مجلة جامعة كركوك للعلوم الزراعية ... المجلد (10) العدد (2) 2019
Journal of kirkuk University for Agricultural Sciences ...Vol (10) No. (2) 2019

تأثير مبيد اميداكلورايد Imidacloprid على المعدة الوسطى والغدد البلعومية في نحل العسل (*Apis mellifera L*)

سوزان ظافر هادي[1] كميلة ورود شاهر[1] عبد الكريم جواد علي[2]

- [1] كلية الزراعة ـ جامعة بغداد
- [2] وزارة الزراعة
- تاريخ استلام البحث 2018/9/23 وقبوله 2018/10/22

الخلاصة

أولت معظم الدراسات اهتماماً بمبيد اميداكلورايد من ناحية تاثيراتها السلبية على سلوك نحل العسل *Apis mellifera* دون اثارها الفسيولوجية على الغدة البلعومية والمعدة الوسطى والتي كانت موضع اهتمام هذه الدراسة، اذ تم تغذية النحل حديث البزوغ على محلول سكري حاوٍ على مبيد اميداكلورايد وبتركيز 2ملغم/كغم (جزء من المليون) والغذاء البروتيني وبتركيز 3ملغم/كلغم. فقد وجد ان المبيد يؤثر سلباً على نمو وتطور الغدة البلعومية للشغالات حيث بدت أصغر حجماً وكانت فصوصها متباعدة مقارنة مع الغدة البلعومية للنحل غير المعامل بالمبيد عند تشريحها وفحصها بالمجهر في عمر 9 و14 يوماً. أما في المعدة الوسطى فقد وجد ان تاثير المبيد في الساعات الاولى كان محدوداً ويقتصر على جزء من نسيج المعدة الوسطى وسرعان مايقوم النحل بأصلاحه وتعويضه بتجديد الخلايا المتضررة من ذلك النسيج. يزداد هذا التاثير سلباً مع زيادة ساعات التعرض للمبيد حتى يغدو النحل غير قادر على تعويض الخلايا المتضررة. وجراء ذلك يفقد النحل قدرته على التغذية بشكل سليم، فيؤدي الى تجويعها وينتهي بها المطاف الى الهلاك إذ بلغت نسبة الهلاك في النحل 60% تقريباً بعد 14 يوماً في كلتا حالتي التغذية.

الكلمات المفتاحية : نحل العسل، الغدة البلعومية، المعدة الوسطى، اميداكلورايد

Effect of Imidacloprid on Mid Gut and The Hypopharyngeal Glands of Honey bees (*Apis mellifera* L.)

Suzan D. Hadi[1] Kameela W. Shaher[1] Abdulkareem J. Ali[2]

- **[1] College Of Agriculture - Baghdad University**
- **[2] Ministery of Agriculture**

Abstract

Different studies have shown great interest in Imidacloprid pesticide toxicity in terms of its destructive and harmful effects on honeybees *Apis mellifera* behavior without causing any physiological change in the pharyngeal gland and the midgut tissue, which is the main aim of this study. The newly emerging bees were fed on a sugar solution containing the Imidacloprid pesticide at a concentration of (2 mg / kg to ppm) and protein food at a concentration of 3mg/L. It was found that the pesticide harmfully affected the growth and development of pharyngeal gland of the bees workers, which appeared smaller and their lobes far apart compared with the pharyngeal gland of the non- treated bees when the bees have been dissected and examined under light microscope at the age of 9 and 14 days. The negative effect of the pesticide was limited in the midgut only*few hours after*sugar solution feeding and some parts of the tissue were affected, but the insect rapidly regenerated and compensated the damaged tissue. The negative impact of the insecticide correlated to the increasing hours of exposure until bees become incapable to compensate the affected cells. As a result, the bees lose their ability to feed properly, leading to starvation and finally to death. The rate of death in bees was approximately 60% after 14 days in both feeding cases.

