllul kasutatavates annustes avaldub karukimalaste (*Bombus terrestris*) peredele tõsine subletaalne toime – pered tootsid vähem kimalastöölisi kui kontrollpered ja lõppkokkuvõttes vähem reproduktiivseid järglasi. Erinevused pestitsiidiga kokkupuutunud ja kontrollperede elutsükli trajektoore vahel ilmnisid esmakordselt siis, kui hakkasid ilmuma pestitsiidiga kokku puutunud vastsetest isendid, mis viitab sellele, et otsene või kaudne mõju väikesele grupile võib avaldada kumulatiivseid pikaajalisi tagajärgi perede tervisele ja vastupidavusele (79). Siviter jt leidsid, et otsust sulfoksafloori kasutada neonikotinoide asendusainena tuleb kaaluda (79).

Siviter jt (78) viisid 2019. aastal läbi veel ühe katse, kus vaadeldi sulfoksafloori mõju kimalaste mikroperedele ning hinnati kroonilise sulfoksafloori kokkupuute subletaalset mõju munemisele, vastsete produktsioonile, munasarjade arengule, suhkrusiirupi tarbimisele ning kimalaste suremusele. Suhkrusiirupi lahused sisaldasid 0, 5, 10 ja 250 µg/kg sulfoksafloori. Autori varasemad katsed näitasid, et kokkupuude 5 µg/kg juures mõjutab negatiivselt perede reproduktiivsust (78). Siviter jt (78) tulemused näitasid, et sulfoksaflooriga kokkupuude 5 µg/kg juures vähendas mikroperedes leitud munade arvu, kusjuures pestitsiidiga kokku puutunud mikropered tootsid ka vähem vastseid. Vaatamata sellele, sulfoksafloor ei avaldanud mõju munasarjade arengule. Sulfoksaflooriga kokku puutunud kimalased tarbisid vähem suhkrusiirupit, mis võib põhjustada munade arvu

täheldatud vähenemist (78). Reguleerivatel asutustel, nagu Euroopa Toiduohutusamet (EFSA – *European Food Safety Authority*), on kasvav nõudlus kaaluda putukamürkide võimalikku mõju metsikutele tolmeldajatele, näiteks kimalastele, kuid madalama taseme katsetel (*lower-tier testing*) võivad subletaalsed mõjud märkamata jääda (78). Sulfoksaflooriga kokku puutunud kimalaste jaoks just sellise efekti kindlakstegemiseks rõhutatakse selles uuringus, et mikroperedel põhinevad uuringud on kasulik variant, mida saaks rakendada ökotoksikoloogia raames (78). Lisaks pakuvad tulemused tõendeid võimalike negatiivsete tagajärgede kohta tolmeldajate kokkupuutel putukamürgiga, mille litsentseerimise protsess jätkub mitmes EL riigis (78).

Liiskmann (82) uuris sulfoksafloori mõju karukimalaste pereliikmete suremusele. Katsetulemused näitasid, et 100% kimalasisadest suri doosi juures, milleks oli 18 µg kimalase kohta. Tööliste puhul saavutati 100 % suremus vaid doosiga 50 µg kimalase kohta. Sulfoksafloori toime ei tõusnud kimalasemade puhul suremus ühegi kasutatud doosi puhul 100 %-ni. Autor väidab, et sulfoksafloor mõjutab suremust nii lühikeses kui ka pikas perspektiivis, kuna LD₅₀ väärtused ajas langesid, näidates, et karukimalased ei suuda sulfoksafloori oma kehast väljutada ega neutraliseerida (82).

2. MATERJAL JA METOODIKA

2.1. Kimalased

Töös kasutati karukimalasi, mis osteti ettevõttest Biobest (Belgia), standard-tarudes. Kunstlikult kasvatatud kimalaste pesad (N=5) sisaldasid endas kimalasemasid, -töölisi ning hluet. Keskmise suurusega kimalastöölised valiti tarudest juhuslikult, kimalasemad telliti eraldi, kimalasisad kasvatati kohapeal. Kimalaste pesad olid varustatud suhkrusiirupiga. Kimalaste pesasid hoiti enne töötlusteid pimedas ruumis toatemperatuuril (ca 23°C).

2.2. Ettevalmistused ja töötlustused

Sulfoksafloor (*Chem service inc.*, 99,7%) osteti puhta toimeainena.

Katsed viidi läbi neljas töötlusgrupis: kontrollgrupp, atsetooniga töödeldud grupp, kimalaste toitumist mõjutava minimaalse sulfoksafloori doosiga grupp ning LD₅₀ töötlusgrupp. Iga töötlusgrupi puhul vaadeldi 10 isendit igast rühmast (emased, isased, töölisisendid).

Kontrollgrupi kimalasi ei töödeldud mitte mingil viisil. Teise töötlusgruppi kuulusid kimalased, kes olid kontaktelt töödeldud atsetooniga. Atsetooni koguseks oli 2 µg kimalase kohta. Atsetoon tilgutati kimalase rindmiku seljaosale. Atsetooniga töötlusgrupp on vajalik selleks, et kontrollida, millist mõju avaldab lahusti putukale, sest sulfoksafloori esmane lahustamine toimub atsetooniga. Kolmandale töötlusgrupile oli teostatud kontaktne kokkupuude sulfoksafloori subletaalse doosiga, milleks oli väikseim kontsentratsioon, millel avaldus statistiliselt oluline mõju karukimalaste toitumisele – emastel 50 µg, isastel 1 µg ning töölistel 5 µg kimalase kohta. LD₅₀ töötlusgrupi puhul oli emastel 178,5 µg, isastel 2,2 µg ning töölistel 11,8 µg kimalase kohta. Kontsentratsioonid olid välja arvutatud eelnevate tööde raames läbiviidud katsete põhjal. LD₅₀ (*median lethal dose*) on doos, mille juures 50%

isenditest sureb. Tööliste ja isastele isenditele tilgutati 2 µl lahust ning emastele 4 µl lahust, nii, et kõik lahused sisaldaksid ülal loetletud doose.

Igal katsepäeval valmistati ette kimalased järgmise päeva mõõtmise tarbeks, mis tähendab, et mõõtmise ajaks olid kimalased olnud töödeldud 24 tundi. Töödeldud või kontrollkimalased olid asetatud spetsiaalsesse puuridesse, mis olid varustatud suhkruisrupit sisaldava süstlaga. Kõikidel kimalastel oli vaba juurdepääs toidule. Puure koos kimalastega hoiti kasvatuskambris 25 C° ning 60% õhuniiskuse juures. Kokku uuriti 120 putukat (40 emas-, 40 isas- ning 40 töölisisendit).

2.3. Katsetöö käik

Katsed viidi läbi 2020. aasta suvel. Sulfoksafloori mõju kimalastele hinnati Eesti Maaülikooli taimetervise õppetooli laboris. Katsepäeva jooksul analüüsiti 10 kindla töötusgrupi kimalast läbivoolu-respiromeetri (LICOR 1000) abil. Kimalane eemaldati puurist ning paigutati kitseneva otsaga plastmasstorusse, peaga kitsama toru otsa poole. Et kimalane ei pööraks ennast ümber ega pääseks välja, suleti toru tagantpoolt vatiga, mis pidurdas kimalase liikumist. Edasi ühendati kimalasega toru respiromeetri õhuvoolu toruga. Torus olev kimalane kaeti musta kilega, mis aitas säilitada kimalase rahulikku seisundit, kuna selliselt tekitatud olukord meenutab pesa, kus on samuti pime. Ühe kimalase parameetreid mõõdeti tund aega. Selle aja jooksul kontrolliti, et õhuvool püsiks +60 (L h⁻¹) juures. Uuriti pestitsiidi mõju kimalaste välja hingatava CO₂ ning H₂O tasemele.

2.4. Andmete statistiline analüüs

Mõõtmistulemuste normaaljaotuse testimiseks kasutati Shapiro-Wilk testi. Töötusgruppide erinevuste võrdlemiseks kasutati dispersioonanalüüsi ANOVA. Analüüsi alla võeti kimalasemade, -isade ning -tööliste süsihappegaasi ning vee eraldumise hulgad.

