

NEV Dissertatieprijs 2021

Neonicotinoïden in de natuur: de effecten op aquatische ongewervelden en hun rol in ecosystemen

S. Henrik Barmantlo

KEY WORDS

Bestrijdingsmiddelen, gemeenschappen, insecticiden, Levend Lab, ongewervelden

Entomologische Berichten 82 (6): 190-195

Het doel van mijn proefschrift was om landbouwchemicaliën in een meer milieurelevante context te onderzoeken om zo inzicht te krijgen in de risico's van onder andere neonicotinoïden in het aquatisch milieu. Neonicotinoïden zijn 's werelds meeste verkochte en gebruikte insecticiden en zijn daardoor wereldwijd te vinden in oppervlaktewateren. Door experimentele inzichten uit de proefsloten van het buitenlaboratorium het 'Levend Lab' ontdekten we dat huidige oppervlaktewaterconcentraties van neonicotinoïden sterke effecten hebben op insectenstanden, biodiversiteit en het functioneren van het aquatische ecosysteem. Hoe sterk de effecten zich manifesteren bleek afhankelijk te zijn van milieucondities in de sloot zoals de aanwezigheid van kunstmest of voedselbeschikbaarheid. Tevens konden we concluderen dat veel van de gevonden effecten niet geobserveerd zouden zijn in gestandaardiseerde laboratoriumproefopzetten omdat deze normaliter niet werken met natuurlijk gekoloniseerde gemeenschappen en daarmee de chemische invloed op natuurlijke interacties missen. Als er bij bestrijdingsmiddelen een vermoeden is op chemisch geïnduceerde ecologische risico's, dan moeten die ook geëvalueerd worden in de meeste natuurlijke testopzetten.

Wat zijn neonicotinoïden?

In de vroege jaren 1990 kwamen neonicotinoïden als een nieuwe groep insecticiden op de markt, bedoeld als antwoord op persistente middelen. De neonicotinoïden onderscheiden zich van hun voorgangers doordat ze ontwikkeld waren om niet op te hopen in organismen en sneller af te breken in het milieu (Sánchez-Bayo et al. 2016), al blijkt dat ze alsnog behoorlijk persistent kunnen zijn. Daarnaast hebben ze een specifieke werking waardoor ze vooral op ongewerveld leven aangrijpen. De naam 'neonicotinoïde' staat namelijk voor 'nieuwe nicotine-achtige insecticiden'. Dit wil zeggen dat ze, net zoals nicotine, hechten aan dezelfde acetylcholine-receptoren. Dit leidt tot constante overstimulatie van het neurale netwerk wat uiteindelijk leidt tot verlamming en de dood van de desbetreffende plaaginsecten, zoals bladluis of witte vlieg. Daarnaast was het voordeel dat neonicotinoïden direct door planten kunnen worden opgenomen en daardoor het gewas van binnenuit beschermen (Jeschke et al. 2008).

Door deze toepassing en succesvolle werking tegen ongewervelde plagen, namen de neonicotinoïden al snel de mondiale markt over en werden ze binnen enkele decennia sinds hun ontwikkeling de meest verkochte insecticiden wereldwijd (Jeschke et al. 2011). Als gevolg worden neonicotinoïden nu over de hele aarde waargenomen in oppervlaktewateren, vaak boven de gestelde milieukwaliteitsnormen (Morrisey et al. 2015).

Neveneffecten testen

Door hun toepassing en eigenschappen komen neonicotinoïden en andere in het agrarisch gebied toegepaste middelen onbedoeld in het aangrenzende milieu terecht via processen zoals uitspoeling of depositie (Goulson 2013). Hier kunnen ze effecten hebben op zogenoemde 'non-target' (niet-doelwit) organismen. Dit risico wordt vóór en gedurende toepassing van de bestrijdingsmiddelen beoordeeld middels gestandaardiseerde protocollen. De meeste van deze protocollen voor zoetwaterongewervelden beschrijven een toetsing van de toxiciteit door in kleine bekerglazen een aantal standaard test-organismen (zoals de watervlo *Daphnia magna* Straus of de dansmug *Chironomus riparius* Meigen) bloot te stellen aan het middel en vervolgens de overleving, groei of reproductie te monitoren (OECD 2004a, 2004b). De testorganismen worden daarbij naar believen ('ad libitum') gevoerd en bij constante temperaturen en in schoon mediumwater gehouden. Dit zorgt ervoor dat de resultaten wereldwijd vergeleken kunnen worden. Wanneer zulke proeven een risico aanduiden worden vaak extra toetsen uitgevoerd waarin kleine gemeenschappen van leven worden gesimuleerd, veelal in kleine tot middelgrote vijvers of 'mesocosms' (van tot enkele kubieke meters omvang). Al deze proeven missen een gezamenlijk aspect: ze zijn niet natuurlijk en kennen dus ook niet de veelheid aan ecologische relaties die natuurlijke ecosys-