Key words: Imidacloprid, Midgut, hypopharyngeal glands, The pesticide

المقدمة

يعد نحل العسل (*Apis mellifera L*) من الحشرات الأجتماعية Social inset، التي تعيش في طوائف تتألف من أفراد مختلفة هي الملكة، الشغالات والذكور (Palma،1992). تقوم الشغالات بكافة الاعمال تقريباً اذ يختلف عملها حسب المراحل العمرية التي تمر بها (Ohashi وآخرون،1999). وللنحل دور كبير في البيئة من حيث التلقيح الخلطي للمحاصيل الزراعية اذ تقدر نسبة النباتات التي يتم تلقيحها بالنحل 80%. ويعد كاشفاً للتلوث البيئي لمختلف الملوثات منها المبيدات (FAO، 2008). وبما أن النحل في تجانس مع النباتات لانه يتغذى على الرحيق وحبوب اللقاح حيث تستهلك الشغالات كميات كبيرة من حبوب اللقاح لتحفيز وتوفير المواد الاولية للغذاء الملكي (Frazier، 2009 ; Rortais واخرون، 2005) لذلك تقوم الشغالات في اول ايامها بأنتاج كمية من الغذاء الملكي من خلال الغدد البلعومية ويبلغ اعلى انتاج لها خلال 6-12 يومًا من عمر الشغالات ويستمر انتاجها عند مستويات منخفضة لفترة اطول تصل الى عمر 20 يوماً (Feng، 2009). وبعدها تنتج الغدة مواد أخرى فيصغر حجمها (Tautz،2008).

اما المعدة الوسطى والتي تعد الجزء الرئيسي في الجهاز الهضمي فلها اهمية في هضم وتحليل المواد الغذائية الى مواد اولية يستفيد منها الجسم في انتاج الطاقة والنمو والتطور، وتتكون من الناحية الفسلجية من ثلاث طبقات هي البطانة (الخلايا الطلائية)، الغشاء القاعدي والطبقة الخارجية التي تغطيها العضلات العمودية. وتحوي على خلايا التجدد والغدد الصماء والخلايا الكأسية. والخلية العمودية هي الأكثر وفرة في معدة نحل العسل وتوجد حدود مخططة في سطح قمتها، تتكون من مجموعة منتظمة من الزغيبات الصغيرة الأسطوانية. ان محتويات المعدة تكون في الغالب ذات لون بني فاتح مع كمية متفاوتة من حبوب اللقاح اذ يوجد في الجزء الخلفي للمعدة الوسطى، بينما الجزء الامامي منها يكون خالياً (Chapman،1998).

وجد في السنوات الاخيرة ارتفاع معدل وفيات نحل العسل على المستوى العالم. وكانت من اهم العوامل في ذلك هو التعرض المستمر للمبيدات اثناء المكافحة وبالأخص المبيدات الحشرية (Vidau، واخرون 2011). وكانت المبيدات الحشرية من مجموعة neonicotinoid الاكثر انتشاراً واستخدمت منذ 1991 في حماية المحاصيل والمسجلة حاليا في أكثر من 120 بلداً. ويمثل اميداكلورايد المبيد الاكثر تسويقاً من بين هذه المجموعة وبنسبة تصل الى 41.5 ٪ (Jeschke، واخرون 2011)

إن خطورة هذا المبيد على نحل العسل لا تكمن في صورته الاصلية وانما بتعرض النحل لاحد نواتج تحلل المبيد اثناء جمع الغذاء خاصة في النباتات الناتجة من البذور المعاملة بالمبيد (Nauen، واخرون 1999). اذا قيمت LD_{50} لعينات النحل تعرضت للمبيد جمعت في المملكة المتحدة وألمانيا وهولندا في سنة 1999-2000 بحدود 48-81 نانوغرام/نحل خلال 48 ساعة. وقد كانت في بعض العينات بحدود 49-102 نانوغرام/نحل خلال 48 ساعة أيضاً (Schmuck واخرون، 2001). وفي تجربة اخرى لتاثير المبيد قام Suchail وآخرون (2001) بقياس السمية المزمنة لنحل العسل من خلال تغذيته بمحلول سكري حاوٍ على المبيد بتراكيز 0.1 و1 و10 ملغم/كغم لمدة 10 ايام، وكان استهلاك الشغالات بحدود 12 مايكرولتر/يوم/نحلة، فظهرت حالات الموت في اليوم الثامن بحدود 50٪ من الشغالات. ونظراً لعدم وجود دراسات حول تأثير المبيدات على الغدد البلعومية والمعدة الوسطى فقد هدفت الدراسة الى معرفة تأثير مبيد اميداكلورايد المضاف الى الغذاء على الغدد البلعومية والمعدة الوسطى من خلال المقاطع النسيجية والشكل المظهري ومدى تأثرهما بالمبيد.