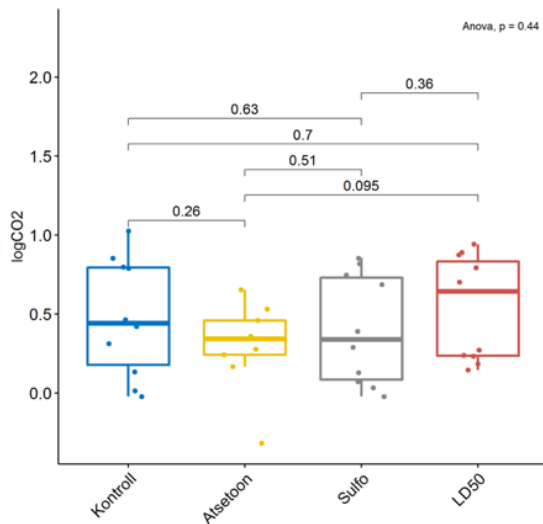
3. TULEMUSED

3.1. Töötluste mõju kimalaste süsihappegaasi eraldumisele

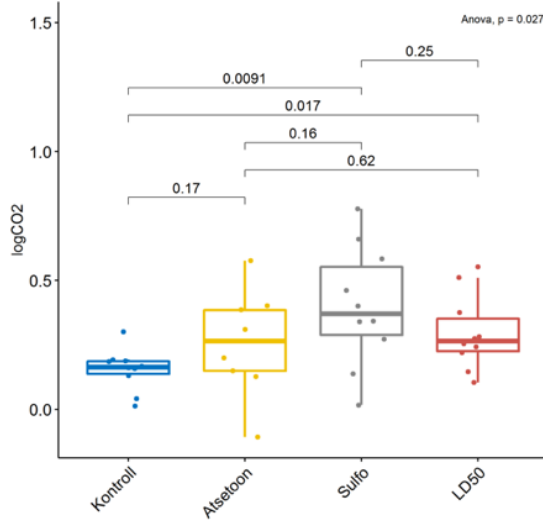
Statistiliselt olulist erinevust süsihappegaasi eraldumise puhul ei tekkinud üle kõigi kimalastööliste töötusgruppide näitajate (joonis 1A): $p=0,44$. Samuti ka töötusgruppide vahel. Kontrollgrupi kimalastööliste keskmine ainevahetuse tase oli $4,1\pm 3,24$ ml h⁻¹. Kimalastööliste keskmine ainevahetuse tase atsetooni doosiga töötuse korral oli $2,3\pm 1,17$ ml h⁻¹. Kimalastööliste keskmine ainevahetuse tase sulfoksafloori LD₅₀-ga töötuse korral oli $4,3\pm 2,85$ ml h⁻¹. Kimalastööliste keskmine ainevahetuse tase toitumist mõjutava doosiga töötuse korral oli $3,3\pm 2,46$ ml h⁻¹.

Statistiliselt oluline erinevus süsihappegaasi eraldumise puhul tekkis üle kõigi kimalasisade töötusgruppide näitajate (joonis 1B): $p=0,03$. Samuti kimalasisade kontrollgrupi ning sulfoksafloori LD₅₀ töödeldud grupi vahel ($p=0,02$) ning kontrollgrupi ja toitumist mõjutava sulfoksafloori doosiga töötusgrupi vahel ($p=0,009$). Kontrollgrupi kimalasisade keskmine ainevahetuse tase oli $1,4\pm 0,27$ ml h⁻¹. Kimalasisade keskmine ainevahetuse tase atsetooni doosiga töötuse korral oli $1,9\pm 0,87$ ml h⁻¹. Kimalasisade keskmine ainevahetuse tase sulfoksafloori LD₅₀-ga töötuse korral oli $2,1\pm 0,76$ ml h⁻¹. Kimalasisade keskmine ainevahetuse tase toitumist mõjutava doosiga töötuse korral oli $2,8\pm 1,54$ ml h⁻¹.

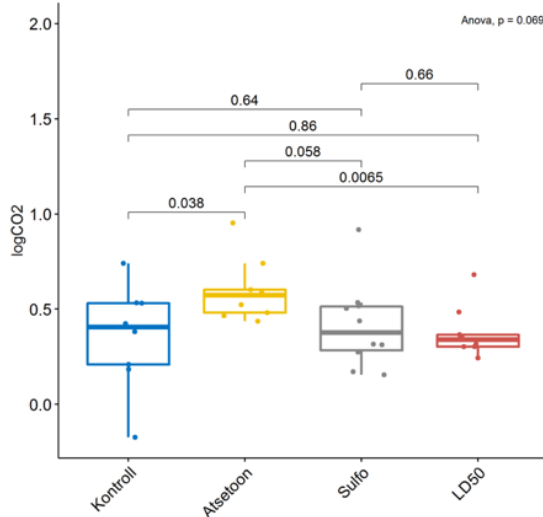
Statistiliselt olulist erinevust süsihappegaasi eraldumise puhul ei tekkinud üle kõigi kimalasemade töötusgruppide näitajate (joonis 1C): $p= 0,07$. Tekkis statistiliselt oluline erinevus atsetooniga töödeldud grupi ning LD₅₀-ga töödeldud grupi vahel ($p= 0,007$). Tekkis oluline erinevus atsetooniga töödeldud ning kontrollgrupi vahel ($p= 0,04$). Kontrollgrupi kimalasemade keskmine ainevahetuse tase oli $2,6\pm 1,4$ ml h⁻¹. Kimalasemade keskmine ainevahetuse tase atsetooni doosiga töötuse korral oli $4,2\pm 1,96$ ml h⁻¹. Kimalasemade keskmine ainevahetuse tase sulfoksafloori LD₅₀-ga töötuse korral oli $2,5\pm 0,94$ ml h⁻¹. Kimalasemade keskmine ainevahetuse tase toitumist mõjutava doosiga töötuse korral oli $3\pm 2,004$ ml h⁻¹.



(A)



(B)



(C)

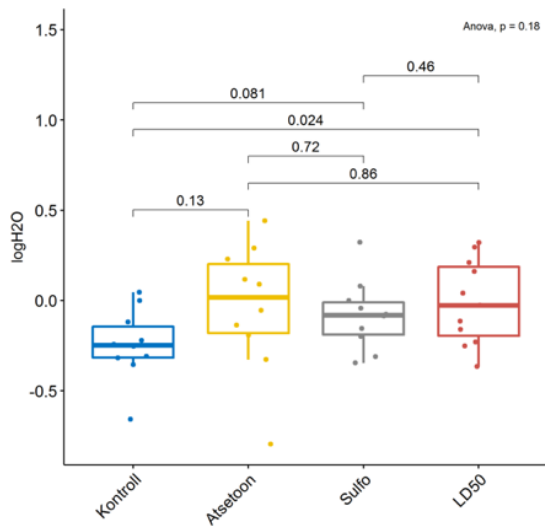
Joonis 1. Süsihappegaasi eraldumine kimalastööliste (A), -isade (B) ning -emade (C) töötusgruppidel. Joonisel on esitatud mediaanid, koos standardvea ja -hälbega. Sõna Sulfo tähistab toitumist mõjutavat doosi.