NEV Dissertatieprijs 2021

Tijdens de 33e Nederlandse Entomologendag (17 december 2021) is de veertiende NEV Dissertatieprijs uitgereikt aan Dr. Henrik Barmentlo, voor zijn proefschrift 'Neonicotinoids in nature: The effects on aquatic invertebrates and their role in ecosystems', op 3 november 2020 verdedigd aan de Universiteit Leiden. De prijs bestaat uit een geldbedrag plus een oorkonde en wordt jaarlijks toegekend voor het beste proefschrift op het gebied van de entomologie, verdedigd aan een Nederlandse universiteit in het voorgaande academische jaar (1 september – 31 augustus).

De jury roemt de innovatieve en integrale experimentele aanpak in dit proefschrift, waarbij gebruik werd gemaakt van experimentele slootjes in een door crowdfunding opgezet Living Lab, om de effecten van pesticiden op aquatische ongewervelden te onderzoeken. In deze benadering wordt de invloed van de omgeving (bijvoorbeeld de concentraties van kunstmest) op ecotoxicologie duidelijk. Barmentlo onderzocht meerdere organisatieniveaus, van individu tot levensgemeenschappen, en het proefschrift geeft inzichten in verschuivingen

van soorten onder natuurlijke omstandigheden. Het juryrapport concludeert dat dit proefschrift implicaties heeft voor standaard ecotoxicologische toetsen en zeer belangrijk is voor de entomologie.

During the 33rd Annual Dutch Entomologists Meeting, on 17 December 2021, the fourteenth Netherlands Entomological Society (NEV) Dissertation Award was presented to Dr. Henrik Barmentlo, for his thesis 'Neonicotinoids in nature: The effects on aquatic invertebrates and their role in ecosystems', defended on 3 November 2020 at the University of Leiden. This price comprises a sum of money and a certificate of appreciation, and is awarded for the best doctoral thesis in the field of entomology, defended at a Dutch university in the preceding academic year (1 September – 31 August).

The jury praises the innovative and integral experimental approach of this thesis, using experimental ditches in a Living Lab supported by crowdfunding, to investigate the effects of pesticides on aquatic invertebrates. This approach sheds light on the interactions between different factors in the environment (for



Foto: Anne Uilhoorn

example concentrations of fertilizers) on ecotoxicology. Barmentlo studied multiple levels of organization, from species to communities, and the thesis provides insight in shifts in species composition under natural conditions. The jury's report concludes that this thesis has implications for standard tests of ecotoxicology and is a very important contribution to the field of entomology.

temen kenmerken. Directe veldobservaties zijn wel natuurlijk, maar die missen dan juist weer het experimentele en gecontroleerde karakter dat ons de mogelijkheid geeft een specifieke vorm van vervuiling te onderzoeken en de resultaten te vergelijken tussen studies.

Het Levend Lab

Uit analyse van de Nederlandse bestrijdingsmiddelenatlas (www.bestrijdingsmiddelenatlas.nl) en toxiciteitsgegevens uit de literatuur (Morrissey *et al.* 2015) leerden ik en mijn collega's van het Centrum voor Milieuwetenschappen (CML) van de Universiteit Leiden dat neonicotinoidenconcentraties in het oppervlaktewater vaak voorkomen in gehalten die overeenkomen met het bereik aan waargenomen toxische effectwaarden. Dit was de reden om te starten met onderzoek naar de effecten op aquatisch leven en het functioneren van het aquatisch ecosysteem.