المواد وطرائق البحث

تهيئة الطوائف

أستخدم في هذه الدراسة نحل العسل *Apis mellifera* في منحل كلية الزراعة/جامعة بغداد. وحضرت نويتين بقياس(10×20 سم) حاوية على اطارات حضنة مغلقة وعسل وحبوب لقاح مغطى بكمية قليلة من النحل البالغ. احدى النويتين أعدت كمقارنة والنوية الاخرى عوملت بالغذاء الحاوي على المبيد اميداكلورايد Imidacloprid، ووضع كلاهما في الحاضنة والظلام في درجة حرارة 28-29 م لخروج الشغالات حديثة العمر إذ تم تعليم الشغالات الحديثة العمر لتمييزها عن الشغالات كبيرة العمر وتم تغيير درجة الحرارة الى 34 م والرطوبة النسبية الى 70٪.

تحضير غذاء النحل

1.تحضير المحلول السكري المعامل بالمادة الفعالة

حضر محلول قياسي يحتوي على 100 ملغم/كغم من المادة الفعالة اميداكلورايد للمبيد في acetonitrile (ACN) إذ استخدم مبيد Confidor من شركة Bayer الالمانية والمادة الفعالة له هي Imidocloprid وكانت بنقاوة 99.9% من شركة Sigma-Aldrich. ثم اخذ منه 20 مل وجفف بواسطة النتروجين، حضر المحلول السكري بتركيز 33% بوزن 330 غم من السكر وتكملة الحجم الى 1000 مل من الماء، ثم اذابة المادة الفعالة بتركيز 2 ملغم/كغم في المحلول السكري المحضر(Fani واخرون، 2013).

2.تحضير الغذاء البروتيني المعامل بالمادة الفعالة

أخذ 30 مل من المحلول القياسي وتم تجفيفه بنفس الطريقة المذكورة اعلاه، أخذ 70غم من حبوب اللقاح وخلطت مع 300 مل من محلول سكري بتركيز 33% لاجل اذابة المادة الفعالة ذات التركيز 3 kg\mg فية وتم خلطه مع حبوب اللقاح لضمان تجانس المبيد (Fani واخرون، 2013).

تغذية النحل وجمع العينات

تمت تغذية كلتا النويتين باعطاءها الغذاء البروتيني والمحلول السكري الخالية من المبيد لغرض المقارنة ومتابعته يومياً. اما النوية الاخرى فعوملت بالغذاء البروتيني والمحلول السكري المعاملة بالمادة الفعالة للمبيد.

تم تبديل الغذاء في كلتا النويتين كل 4 ايام مع استمرار تعليم النحل حديث البزوغ بالالوان المختلفة لتوحيد الاعمار، جمع النحل الميت بعد 9 و14 يوماً لتشريح الغدة البلعومية، أما المعدة فتم جمع عيناتها من النحل بعد 4 و8 و12 و18 و24 ساعة من بداية المعاملة بالكحول الاثيلي بتركيز 70% لحين تشريحها. وأستخدم مجهر الحشرات بقوة تكبير 140 مرة لهذا الغرض. اجريت عملية التشريح بنقل النحلة بوساطة ملقط على طبق حاوي على شمع صلب وثبت بوساطة دبابيس خاصة للتشريح ثم شرحت بمشرط في المنطقة الخلفية للرأس بين العينين المركبتين لاستخراج الغدد البلعومية بوساطة الملقط. ثم شرحت منطقة البطن لأستخراج المعدة الوسطى. وحفظت العينات في علب صغيرة حاوية على الفورمالين بتركيز 10% محكمة الغلق لحين تحضير المقاطع النسيجية من الغدة والمعدة (Fani واخرون، 2013).

تحضير شرائح المقاطع النسيجية

أخذت العينات المحفوظة في فورمالين والتي تشمل الغدة البلعومية والمعدة الوسطى لنحل العسل المعامل وغيرالمعامل، واجريت الخطوات التالية:.