3.2. Töötluste mõju töötlusgruppide vee eraldumisele

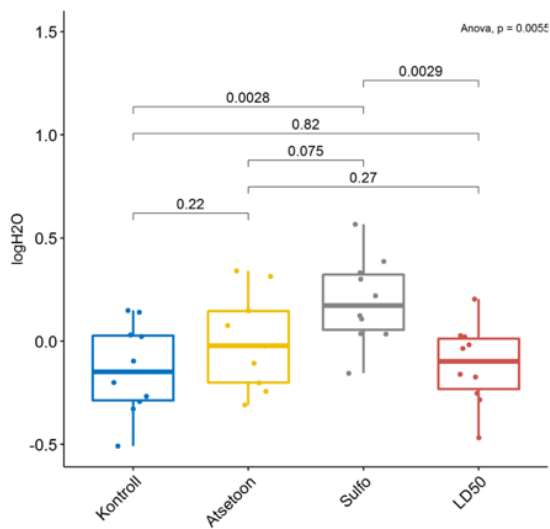
Statistiliselt olulist erinevust vee eraldumise puhul ei tekkinud üle kõigi kimalastöölise töötlusgruppide näitajate (joonis 2A): $p= 0,18$. Tekkis statistiliselt oluline erinevus kimalastöölise kontrollgrupi ning sulfoksaflori LD₅₀-ga töödeldud grupi vahel ($p= 0,024$). Kontrollgrupi kimalastöölise keskmine ainevahetuse tase oli $0,62\pm 0,27 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalastöölise keskmine ainevahetuse tase atsetooni doosiga töötluste korral oli $1,18\pm 0,78 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalastöölise keskmine ainevahetuse tase sulfoksaflori LD₅₀-ga töötluste korral oli $1,11\pm 0,6 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalastöölise keskmine ainevahetuse tase toitumist mõjutava doosiga töötluste korral oli $0,91\pm 0,48 \mu\text{l h}^{-1}$.

Statistiliselt oluline erinevus vee eraldumise puhul tekkis üle kõigi kimalasisade töötlusgruppide näitajate (joonis 2B): $p= 0,006$. Tekkis statistiliselt oluline erinevus kimalasisade kontrollgrupi ning toitumist mõjutava grupi vahel ($p= 0,003$). Samuti ka LD₅₀-ga ning toitumist mõjutava sulfoksaflori doosi töötlusgrupi vahel ($p= 0,003$). Kontrollgrupi kimalasisade keskmine ainevahetuse tase oli $0,82\pm 0,39 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalasisade keskmine ainevahetuse tase atsetooni doosiga töötluste korral oli $1,14\pm 0,63 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalasisade keskmine ainevahetuse tase sulfoksaflori LD₅₀-ga töötluste korral oli $0,84\pm 0,36 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalasisade keskmine ainevahetuse tase toitumist mõjutava doosiga töötluste korral oli $1,74\pm 0,87 \mu\text{l h}^{-1}$.

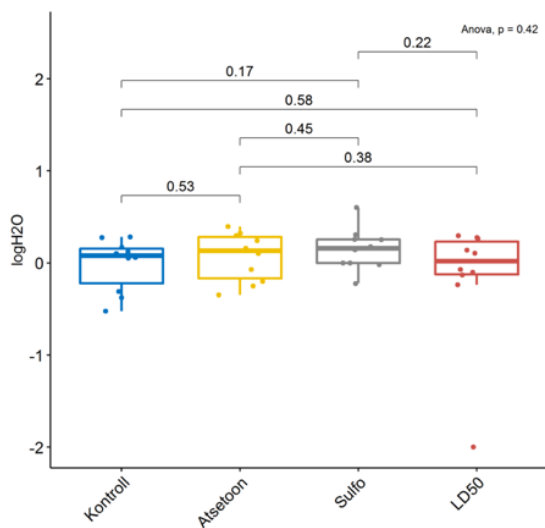
Statistiliselt olulist erinevust vee eraldumise puhul ei tekkinud üle kõigi kimalasemade töötlusgruppide näitajate (joonis 2C): $p= 0,42$. Kontrollgrupi kimalasemade keskmine ainevahetuse tase oli $1,14\pm 0,58 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalasemade keskmine ainevahetuse tase atsetooni doosiga töötluste korral oli $1,4\pm 0,72 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalasemade keskmine ainevahetuse tase sulfoksaflori LD₅₀-ga töötluste korral oli $1,13\pm 0,65 \mu\text{l h}^{-1}$. Kimalasemade keskmine ainevahetuse tase toitumist mõjutava doosiga töötluste korral oli $1,61\pm 0,95 \mu\text{l h}^{-1}$.



(A)



(B)



(C)

Joonis 2. Vee eraldumine kimalastööliste (A), -isade (B) ning -emade (C) töötusgruppidel.

Joonisel on esitatud mediaanid, koos standardvea ja -hälbega. Sõna Sulfo tähistab toitumist mõjutavat doosi.

4. ARUTELU

Antud bakalaureusetöös selgub, et sulfoksafloor avaldab statistiliselt olulist mõju vaid kimalasisade süsihappegaasi emissioonile ning veekaole, samuti ka kimalastöölise veekaole. Kimalasemad osutusid olema kõige vastupidavamad sellele ainele – neile avaldas statistiliselt olulist mõju vaid atsetooniga kokkupuude, kuid mitte sulfoksaflooriga. Eeltoodud faktidest võib järeldada, et sulfoksafloor mõjutab erinevaid kimalasisendeid – emaseid, isaseid ning töölisi – erinevalt.

Gaasivahetuse mõõtmised tuvastavad kergesti erinevusi putukate aktiivsuses. Aktiivsuse muutusi võivad tekitada nii ärritunud olek, soov põgeneda või hoopis surnut teeselda ja ka näiteks paralüüs, kuid on ka võimalik, et pestitsiid suurendab ainevahetuse kiirust kontrollimatu lihaste aktiivsuse tõttu (85).

Muljar jt (71) täheldasid metabolismi kiiruse langust karukimalastes (*Bombus terrestris*) pärast alfa-tsüpermetriini (närvimürgi) lahusega töötlemist. Suurema kontsentratsiooniga kokkupuutel lõppesid regulaarsed katkendliku gaasivahetuse tsüklid, samas kui madalama kontsentratsiooni korral muutusi ei täheldatud. Mõndade indiviidide puhul tõusis ka veekaotase. Katkendlike gaasivahetuste tsüklite kadumine toimus paralüüsi tõttu, kuna lihaste aktiivsust ei tuvastatud (71). Antud bakalaureusetöös aga leiti, et närvimürk sulfoksafloor mõjutab putukate gaasivahetust, kuid ei peata seda, kuna tulemustest võib näha, et süsihappegaasi eraldumine pigem suureneb mõningate isendite puhul. See näitab ainevahetuse tõusu, mis omakorda viitab sellele, et putukatel toimus lihastöö.

Nagu ka antud bakalaureusetöö autor leidis, et närvimürk sulfoksafloor mõjutab putukate lihastööd, nii ka Kivimägi jt (83) leidsid, et närvimürk püretroid põhjustas metaboolse kiiruse suurenemist süsi-ketasjooksikul (*Platynus assimilis*), mis tulenes kõrgemast aktiivsustasemest, kuna putukal toimus aktiivne kõhulihaste töö (*abdominal pumping*). Kuusik jt (84) uurisid 0,1% permetriinilahusega kokkupuute mõju hariliku jahumardika (*Tenebrio molitor*) nukkudele ning täheldasid ainevahetuse kiiruse suurenemist ja

katkendliku gaasivahetuse tsüklite kadu. See närvimürk põhjustas nakkudel ebanormaalset koordinatsiooni ja hüperaktiivsust, millele järgnes surmav neurotoksikoos.

Neurotoksiliste fosfororgaaniliste ainete peamine sihtmärk on atsetüülkolinestras (AChE - *Acetylcholinesterase*), mille füsioloogiline roll on atsetüülkoliini hüdrolyüsimine, mis on kesk- ja perifeerse (autonoomse ja motoorsomaatilise) närvisüsteemi peamine neurotransmitter (85). AChE inhibeerimine põhjustab atsetüülkoliini akumulereerumist kolinergilistes sünapsides koos retseptorite ülestimuleerimisega. Kuna need retseptorid paiknevad enamikes kehaorganites, tekib “kolinergiline sündroom”, mis võib tekitada nii lihastõmbusi kui ka lihaskrampe, samuti mitmesuguseid kesknärvisüsteemile avalduvaid mõjusid (85). Samasuguseid mõjusid võib täheldada ka püretroidide puhul (86).