Hiervoor was een systeem nodig dat de kenmerken van het

laboratorium had, namelijk gestandaardiseerd en vergelijkbaar, maar ook kenmerken van het milieu, namelijk met natuurlijke gemeenschappen van dieren, planten en microben. Vanuit die wens hebben we in Leiden het 'Levend Lab' ontworpen en opgezet; een buitenlaboratorium bestaande uit 38 naast elkaar gelegen sloten die er alle hetzelfde uitzagen, maar op natuurlijke wijze gekoloniseerd kunnen worden (figuur 1). Voor de aanleg van deze faciliteit was echter niet genoeg geld beschikbaar binnen mijn promotieonderzoek en zo startte we in gezamenlijkheid (collega's van het instituut CML van de Universiteit Leiden waaronder Martina Vijver, Maarten Schrama en ikzelf)

1. Overzicht van het 'Levend Lab' inclusief netten voor verschillende doeleinden (zoals monitoring van insectenstanden). De sloten zijn voor en na experimenten aangesloten op het grotere waterlichaam. Vissen worden geweerd met gaas en gedurende experimenten zijn de sloten hydrologisch afgesloten met platen. Foto: Henrik Barmentlo

1. Overview of the 'Living Lab', including netting used for various purposes (such as monitoring of insects). The ditches are connected to the larger body of water before and after experiments. Fish are excluded using gauze and plates are used to hydrologically isolate the ditches during experiments.



een crowdfunding-campagne om het Levend Lab te bekostigen. Dankzij de gulle giften van vele donateurs startte in de herfst van 2016 de aanleg van het buitenlaboratorium.

Vijfentwintighonderd maal meer toxisch

In het eerste jaar wilden we de mogelijke relatie tussen de neonicotinoïde thiacloprid en het gebruik van kunstmest onderzoeken. Een vaak grote onbekende is namelijk wat meerdere landbouwchemicaliën gezamenlijk voor effect kunnen uitoefenen op levende organismen. Hiervoor kozen we eerst voor kunstmest aangezien dit bij vele teelten wordt toegepast, en dus vaak gepaard gaat met het gebruik van thiacloprid. Om dit te onderzoeken simuleerden we de laboratoriumprotocollen van de 'Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling' (OECD) door kleine kooien te plaatsen in elke sloot waarin we waterpissebedden, watervlooien, dansmuggen en larven van haften blootstelden aan alleen thiacloprid of alleen kunstmest of de combinatie van beiden (versus een controle situatie). Er was echter één groot verschil met de laboratoriumopzet: de dieren moesten in hun eigen voedsel voorzien vanuit het slootwater. Daarnaast verschilden uiteraard ook de hoeveelheid daglicht, watertemperatuur etcetera aangezien deze niet gereguleerd worden in een sloot, maar wel in het laboratorium.

De meest opzienbarende resultaten vonden we voor de watervlo *D. magna*, een organisme dat bekend staat als zeer ongevoelig voor neonicotinoïden (Pavlaki et al. 2011). In onze proef vonden we echter dat de groei en reproductie sterk was verminderd bij een concentratie die ongeveer 2500 keer lager lag dan de concentratie in de laboratoriumproeven (Barmantlo et al. 2018). Onze testconcentratie viel binnen het bereik van concentraties die daadwerkelijk worden waargenomen in oppervlaktewater in Nederland en elders. Wanneer kunstmest en

het insecticide thiacloprid gezamenlijk werden toegevoegd, observeerden we echter geen toxische effecten, niet alleen voor *D. magna*, maar ook voor de andere soorten. De meest waarschijnlijke verklaring voor deze observaties is dat de sloot een ingewikkelde omgeving is. In tegenstelling tot het laboratorium, zijn in de sloot vele vormen van stress aanwezig. Zulke stress-opstress-situaties uitten zich vervolgens in een hogere toxiciteit. Het gebruik van kunstmest stimuleert echter primaire productie (zoals algengroei), wat leidt tot hogere voedselniveaus die de testsoorten mogelijk kunnen benutten om beter met deze toxische druk om te gaan.

Deze hypothese onderzochten we een jaar later nogmaals door de larven van de waterjuffer het lantaarntje *Ischnura elegans* (Vander Linden) bloot te stellen aan thiacloprid. Hier voerden we echter de helft van de waterjuffers 'naar believen' terwijl de andere helft jaagde op prooien uit de sloot. We vonden geen effecten op overleving, maar voor alle onderzochte niet lethale eindpunten (consumptie, groei, vervellen, mobiliteit en uitsluipen) gold dat de gevoerde individuen minder aangetast werden dan die zelf moesten jagen (Barmantlo et al. 2019a).