أ.ازالة الماء من الانسجة

مررت العينات بسلسلة من الكحول الاثيلي بتراكيز متدرجة 30 و50 و70 و90 و100% لمدة 2 ساعة لكل تركيز وذلك لغرض سحب الماء من انسجة العينات بشكل كامل مع تبديل الكحول 100% مرة ثانية (Al-AssaوFattah ، 2010).

ب.التنظيف

مررت العينات في محاليل من الزايلول بتركيز 75-25 و50-50 و25-27 و100% كررت العملية مرتين لضمان ازالة الكحول. بعدها اضيفت كميات قليلة من شمع البرافين بدرجة ذوبان 58-60 مْ للنماذج وسحبت كمية قليلة من المحلول الى ان تصل النماذج لدرجة التشبع، ثم وضعت في الفرن بدرجة حرارة 60 مْ لمدة ساعة الى ساعتين (Al-AssaوFattah ، 2010).

ت.الطمر والتحميل

وضعت النماذج في احواض ورقية مرتبة في صفوف متوازية باستخدام ابرة معدنية ساخنة لكي لايتجمد الشمع، وصب فوقها الشمع السائل مرة اخرى في الحوض الورقي في اناء يحتوي على ماء بارد لضمان تصلبه بشكل جيد، بعدها تم شذب المكعبات بأستعمال شفرة خاصة تثبت على قالب خشبي مناسب اذ استخدم جهاز المشراح الدوارRotary microtome لتقطيع العينات الى شرائح بسمك 10-12 مايكروميتر، بعدها وضعت هذه المقاطع على شرائح زجاجية مطلية بمسحة رقيقة من (البومين– كليسرين) مع وضع كمية ملائمة من الماء المقطر تحت الشريط ، ونشر الشريط الحاوي على المقاطع على هذه الشرائح الزجاجية على الصفيحة المعدنية الساخنة بدرجة حرارة 40- 50 م لمدة 12-24 ساعة لضمان تثبيت المقاطع على الشرائح الزجاجية وازالة التجاعيد منها (Al-AssaوFattah ، 2010).

ث.ازالة الشمع والتصبيغ

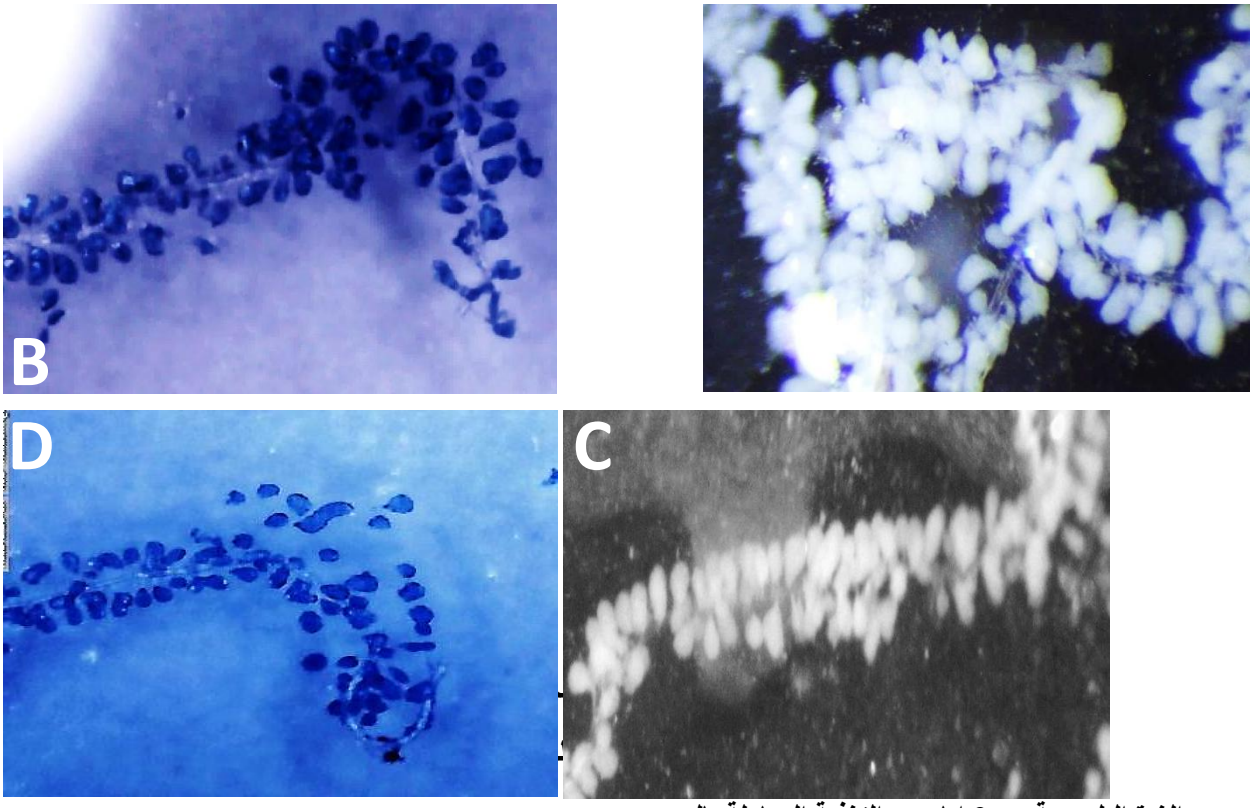
تم ازالة الشمع بإستخدام الزايلول لمدة 15 دقيقة وبدرجة حرارة المختبر بعدها مررت الشرائح الزجاجية بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي بتراكيز 100 و90 و80 و70 و60 و50 و30% لمدة 5 دقائق لكل محلول. بعدها غطست الشرائح بمحلول التصبيغ بصبغةTuluidine blue (Abdel-Fattah واخرون،2008) .