Antud bakalaureusetöös uuritud sulfoksafloori LD₅₀ sarnane doos suurendas oluliselt kimalasisadel süsihappegaasi eraldumist. Kimalasisade toitumist mõjutav, seega lahjem, sulfoksafloori doos avaldas isendite süsihappe eraldumisele isegi suuremat mõju, kui LD₅₀ doos. Sellest võib järeldada, et madalad doosid mõjutavad kimalasisasid pigem ärritavalt. Samaaegselt suurenes ka veekadu. Süsihappegaasi taseme tõus näitab ainevahetuse taseme tõusu, ning on loomulik, et kõrgema ainevahetuse taseme korral on ka veekadu suurenenud. Atsetoon tõstis kimalasemade süsihappegaasi eraldumise taset, sulfoksafloori doosid seda ei mõjutanud. Sulfoksafloori LD₅₀ suurendas oluliselt kimalastöölise veekadu, kuigi ainevahetuse tasemes oluliselt erinevust ei ilmnenud. Kuna sulfoksafloor on närvimürk, siis võib arvata, et ainevahetuse taseme tõus (süsihappegaasi ning vee suurenenud eraldumine) tulenes suurenenud kimalasisendite lihastööst, mis oli põhjustatud pestitsiidi mõjudest. Suurenenud ainevahetuse tase ja lihastöö ei pruugi olla head näitajad – suurenenud ainevahetus võib tõsta ka toidu- ja veetarbimise vajadust, aktiivsem lihastöö võib aga viidata ka sellele, et putukas on stressi all ning et lihased ei tööta normaalselt, sest lihastöö suurenemine võib tuleneda ka krampidest või tõmblustest, mis lihaseid kontrollimatult tööle sunnivad.

Ka Liiskmanni (82) katsetulemused näitasid, et sulfoksafloor avaldas kimalaspere eri liikmetele erinevat mõju – kõige suuremat mõju avaldas see isaskimalastele, nende suremus oli suurem võrreldes kimalasemade ning -töölistega. Sulfoksafloor vähendas kimalasisade toitumist suurel määral (82). Kimalastöölisi mõjutas sulfoksafloor vähem, kuid nende

suremus oli isaste karukimalastele sarnane. Toitumist mõjutas sulfoksaflor rohkem, kui kimalasisadel. Kimalasemad olid sulfoksaflorile kõige vastupidavamad, ka kõige suuremad pestitsiidi doosid ei mõjutanud eriti suremust, kuid toitumist mõjutas sulfoksaflor ka keskmiste dooside juures. Liiskmann leidis, et sulfoksaflor võib pärssida lihastööd ning seetõttu toitumine langeb (82). Antud bakalaureusetöö autor aga leidis, et sulfoksaflor tõstis putukate ainevahetuse taset. Kuid ainevahetusetaseme tõus ei pruugi tähendada otseselt seda, et putuka seisund oli korras. See võib tähendada ka krampe või tõmblusi, mis on kontrollimatud kõrvalkalded normaalsest lihastööst. Samuti nagu ka Liiskmann oma katses, leidis antud bakalaureusetöö autor putukate vastupidavuse tendentsi – kimalasisad olid sulfoksaflori vastu kõige tundlikumad ning kimalasemad kõige vastupidavamad.

Põhjuseid, miks pestitsiid avaldas erinevat mõju eri kimalaspere liikemetele, on mitmeid. On leitud, et nii kimalasemade, -isade, kui ka -tööliste vastuvõtlikus erinevatele faktoritele (näiteks pestitsiidid, stressi-, kliimatilised jm faktorid) sõltub nende soost, kaalust, immuunsüsteemist, arengujärgust ja ka teistest näitajatest. Thompson (87), kes uuris mesilaste ning kimalaste kokkupuutevõimalusi pestitsiididega ning selle tagajärge, refereeris, et kaalu poolest oluliselt väiksematel ja oluliselt suurematel kimalastel on erinevad LD₅₀ näitajad. Mida väiksem putukas, seda väiksem LD₅₀ näitaja ning vastupidi. Võttes argumendiks antud tulemused, võib arvata, miks antud bakalaureusetöös uuritud kimalaste näitajad varieerusid sõltuvalt pere isenditest. Kimalasema on kõige suurem isend peres (87) ning antud töös selgus, et sulfoksaflor avaldas talle ka kõige vähem mõju, kuna LD₅₀ on tema puhul ka suurem. Thompson (87) pani samuti tähele, et pestitsiidi mõju avaldub juba vastseeas, kuna õietolmus, nektaris ja vahas võib leiduda pestitsiidijääke, mis võivad muuta, peatada või moonutada putukate arengut. Baer jt (88) viisid läbi katse, kus uuriti immuunvastuse varieerumist kimalasisadel ja kimalastöölistel. Leiti, et võrkeha kapseldamisreaktsioonidel, mida kasutati indiviidi üldise immuunsuse taseme mõõtmiseks, on väga varieeruvad näitajad. Kimalastööliste puhul tuvastati kõrget reageerimisvõimet. Leiti, et kapseldamisreaktsioon oli kimalasisadel võrreldes töölistega madalam ja hilisemalt ilmunud liikmetes varasematega võrreldes samuti madalam. Hilinenud paljunemisega peredes oli kimalasisadel kapseldamisreaktsioon madalam. Autorid (88) arvavad, et nõrgem immuunsus ning kaitsemehhanism hiljem ilmunud kimalasisades oli nende lühema eluea tõttu. Dinges jt (89) näitasid, et mesilasisadel on vähem arenenud ohu- ning põgenemisinstitkid, mis omakorda võib viidata sellele, et neil on ka vähem arenenud

närvisüsteem võrreldes töölistesilastega. Antud bakalaureusetöö autor arvab, et samasugust täheldust saab märgata ka kimalasisendite puhul.

Kimalasisade roll on küll tähtis, kuid lühike – nende ainsaks ülesandeks on leida neitsist kimalasema ning see ära viljastada (90). Kuna sellega lõppeb kimalasisade kui pereliikme roll ning pärast oma ülesande täitmist kimalasisad ei naase pesasse tagasi (90), võib arvata, et see on üks põhjustest, miks kimalasisade immuunsus on nõrgem. Ühes katses leiti, et kimalasisad suutsid läbida distantsi, mis ulatus 2-6 km kuni 9,9 km, mis on palju suurem, kui läbivad kimalastöölised (90). See võib samuti tuleneda sellest, et kimalasisad sooritavad vaid ühe lennu, samal ajal kui kimalastöölised sooritavad rohkem lende. Kimalasisad võivad siiski ka rohkem kasu tuua juhul, kui viljastamise kõrvalt nad ka mingil määral suudavad põllukultuure tolmeldada (90). Kimalastöölise väiksem läbitav distants võib vihjata nende paremini arenenud enesealalhoiuinstinktile, sest liiga suur distants oleks nende jaoks ohtlikum, kuna kaugemale lennates on suurem tõenäosus tõmmata vaenlaste tähelepanu, lisaks oleks see liiga energiakulukas (90).

Rääkides veel immuunsüsteemist, siis Goulson (91) pani tähele, et kimalastöölistel, kes korjel käivad, on immuunsüsteem nõrgem võrreldes nendega, kes korjel ei käi ning kes tegelevad ainult pesade korrastamise ja perede eest hoolitsemise töödega. Thompson (66) leidis, et kokkupuutel karbofuraani, diflubensurooni ja metüülparatiooni sisaldavate pestitsiididega mesilasemad surid populatsioonis viimastena. Põhjuseks oli aga see, et pestitsiididega kokku puutunud peredes oli vähenenud kaasabiliste töölistesilaste arv. Võib arvata, et mesilasemadel on pestitsiididele parem vastupanuvõime, kuna nad püsisid elus kauem, kui teised pere isendid, ning peamiseks suremise põhjuseks oli abiliste puudumine. Antud bakalaureusetöö autor arvab, et samasugust tulemust saab täheldada ka kimalasisendite puhul.