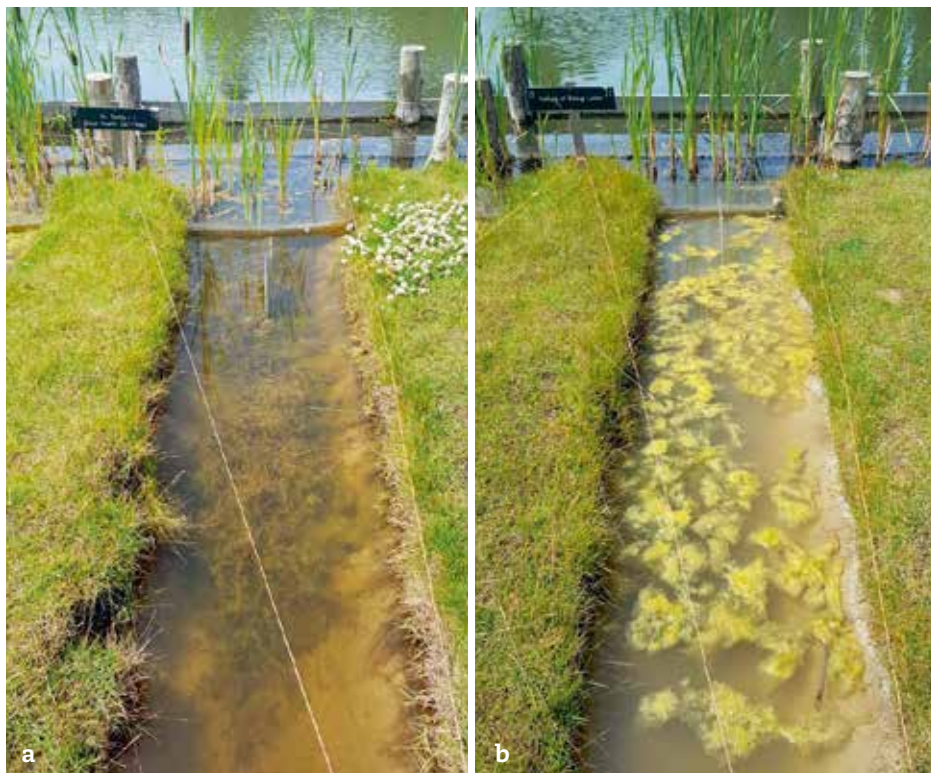
Dit type resultaten wordt in de laboratoriumopzettingen doorgevoerd niet waargenomen door de hoge standaard van leven en het 'naar believen' voerbeleid. Onze manier van toetsen duidde risico's voor de hele ongewervelden gemeenschappen aan omdat de testsoorten kenmerkend zijn in het zoetwatermilieu en representatief zijn voor verschillende functionele groepen.

Gemeenschappen en ecosystemen

In twee afzonderlijke proeven hebben we de effecten van milieurelevante concentraties van thiacloprid op natuurlijk gevormde gemeenschappen onderzocht. De eerste proef was in 2017 met wederom of alleen thiacloprid, of alleen kunstmest



2. Soortenopname van aquatische macrofauna. Foto: Edwin Giesbers
2. Aquatic macrofauna species identification.



3. (a) Controle sloot (geen toediening van landbouwchemicaliën) en (b) een sloot met toegevend thiacloprid (één maand na de toevoeging) die gedomineerd wordt door draadalgen. Foto: Henrik Barmantlo

3. (a) Control ditch (no agrochemicals applied) and (b) a ditch with added thiacloprid (one month after application) dominated by floating algal beds.

of beide toegevoegd. In de tweede proef een jaar later bestudeerden we alleen de milieurelevante concentratiereeks van thiacloprid. Beide proeven begonnen met het doormeten van de 'nulsituatie', ofwel de kolonisatie van de sloten door fauna en flora. Zelf hebben we nooit soorten toegevoegd zodat de ontwikkeling van gemeenschappen en de relaties tussen soorten natuurlijk tot stand kwamen. Hierdoor bestaat de kans dat de gemeenschappen ongebalanceerd zijn in soorten en aantallen, zoals vaak bij mesocosm-experimenten gebeurt na verloop van tijd. Soortenopnames in het Levend Lab met schepnetten (figuur 2, Barmantlo et al. 2019b), uitsluitvallen (Barmantlo et al. 2021) en eDNA (gemeten door Kevin Beentjes van Naturalis, Beentjes et al. 2021) lieten echter telkens zien dat de sloten zeer vergelijkbaar werden gekoloniseerd; een ideale uitgangssituatie voor experimenten.