ثم وضعت غليهت كمية من مادة كندا بلسم وونم نغطيتها بغطاء الشريحة وجففت على صفيحة ساخنة بدرجة 40-50م ولمدة 24 ساعة. علماً ان صبغة التلوين حضرت باذابة 1 غم من بورمات الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر.

النتائج والمناقشة

تأثير المبيد على الغدد البلعومية

يبين الشكل(A-1) الغدة البلعومية بعد 9 ايام من معاملة المقارنة لنحل العسل الخالية من المعاملة بالمبيد إذ يلاحظ أن الفصوص ممتلئة بالافرازات وذات حجوم كبيرة ومتراصة، بينما الغدة البلعومية لنحل العسل التي تم تغذيتها مدة 9 ايام بالغذاء الحاوي على المبيد كما يوضح الشكل(B-1) فظهرت فيها الفصوص بحجم اصغر من معاملة المقارنة وتبدو الفصوص متباعدة فيما بينها. وفي الشكل(C-1) الذي يمثل جزءاً من الغدة البلعومية غير المعاملة وبعمر 14 يوم إذ يلاحظ ظهور فصوص الغدد البلعومية بحجم صغير مقارنة بمعاملة المقارنة بعد 9 ايام كما هو موضح في الشكل(A-1) لقلة افرازاتها للغذاء الملكي، أما الشكل(D-1) والذي يمثل عمر 14 يوم للغدة البلعومية المعاملة بالمبيد. فهو يبين تأثير المبيد بشكل كبير على الغدة فالفصوص صغيرة للغاية ومتباعدة بشكل واضح فيما بينها. وبذلك نستنتج ان مبيد اميداكلورايد يؤثر سالباً على نمو وتطور الغدة للشغالات المتعرضة له من خلال تأثيره على تخليق البروتين من الغدة وتسبب في انخفاض كمية الغذاء الملكي المنتج وبالتالي يؤدي الى قلة الحضنة الموضوعة. أما المدة التي تعرضت لها شغالات نحل العسل للمبيد بشكل مستمر في التجربة لمدة 14 يوماً فمن الممكن القول انها تمثل حالة المحاكات للظروف الاعتيادية في البيئة، التي يتعرض لها النحل اثناء تغذيته على حبوب لقاح ورحيق النباتات في الحقول المعاملة بمبيد اميداكلورايد، بالاضافة الى تخزين المبيد داخل طوائف نحل العسل وبهذا يكون مدة بقاءه اكثر وبالتالي استمرار تأثيره على الغدة البلعومية مما يوثر سلباً على الخلية. وان النتائج التي تم الحصول عليها هي تتوافق لنتائج البحوث الاخرى (Smodis-Skerl and Gregorc، 2010 وHeylen واخرون،2010).