Sulfoksafloori kasutamise aega tuleb hoolikalt valida, kuna kimalased on aktiivsed varajastest hommikutundidest hilisõhtuni, varakevadest sügiseni. Kimalased lendavad varieeruva ilmaga, temperatuuride vahemikus 10-35°C, kimalasemad on suutelised lendama alates 2°C (91). Peale talvitumist, varakevadel, alustab kimalasema pere loomise tsüklit üksi, mistõttu on ta alguses pikka aega pere ainus liige (14). Seega tuleb kevadel pestitsiidide kasutamisega seonduvaid otsuseid eriti hoolikalt kaaluda, kuna mitteläbimõeldud

kasutamise puhul võib hukkuda kimalasema, mis omakorda tähendab, et hukub ka kogu perekond, sest see jääb lihtsalt loomata.

Sulfoksafloori sisaldavate pestitsiidide pealekandmise aeg, viis, kogus ja teised aspektid suuresti sõltuvad põllukultuurist, millele seda pestitsiidi soovitakse peale kanda (92)(93)(94). Seega on eriti tähtis jälgida tolmeldajate elutsüklit ja viia see kokku pestitsiidi pealekandmisega. Kimalaste, nagu ka meemesilaste, puhul on oluline teha kindlaks, millisel määral korjel käivad putukad ja ka teised isendid pestitsiidiga kokku puutuda võivad, kui suurel määral võivad pestitsiidi jäägid nektarisse ja õietolmu sattuda. Samuti tasub teada, kuidas muutub pestitsiidi kontsentratsioon tarus aja jooksul, millised kontsentratsioonid vähendavad oluliselt kimalasema viljakust, haudme kasvatamise edukust, pereliikmete ellujäämist ja pere tugevust üldiselt (57).

Et vältida olukorda, kus pestitsiidid, nagu neonikotinoideid, asendatakse sarnaste toodetega, peaksid reguleerivad asutused liikuma tõenditel põhineva lähenemisviisi poole, milles hinnatakse uudsete insektitsiidide, näiteks nagu sulfoksafloori, surmavaid ja subletaalseid tagajärgi mittesihtrühmadele ja stimuleerima integreeritud kahjuritõrje lähenemisviise enne toodete kasutamiseks lubamist/litsentseerimist (79).

Võttes kokku antud bakalaureusetöö ning teiste autorite uuringute tulemused, võib järeldada, et sulfoksafloor on karukimalastele potentsiaalselt ohtlik. Seega võib arvata, et sulfoksafloor ei pruugi olla heaks asenduseks varasemalt kasutuses olnud neonikotinoideidele. Kuid tulevikus tasub siiski veel tegeleda selle uudse pestitsiidi uurimisega, vaadeldes selle mõju ka teistele olulistele tolmeldajatele ning nende erinevatele elujõulisust mõjutavatele näitajatele. Samuti tasub uurida sulfoksafloori koosmõju teiste pestitsiididega, kuna tihtipeale ei piirduta põllumajanduses vaid ühe pestitsiidi kasutamisega.

KOKKUVÕTE

Kimalaste (*Bombus* spp.) arvukuse langus mitmel pool maailmas jätkub. Põllumajanduse intensiivistumisega suuereneb ka pestitsiidide kasutamine. Pestitsiidide kasutamist peetakse üheks tolmeldajate arvukuse languse peamiseks põhjuseks. Kimalased puutuvad paljudel juhtudel kokku pestitsiidide subletaalsete kogustega, mis ei pruugi küll letaalselt mõjuda, kuid võivad põhjustada muutusi nende füsioloogias ja käitumises, mille tulemusena putukad nõrgenevad või hiljem ka hukuvad. Antud bakalaureusetöös uuriti, kuidas mõjutavad uudse pestitsiidi sulfoksafloori erinevad doosid karukimalaste (*Bombus terrestris*) hingamisfüsioloogiat kontaktsel kokkupuutumisel. Doosideks olid LD₅₀ ning minimaalne subletaalne doos, mis avaldab statistiliselt olulisust mõju karukimalaste toitumisele.

Töö eesmärkide saavutamiseks uuriti läbivoolu-respiromeetri abil pestitsiidi mõju kimalaste süsihappegaasi eraldumisele ning veekaole. Enne katseid hoiti kimalasi kunstlikes pesades, mis olid toodud Belgiast, firmast “Biobest”. Pestitsiidiga ja atsetooniga töödeldud, nagu ka kontrollgrupi, kimalasi hoiti enne katseid soojakambris ning pärast uuringut asetati iga kimalane sügavkülma.

Antud bakalaureusetöö tulemustest selgus, et sulfoksafloor avaldab statistiliselt olulist mõju kimalasisade süsihappegaasi eraldumisele ning veekaole, suurendades neid näitajaid ning mõjutades putukate toitumist. Samuti avaldas pestitsiid statistiliselt olulist mõju kimalastöölise veekaole ning kimalasemadele statistiliselt olulist mõju ei avaldanud. Sellest võib järeldada, et sulfoksafloor mõjub kimalasemadele, -isadele ning kimalastöölisele erinevalt.

Iga kimalaspere liige on suuremal või väiksemal määral oluline ning ühed ilma teisteta eksisteerida ei saa. Iga suguisend mängib kimalasperes enda rolli. Antud bakalaureusetöö ning samuti ka mõningate teiste autoride katsetulemused näitavad, et sulfoksafloor on võimeline avaldama negatiivset mõju kõikidele kimalaspere suguisenditele. Võttes kokku antud bakalaureusetöö ning teiste autorite uuringute tulemused, võib järeldada, et

sulfoksafloor on karukimalastele potentsiaalselt ohtlik. Seega võib arvata, et sulfoksafloor ei pruugi olla heaks asenduseks varasemalt kasutuses olnud neonikotinoididele. Kuid tulevikus tasub siiski veel tegeleda selle uudse pestitsiidi uurimistega, vaadeldes selle mõju ka teistele olulistele tolmeldajatele ning nende erinevatele elutähtsatele näitajatele. Samuti tasub uurida sulfoksafloori koosmõju teiste pestitsiididega, kuna tihtipeale ei piirduta põllumajanduses vaid ühe pestitsiidi kasutamisega.

SUMMARY

The number of bumblebees (*Bombus* spp.) continues to decline in many parts of the world. With the intensification of agriculture, the use of pesticides is also increasing. The use of pesticides is considered to be one of the main reasons for the decline in pollinators. In many cases, bumblebees are exposed to sublethal doses of pesticides, which may not be lethal, but may cause changes in their physiology and behavior that result in the insects weakening or later dying. This bachelor's thesis investigated how different doses of the novel pesticide sulfoxaflor affect the respiratory physiology of buff-tailed bumblebees (*Bombus terrestris*) upon contact exposure. The used doses were LD₅₀ and the minimum sublethal dose, which has a statistically significant effect on the diet of the buff-tailed bumblebees.

In order to achieve the aims of the work, the effect of the pesticide on the carbon dioxide release and water loss of bumblebees was studied using a flow-through respirometer. Prior to the experiments, the bumblebees were held in artificial nests brought from Belgium by the company „Biobest“. Pesticide- and acetone-treated bumblebees, as well as the control group, were kept in a warm chamber before the experiments, and each bumblebee was placed in the freezer after the study.

The results of this bachelor's thesis showed that sulfoxaflor has a statistically significant effect on the carbon dioxide release and water loss of male bumblebees, increasing these parameters and influencing the diet of insects. The pesticide had also a statistically significant effect on water loss in bumblebee workers and did not have a statistically significant effect on bumblebee queens. It can be concluded that sulfoxaflor has different effects on bumblebee queens, males and workers.

Every member of the bumblebee family is more or less important, and ones can not exist without the others. Each member plays their role in the bumblebee family. The results of this bachelor's thesis, as well as the experimental results of some other authors, show that sulfoxaflor is able to have a negative effect on all the members of the bumblebee family.

Summarizing the results of this bachelor's thesis and other authors' researches, it can be concluded that sulfoxaflor is potentially dangerous to buff-tailed bumblebees. Thus, it can be assumed that sulfoxaflor may not be a good substitute for previously used neonicotinoids. However, continuing doing researches on this innovative pesticide will still be worthwhile in the future, by studying its impact on other important pollinators and their various vital parameters. It is also worthwhile to study the interaction of sulfoxaflor with other pesticides, as it is often not limited to the use of one pesticide in agriculture.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. **Woodard, S.H.** (2017). Bumble bee ecophysiology: integrating the changing environment and the organism. *Current Opinion in Insect Science*. Vol. 22, pp. 101–108.
2. **Brown, M.J.F., Paxton, R.J.** (2009). The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie*. Vol. 40, pp. 410–416.
3. **Jactel, H., Imler, J.-L., Lambrechts, L., Failloux, A.-B., Lebreton, J.D., Maho, Y.L., Duplessy, J.-C., Cossart, P., Grandcolas, P.** (2021). Insect decline: immediate action is needed. *Comptes Rendus Biologies*. Vol. 343, No. 3, pp. 267–293.
4. **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*. Vol. 5, No. 3, e9754.
5. **Maini, S., Medrzycki, P., Porrini, C.** (2010). The puzzle of honey bee losses: A brief review. *Bulletin of Insectology*. Vol. 63, No. 1, pp. 153–160.
6. **National Center for Biotechnology Information** (2021). PubChem Annotation Record for Sulfoxaflo, Source: Hazardous Substances Data Bank (HSDB). [veebileht] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/8245> (25.05.2021)
7. **Alaux, C., Brunet, J.-L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Brillard, J., Baldy, A., Belzunces, L.P., Conte, Y.L.** (2010). Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*. Vol. 12, No. 3, pp. 774–782.
8. **Decourtye, A., Armengaud, C., Renou, M., Devillers, J., Cluzeau, S., Gauthier, M., Pham-Delègue, M.-H.** (2004). Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Vol. 78, No. 2, pp. 83–92.
9. **Williamson, S.M., Wright, G.A.** (2013). Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. *Journal of Experimental Biology*. Vol. 216, No. 10, pp. 1799–1807.

10. **Fisher, A., II, Rangel, J.** (2018). Exposure to pesticides during development negatively affects honey bee (*Apis mellifera*) drone sperm viability. *PLOS ONE*. 13(12): e0208630.
11. **Walsh, E.M., Sweet, S., Knap, A., Ing, N., Rangel, J.** (2020). Queen honey bee (*Apis mellifera*) pheromone and reproductive behavior are affected by pesticide exposure during development. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Vol. 74, No. 3, pp. 33.
12. **Mänd, M., Karise, R.** (2015). Recent insights into sublethal effects of pesticides on insect respiratory physiology. *Open Access Insect Physiology*. pp. 31-39.
13. **Cameron, S.A., Hines, H.M., Williams, P.H.** (2007). A comprehensive phylogeny of the bumble bees (*Bombus*). *Biological Journal of the Linnean Society*. Vol. 91, No. 1, pp. 161–188.
14. **Viik, E., Mänd, M.** (2017). Eesti kimalased 2017. 2. parandatud väljaanne. Saku: Põllumajandusuuringute Keskus. 44 lk.
15. **Javorek, S., Mackenzie, K., Kloet, S.** (2009). Comparative Pollination Effectiveness Among Bees (*Hymenoptera: Apoidea*) on Lowbush Blueberry (*Ericaceae: Vaccinium angustifolium*). *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 95, pp. 345–351.
16. **Williams, P.H., Osborne, J.L.** (2009). Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie*. Vol. 40, pp. 367–387.
17. **Valterová, I., Martinet, B., Michez, D., Rasmont, P., Brasero, N.** (2019). Sexual attraction: a review of bumblebee male pheromones. *Zeitschrift für Naturforschung C*. Vol. 74, No. 9-10, pp. 233–250.
18. **Dornhaus, A., Chittka, L.** (2001). Food alert in bumblebees (*Bombus terrestris*): possible mechanisms and evolutionary implications. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Vol. 50, pp. 570–576.
19. **Semmens, T.D., Turner, E., Buttermore, R.** (1993). *Bombus Terrestris* (L.) (*Hymenoptera: Apidae*) Now Established in Tasmania. *Australian Journal of Entomology*. Vol. 32, No. 4, pp. 346–346.
20. **Widmer, A., Schmid-Hempel, P., Estoup, A., Scholl, A.** (1998). Population genetic structure and colonization history of *Bombus terrestris* s.l. (*Hymenoptera: Apidae*) from the Canary Islands and Madeira. *Heredity*. Vol. 81, No. 5, pp. 563–572.

21. **Goulson, D., Peat, J., Stout, J.C., Tucker, J., Darvill, B., Derwent, L.C., Hughes, W.O.H.** (2002). Can alloethism in workers of the bumblebee, *Bombus terrestris*, be explained in terms of foraging efficiency? *Animal Behaviour*. Vol. 64, No. 1, pp. 123–130.
22. **Wolf, S., Rohde, M., Moritz, R.F.A.** (2010). The reliability of morphological traits in the differentiation of *Bombus terrestris* and *B. lucorum* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*. Vol. 41, No. 1, pp. 45–53.
23. **Lautenbach, S., Seppelt, R., Liebscher, J., Dormann, C.F.** (2012). Spatial and Temporal Trends of Global Pollination Benefit. *PLOS ONE*. 7(4): e35954.
24. **Kunc, M., Dobeš, P., Hurychová, J., Vojtek, L., Poiani, S.B., Danihlík, J., Havlik, J., Titěra, D., Hyršl, P.** (2019). The Year of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.) with Respect to Its Physiology and Immunity: A Search for Biochemical Markers of Longevity. *Insects*. Vol. 10, No. 8, pp. 244.
25. **Mizrahi, A., Lensky, Y.** (1997). *Bee Products: Properties, Applications, and Apitherapy*. New York: Springer Science & Business Media. 261 pp.
26. **Goldblatt, P., Manning, J.C.** (2007). Pollination of *Romulea syringodeoflora* (Iridaceae: Crocoideae) by a long-proboscid fly, *Prosoeca* sp. (Diptera: Nemestrinidae). *South African Journal of Botany*. Vol. 73, No. 1, pp. 56–59.
27. **Johnson, S.D., Bond, W.J.** (1994). Red flowers and butterfly pollination in the fynbos of South Africa. *Plant-animal interactions in Mediterranean-type ecosystems*. Part of the *Tasks for vegetation science*. Dordrecht: Springer Netherlands. Vol. 31, pp. 137–148.
28. **Willmer, P.** (2011). *Pollination and Floral Ecology*. Princeton: Princeton University press. 832 pp.
29. **Dudareva, N., Pichersky, E.** (2006). *Biology of floral scent*. Florida: CRC Press. 364 pp.
30. **Arroyo, M.T.K., Till-Bottraud, I., Torres, C., Henríquez, C.A., Martínez, J.** (2007). Display Size Preferences and Foraging Habits of High Andean Butterflies Pollinating *Chaetanthera lycopodioides* (Asteraceae) in the Subnival of the Central Chilean Andes. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*. Vol. 39, No. 3, pp. 347–352.
31. **de Araújo, L.D.A., Quirino, Z.G.M., Machado, I.C.** (2014). High specialisation in the pollination system of *Mandevilla tenuifolia* (J.C. Mikan) Woodson (Apocynaceae) drives the effectiveness of butterflies as pollinators. *Plant Biology*. Vol. 16, No. 5, pp. 947–955.