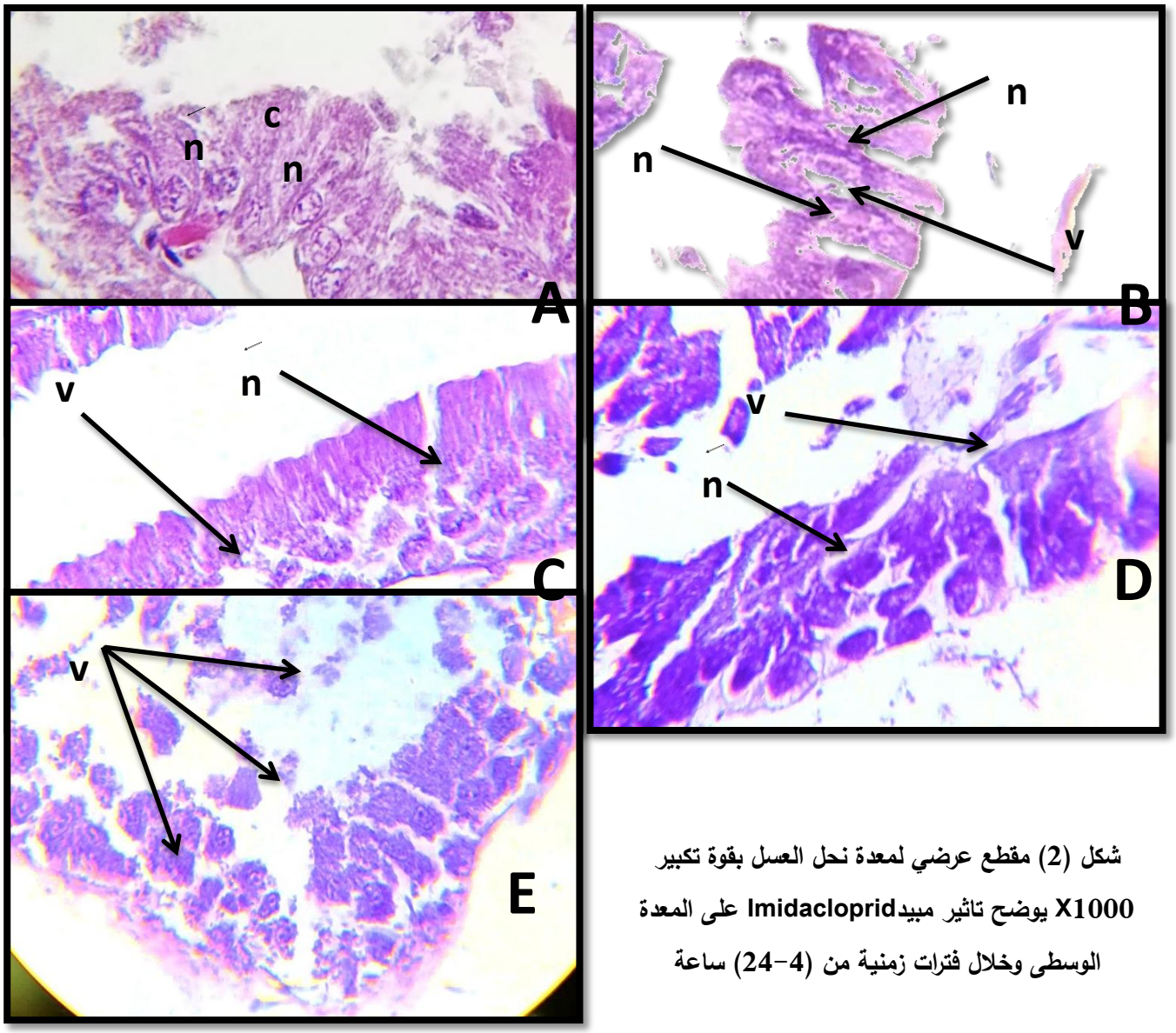


B: الغدة البلعومية بعد 9 ايام من التغذية المعاملة بالمبيد
C: معاملة المقارنة للغدة البلعومية بعمر 14 يوماً
D: الغدة البلعومية بعد 14 يوماً من التغذية المعاملة بالمبيد