32. **Hahn, M., Brühl, C.A.** (2016). The secret pollinators: an overview of moth pollination with a focus on Europe and North America. *Arthropod-Plant Interactions*. Vol. 10, pp. 21–28.
33. **Talekar, N.S., Shelton, A.M.** (1993). Biology, Ecology, and Management of the Diamondback Moth. *Annual Review of Entomology*. Vol. 38, pp. 275–301.
34. **Curtis, P.G., Slay, C.M., Harris, N.L., Tyukavina, A., Hansen, M.C.** (2018). Classifying drivers of global forest loss. *Science*. Vol. 361, No. 6407, pp. 1108–1111.
35. **Millennium Ecosystem Assessment.** (2005). *Ecosystems and human well-being: synthesis*. Washington, DC: Island Press. 137 pp.
36. **Díaz, S., Settele, J., Brondízio E.S., Ngo, H.T., Guèze, M., Agard, J., Arneth, A., Balvanera, P., Brauman, K.A., Butchart, S.H.M., Chan, K.M.A., Garibaldi, L.A., Ichii, K., Liu, J., Subramanian, S.M., Midgley, G.F., Miloslavich, P., Molnár, Z., Obura, D., Pfaff, A., Polasky, S., Purvis, A., Razzaque, J., Reyers, B., Roy-Chowdhury, R., Shin, Y.J., Visseren-Hamakers, I.J., Willis, K.J., Zayas, C.N.** The global assessment report on biodiversity and ecosystem services. Bonn: IPBES Secretariat, UN Campus. 60 pp.
37. **Thimmegowda, G.G., Mullen, S., Sottolare, K., Sharma, A., Mohanta, S.S., Brockmann, A., Dhandapany, P.S., Olsson, S.B.** (2020). A field-based quantitative analysis of sublethal effects of air pollution on pollinators. *PNAS*. Vol. 117, No. 34, pp. 20653–20661.
38. **McFrederick, Q.S., Kathilankal, J.C., Fuentes, J.D.** (2008). Air pollution modifies floral scent trails. *Atmospheric Environment*. Vol. 42, No. 10, pp. 2336–2348.
39. **Zhang, W., Jiang, F., Ou, J.** (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*. Vol. 1, pp. 125-144.
40. **Gilliom, R.J., Barbash, J.E., Kolpin, D.W., Larson, S.J.** (1999). Peer Reviewed: Testing Water Quality for Pesticide Pollution. *Environmental Science & Technology*. Vol. 33, No. 7, pp. 164A-169A.
41. **Tang, F.H.M., Lenzen, M., McBratney, A., Maggi, F.** (2021). Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*. Vol. 14, pp. 206–210.
42. **Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., Rotheray, E.L.** (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*. Vol. 347, No. 6229.

43. **Sih, A., Bell, A.M., Kerby, J.L.** (2004). Two stressors are far deadlier than one. *Trends in Ecology & Evolution*. Vol. 19, No. 6, pp. 274–276.
44. **Schmuck, R., Stadler, T., Schmidt, H.-W.** (2003). Field relevance of a synergistic effect observed in the laboratory between an EBI fungicide and a chloronicotiny insecticide in the honeybee (*Apis mellifera* L., *Hymenoptera*). *Pest Management Science*. Vol. 59, No. 3, pp. 279–286.
45. **Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J.T., Roe, R.M.** (2004). Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection*. Vol. 23, No. 5, pp. 371–378.
46. **Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Viguès, B., Brunet, J.-L., Texier, C., Biron, D.G., Blot, N., El Alaoui, H., Belzunces, L.P., Delbac, F.** (2011). Exposure to Sublethal Doses of Fipronil and Thiacloprid Highly Increases Mortality of Honeybees Previously Infected by *Nosema ceranae*. *PLOS ONE*. 6(6): e21550.
47. **Baron, G.L., Raine, N.E., Brown, M.J.F.** (2014). Impact of chronic exposure to a pyrethroid pesticide on bumblebees and interactions with a trypanosome parasite. *Journal of Applied Ecology*. Vol. 51, No. 2, pp. 460–469.
48. **Pettis, J.S., vanEngelsdorp, D., Johnson, J., Dively, G.** (2012). Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*. Vol. 99, pp. 153–158.
49. **Aufauvre, J., Biron, D.G., Vidau, C., Fontbonne, R., Roudel, M., Diogon, M., Viguès, B., Belzunces, L.P., Delbac, F., Blot, N.** (2012). Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. *Scientific Reports*. Vol. 2, No. 1, pp. 326.
50. **Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo, G., Pennacchio, F.** (2013). Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 110, No. 46, pp. 18466–18471.
51. **Rinkevich, F.D., Danka, R.G., Healy, K.B.** (2017). Influence of Varroa Mite (*Varroa destructor*) Management Practices on Insecticide Sensitivity in the Honey Bee (*Apis mellifera*). *Insects*. Vol. 8, No. 1, pp. 9.

52. **Blanken, L.J., van Langevelde, F., van Dooremalen, C.** (2015). Interaction between *Varroa destructor* and imidacloprid reduces flight capacity of honeybees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Vol. 282, No. 1820.
53. **Brown, M.J.F., Loosli, R., Schmid-Hempel, P.** (2000). Condition-dependent expression of virulence in a trypanosome infecting bumblebees. *Oikos*. Vol. 91, No. 3, pp. 421–427.
54. **Mallon, E.B., Brockmann, A., Schmid-Hempel, P.** (2003). Immune response inhibits associative learning in insects. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*. Vol., 270, No. 1532, pp. 2471–2473.
55. **Riddell, C.E., Mallon, E.B.** (2006). Insect psychoneuroimmunology: Immune response reduces learning in protein starved bumblebees (*Bombus terrestris*). *Brain, Behavior, and Immunity*. Vol. 20, No. 2, pp. 135–138.
56. **Muli, E., Kilonzo, J., Dogley, N., Monthy, G., Kurgat, J.K., Irungu, J., Raina, S.** (2018). Detection of Pesticide Residues in Selected Bee Products of Honeybees (*Apis mellifera* L.) Colonies in a Preliminary Study from Seychelles Archipelago. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 101, No. 4, pp. 451-457.
57. **Fischer, D., Moriarty, T.** (2014). *Pesticide Risk Assessment for Pollinators*. Hoboken: Wiley Blackwell. 220 pp.
58. **Aoun, M.** (2020). Pesticides' Impact on Pollinators. *Zero Hunger*. The Encyclopedia of the UN Sustainable Development Goals. 1–11 pp.
59. **Kuan, A.C., DeGrandi-Hoffman, G., Curry, R.J., Garber, K.V., Kanarek, A.R., Snyder, M.N., Wolfe, K.L., Purucker, T.** (2018). Sensitivity analyses for simulating pesticide impacts on honey bee colonies. *Ecological Modelling*. Vol. 376, pp. 15–27.
60. **Siviter, H., Koricheva, J., Brown, M.J.F., Leadbeater, E.** (2018). Quantifying the impact of pesticides on learning and memory in bees. *Journal of Applied Ecology*. Vol. 55, No. 6, pp. 2812–2821.
61. **Gill, R.J., Ramos-Rodriguez, O., Raine, N.E.** (2012). Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature*. Vol. 491, No. 7422, pp. 105–108.
62. **Tsvetkov, N., Samson-Robert, O., Sood, K., Patel, H.S., Malena, D.A., Gajiwala, P.H., Maciukiewicz, P., Fournier, V., Zayed, A.** (2017). Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. *Science*. Vol. 356, No. 6345, pp. 1395–1397.