تأثير المبيد اميداكلورايد Imidacloprid على المعدة الوسطى للشغالات

أظهرت نتائج تغذية شغالات نحل العسل على المحلول السكري والغذاء البروتيني المحتويان على المبيد اميداكلورايد ان هلاك الشغالات بدأ بعد 4 ساعات من التعرض للمبيد وهو يتقارب الى ماتوصل اليه Atkins (2003)، وهي تمثل التاثيرات الفسلجية على المعدة الوسطى في هذه الدراسة، وكما هو موضع في الشكل (2–A)، أما معاملة المقارنة والتي يمكن رؤية الخلايا الطلائية مع وجود نويات(n) بشكل واضح وطبيعي وظهور السايتوبلازم (c) بشكل متجانس وكثيف وحدود الخلايا بشكل واضح، اما بالنسبة للخلايا الميتة جراء تغذيتها بغذاء ملوث بالمبيد بعد مرور 4 ساعات فوجد الشكل (2- B) ان الخلايا الطلائية تظهر بشكل غير طبيعي، والنواة غير واضحة (n)، وتحتوي بعض الأنوية على حطام، أما السايتوبلازم (c) فيبدو متكتلا وغير متجانس مع ظهور عدد من الفجوات (v) ولا توجد حدود واضحة للخلايا. ويوضح الشكل (2–C) المعاملة بعد 8 ساعات من التغذية إذ تبين ان النواة (n) في الخلايا الطلائية غير واضحة ومتناثرة، والسايتوبلازم (c) متكتلاً وبشكل

محبب، مع فجوات ظاهرة بشكل واضح وبأحجام مختلفة (v)، وحدود الخلية لايمكن تمييزها. في حين يبين الشكل(D–2) الذي يمثل المعاملة بعد 12 ساعة بالمبيد، حدوث تمزق في الخلايا الطلائية وانحلال النواة (n)، وخروج السايتوبلازم من الخلايا الطلائية. وان السايتوبلازم يظهر متكتلا بشكل واضح، والخلايا ليس لها مظهر معين، وأغشية الخلايا غير مرئية. أما الشكل(E–2) الخاصة بالمعاملة بعد 24 ساعة، إذ تبين بقاء القليل من النواة في الخلايا الطلائية، وان معظمها قد تناثرت، وانفجار الخلايا وتناثرها بشكل حُبيبي، وانحلال اغشية الخلايا بشكل تام.



شكل (2) مقطع عرضي لمعدة نحل العسل بقوة تكبير X1000 يوضح تاثير مبيدImidacloprid على المعدة الوسطى وخلال فترات زمنية من (4–24) ساعة

ويستنتج مما سبق أن المبيد اميداكلورايد وفي ساعات قليلة يمكن ان يؤثر بشكل طفيف علىنسيج المعدة الوسطى دون التأثير على باقي اجزاء النسيج مما يؤدي الى التأثير على عمل المعدة الوسطى وان كان التأثير قليلاً، ويمكن التعويض عن الضرر في النسيج عن طريق الخلايا المتجددة (Yuواخرون، 1984). لكن مع زيادة ساعات التغذية وتراكم المبيد في جسم نحل العسل فأن قدرتها على التقليل من اضرار المبيد او التخلص منها تبدأ بالتراجع وبالتالي لا تستطيع الخلايا المتجددة من التعويض عن الضرر الذي يحصل وقد تتضرر الخلايا المتجددة ايضا ، ونتيجة لذلك قد يتسبب عدم قدرة نحل العسل على التغذية بشكل سليم مما يؤدي الى تجويعها وبالتالي الى الموت. ويذكر انه قد تم تقدير كمية المبيد في المحلول السكري والغذاء البروتيني بعد فترة الانتهاء من التجربة البالغة 14 يوماً، فوجد ان مستوى المبيد في المحلول السكري والغذاء البروتيني كان بتركيز 1.8 و2.7 مايكروغرام/كغم على التوالي مما يعني احتمالية فقدان المبيد من هذه الاغذية إما بالتحلل او بالتلاشي وبنسبة 10% تقريبا.