63. **Perry, C.J., Søvik, E., Myerscough, M.R., Barron, A.B.** (2015). Rapid behavioral maturation accelerates failure of stressed honey bee colonies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 112, No. 11, pp. 3427–3432.
64. **Stanley, D.A., Garratt, M.P.D., Wickens, J.B., Wickens, V.J., Potts, S.G., Raine, N.E.** (2015). Neonicotinoid pesticide exposure impairs crop pollination services provided by bumblebees. *Nature*. Vol. 528, No. 7583, pp. 548–550.
65. **Grassl, J., Holt, S., Cremen, N., Peso, M., Hahne, D., Baer, B.** (2018). Synergistic effects of pathogen and pesticide exposure on honey bee (*Apis mellifera*) survival and immunity. *Journal of Invertebrate Pathology*. Vol. 159, pp. 78–86.
66. **Thompson, H.M.** (2003). Behavioural Effects of Pesticides in Bees – Their Potential for Use in Risk Assessment. *Ecotoxicology*. Vol. 12, pp. 317-330.
67. **Ladurner, E., Bosch, J., Kemp, W., Maini, S.** (2005). Assessing delayed and acute toxicity of five formulated fungicides to *Osmia lignaria* Say and *Apis mellifera*. *Apidologie*. Vol. 36, No. 3, pp. 449-460.
68. **Jõgar, K., Kuusik, A., Metspalu, L., Hiiesaar, K., Grishakova, M., Luik, A.** (2008). Effects of Neem EC on gas exchange, Tracheal ventilation, and water loss in diapausing pupae of *Pieris brassicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 126, No. 2, pp. 165–173.
69. **Pamminger, T., Botías, C., Goulson, D., Hughes, W.O.H.** (2018). A mechanistic framework to explain the immunosuppressive effects of neurotoxic pesticides on bees. *Functional Ecology*. Vol. 32, No. 8, pp. 1921–1930.
70. **Karise, R., Raimets, R., Dreyersdorff, G., Mänd, M.** (2018). Using respiratory physiology techniques in assessments of pesticide effects on bees. *Hazards of pesticides to bees - 13th international symposium of the ICP-PR Bee protection group*. Tartu: Estonian University of Life Sciences. 6 pp.
71. **Muljar, R., Karise, R., Viik, E., Kuusik, A., Williams, I., Metspalu, L., et al.** (2012). Effects of Fastac 50 EC on bumble bee *Bombus terrestris* L. respiration: DGE disappearance does not lead to increasing water loss. *Journal of insect physiology*. Vol. 58, No. 11, pp. 1469–1476.
72. **Karise, R., Muljar, R., Smaghe, G., Kaart, T., Kuusik, A., Dreyersdorff, G., Williams, I.H., Mänd, M.** (2015). Sublethal effects of kaolin and the biopesticides Prestop-Mix and

- BotaniGard on metabolic rate, water loss and longevity in bumble bees (*Bombus terrestris*). *Journal of Pest Science*. Vol. 89, No. 1.
73. **van Dame, R., Meled, M., Colin, M.-E., Belzunces, L.P.** (1995). Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. Exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 14, No. 5, pp. 855–860.
 74. **Schricker, B., Stephen, W.P.** (1970). The Effect of Sublethal Doses of Parathion on Honeybee Behaviour. I. Oral Administration and the Communication Dance. *Journal of Apicultural Research*. Vol. 9, No. 3, pp. 141–153.
 75. **Dively, G.P., Embrey, M.S., Kamel, A., Hawthorne, D.J., Pettis, J.S.** (2015). Assessment of Chronic Sublethal Effects of Imidacloprid on Honey Bee Colony Health. *PLOS ONE*. Vol. 10(3): e0118748.
 76. **Pilling, E.D., Jepson, P.C.** (1993). Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Pesticide Science*. Vol. 39, No. 4, pp. 293–297.
 77. **Decourtye, A., Pham-Delègue, M.H.** (2002). The proboscis extension response: Assessing the sublethal effects of pesticides on the honey bee. *Honey Bees: Estimating the Environmental Impact of Chemicals*. pp. 67–84.
 78. **Siviter, H., Horner, J., Brown, M.J.F., Leadbeater, E.** (2020). Sulfoxaflor exposure reduces egg laying in bumblebees *Bombus terrestris*. *Journal of Applied Ecology*. Vol. 57, No. 1, pp. 160–169.
 79. **Siviter, H., Brown, M.J.F., Leadbeater, E.** (2018). Sulfoxaflor exposure reduces bumblebee reproductive success. *Nature*. Vol. 561, No. 7721, pp. 109–112.
 80. **Taning, C.N.T., Vanommeslaeghe, A., Smagghe, G.** (2019). With or without foraging for food, field-realistic concentrations of sulfoxaflor are equally toxic to bumblebees (*Bombus terrestris*). *Entomologia Generalis*. Vol. 39, No. 2, pp. 151–155.
 81. **Raine, N.E.** (2018). An alternative to controversial pesticides still harms bumblebees. *Nature*. Vol. 561, No. 7721, pp. 40–41.
 82. **Liiskmann, E.** (2020). Sulfoxaflori mõju karukimalase (*Bombus terrestris* L.) emadele, töölistele ja isastele. Tartu: Eesti Maaülikool. 58 lk.

83. **Kivimägi, I., Kuusik, A., Ploomi, A., Metspalu, L., Jõgar, K., Williams, I., Sibul, I., Hiisaar, K., Luik, A., Mänd, M.** (2013). Gas Exchange patterns in *Platynus assimilis* (Coleoptera, Carabidae): Respiratory failure induced by a pyrethroid. *European Journal of Entomology*. Vol. 110, No. 1, pp. 47-54.
84. **Kuusik, A., Metspalu, L., Hiisaar, K., Kogerman, A., Tartes, U.** (1993). Changes in muscular and respiratory activity patterns in yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and greater wax moth (*Galleria mellonella*) pupae caused by some plant extracts, juvenile hormone analogues and pyrethroid. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Biology*. Vol. 42, No. 2, pp. 94–107.
85. **Costa, L.G., Giordano, G., Guizzetti, M., Vitalone, A.** (2008). Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. Vol. 13, No. 13, pp. 1240-1249.
86. **Kadala, A., Charreton, M., Jakob, I., Cens, T., Rousset, M., Chahine, M., Conte, Y.L., Charnet, P., Collet, C.** (2014). Pyrethroids Differentially Alter Voltage-Gated Sodium Channels from the Honeybee Central Olfactory Neurons. *PLOS ONE*. 9(11): e112194.
87. **Thompson, H.M.** (2001). Assessing the exposure and toxicity of pesticides to bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie*. Vol. 32, Nr. 4, pp. 305–321.
88. **Baer, B., Schmid-Hempel, P.** (2006). Phenotypic variation in male and worker encapsulation response in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Ecological Entomology*. Vol. 31, No. 6, pp. 591–596.
89. **Dinges, C.W., Avalos, A., Abramson, C.I., Craig, D.P.A., Austin, Z.M., Varnon, C.A., Dal, F.N., Giray, T., Wells, H.** (2013). Aversive conditioning in honey bees (*Apis mellifera anatolica*): a comparison of drones and workers. *Journal of Experimental Biology*. Vol. 216, No. 23, pp. 4498.
90. **Kraus, F.B., Wolf, S., Moritz, R.F.A.** (2009). Male flight distance and population substructure in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Journal of Animal Ecology*. Vol. 78, No. 1, pp. 247–252.
91. **Goulson, D.** (2010). Bumblebees: Behaviour, Ecology, and Conservation - 2nd edition. *Oxford Biology*. New York: Oxford University Press. 317 pp.
92. **National Center for Biotechnology Information.** (2021). PubChem Compound Summary for CID 16723172, Sulfoxaflor. [veebileht] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16723172> (09.05.2021)

93. Corteva. (2021). Closer® SC Insecticide – Crop Protection. [veebileht]
<https://www.corteva.us/products-and-solutions/crop-protection/closer-sc.html> (09.05.2021)
94. Corteva. (2021). Transform® WG Insecticide – Crop Protection. [veebileht]
<https://www.corteva.us/products-and-solutions/crop-protection/transform-wg.html>
(09.05.2021)

LISAD

Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus töö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Anna Dronova,

(autori nimi)

sünniaeg 07.07.1998,

1. annan Eesti Maailikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö

Sulfoksafloori mõju karukimalaste (*Bombus terrestris*) hingamisfüsioloogiale,

lõputöö pealkiri

mille juhendaja(d) on Risto Raimets, Reet Karise,

juhendaja(te) nimi

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor Anna Dronova (allkiri)

Tartu, 26.05.2021 (kuupäev)

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri) (kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri) (kuupäev)