المصادر

1 Abdel-Fattah, S. A. ; El-Sanhoury, M. H. ; El-Mednay, N. M. ; and Abdel-Azeem, F. (2008). "Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids," *International Journal of Poultry Science*, 7(3)215–222.

2 Atkins, E. L. (2003). The Hive and the Honey Bee: Injury to Honey Bees by Poisoning, p.1153-1208. Edit by Joe M. Graham. Revised ed. Dadant& Sons. Hamilton, ILLINOIS. U.S.A.
3 Chapman, R. F. (1998). The Insects: Structure and Function. 4th edn. Cambridge Univesity Press: Cambridge.
4 [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2008. A contribution to the international initiative for the conservation and sustainable use of pollinators: rapid assessment of pollinators status. Food and Agriculture Organization of the United Nations,Rome,Italy.
5 Fani, H. ; Chrisovalantis, P. ; Leonidas C. ; Taylan D. ; Maria, B. ; Christina, E. ; Gerard, A. (2013). Sublethal doses of imidacloprid decreased size of hypopharyngeal glands and respiratory rhythm
6 of honeybees in vivo. Apidologie (2013) 44:467–480.
7 Feng, M., Y. and Fang, J. Li. (2009).Proteomic analysis of honeybee worker (Apismellifera) hypopharyngeal gland development.*BMC Genomics* 10: 645. doi:10:1186?1471-2164-10-645.
8 Fattah, F. A. and Al-Assas, K. (2010). Histopathological comparison of galls induced by *Anguina tritici* galls subquently colonized by *Rathayibacter tritici* in wheat Nematol.medit.38:173-177.
9 Huang Z.Y. ; Otis G.M.and Teal P.E.A. (1989) Nature of brood signal activating the protein synthesis of hypopharyngeal gland in honey bees, *Apismellifera* (Apidae: Hymenoptera) , Apidologie 20, 455–464.
10 Nauen R. ;Reckmann U. ;Armborst S. ;Stupp H. P.and Elbert A. (1999).Whitefly-active metabolites of imidacloprid: biological efficacy and translocation in cotton plants.-Pestic. Sci., 55: 265-271.
11 Ohashi, K. ; Natori, S.and Kubo, T. (1999). Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an agedependent role change of the worker honeybee (Apismellifera L.). Eur. J. Biochem. 265, 127–133.
12 Palma, M.S.(1992). Composition of freshly harvested Brazilian royal jelly identification of carbohydrates from the sugar fraction. J. Apic. Res. 31, 42–44.
13 Vidau, C.;Diogon, M. ;Aufauvre, J.; Fontbonne, R. andViguès, B.(2011) Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortalityof honeybees previously infected by Nosemaceranae. PLoS ONE 6(6), e21550.
14 Jeschke, P. ;Nauen, R. ; Schindler, M. and Elbert, A. (2011) Overview of the Status andGlobal Strategy for Neonicotinoids. J. Agric. Food Chem. 59(7), 2897–2908.
15 Tautz, J. (2008). *The buzz about bees: Biology of a superorganism*. Berlin: Springer-Verlag.
16 Schmuck R. ;Scho¨ning R ; Stork A. andSchramel O. (2001) Risk posed to honeybees(Apismellifera L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers.Pest Management Science 57: 225–238.
17 Suchail S. (2001). Etude pharmacocinétiqueetpharmacodynamique de la létalitéinduite par l'imidaclopride et sesmétabolites chez l'abeilledomestique (Apismellifera L.). ThèseDoctorat.Univ. Claude Bernard- Lyon 1, 166 p.
18 SmodišŠker, M.I. ;Gregorc, A. (2010). Heat shock proteins and cell death in situ localisation in hypopharyngeal glands of honeybee (Apismelliferacarnica) workers after imidacloprid or coumaphos treatment. Apidologie 41, 73–86.
19 Heylen, K., Gobin, B., Arckens, L., Huybrechts, R., Billen, J. (2010) The effects of four crop protection products on the morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of the European honeybee, Apismellifera. Apidologie 42, 103–116.
20 Rortais, A. G. ; Arnold, M. P. and Halm, F. (2005). Modes of honeybees (sic) exposure to systemic insecticides:Estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie* 36: 71-83.
21 Tautz, J. (2008). *The buzz about bees: Biology of a superorganism*. Berlin: Springer-Verlag.