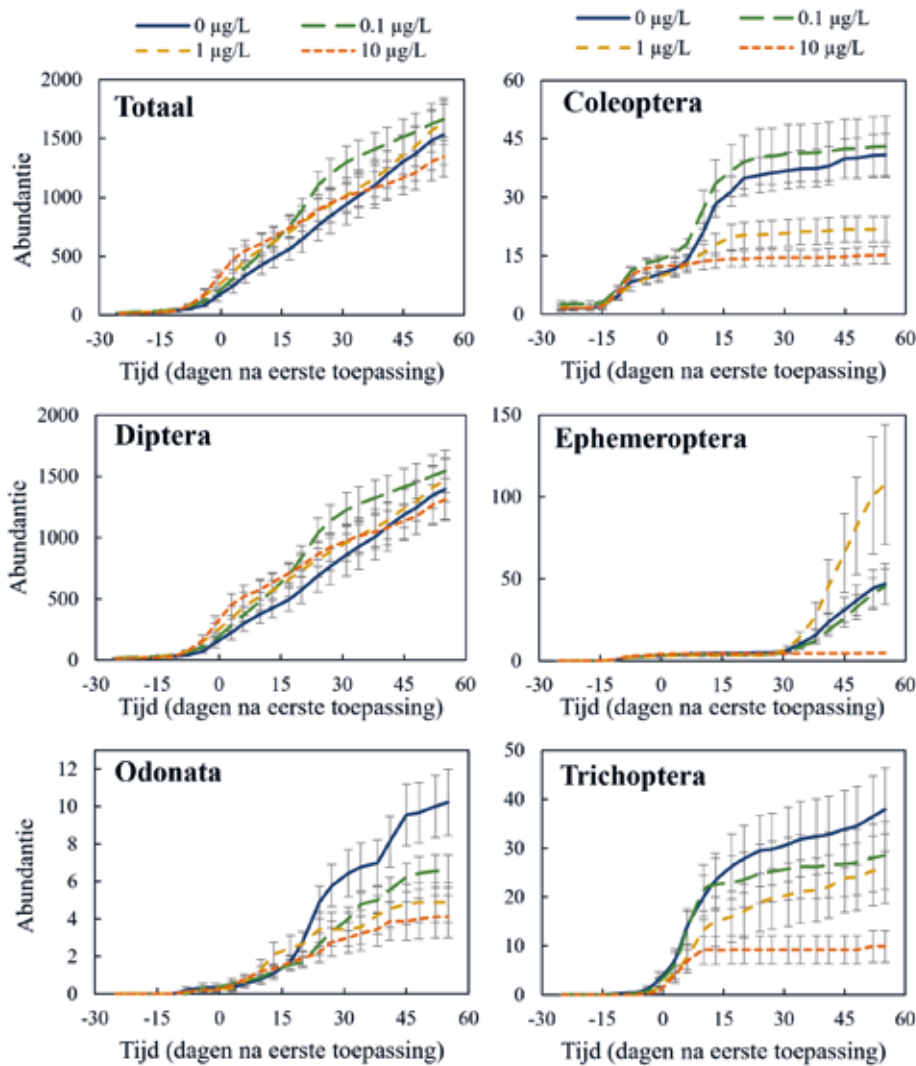
Tegen onze verwachtingen in was er echter in beide proeven geen effect van thiacloprid waarneembaar op de soortenrijkdom of alfa-diversiteit van de aquatische gemeenschappen. Gemiddeld gezien vonden we dus een gelijk aantal soorten per behandeling. Dit riep de vraag op of de gemeenschappen überhaupt niet werden aangetast. Wat bleek echter was dat de gemeenschappen in de sloten behandeld met thiacloprid wel anders van samenstelling dan die in de controle situatie (beta-diversiteit). Zo verdwenen soorten zoals de elzenvlieg *Sialis lutaria* (Linnaeus), 50% van alle dansmuggen en het gewoon bootsmannetje *Notonecta glauca* Linnaeus, terwijl er weer toenames waren in bijvoorbeeld diverse soorten watermijten (Barmantlo et al. 2019b). Opmerkelijk genoeg waren de gemeenschappen vier maanden na toevoeging van het insecticide nog steeds aangetast, terwijl de thiacloprid in deze tijdspan al afgebroken was. Dit betekent dus dat de effecten van thiacloprid waarschijnlijk nog indirect na-ebben via soorten interacties.

In ons tweede experiment stelden we onszelf de vraag: wat maakt het uit als gemeenschappen veranderen ten opzichte van hun oorspronkelijk situatie? Hierom onderzochten we of de gemeenschap als een geheel werd aangetast en wat dit doet met het functioneren van het ecosysteem. De ongewervelde soorten die leven in de sloot zijn immers verantwoordelijk voor allerlei

ecosysteemprocessen, zoals de afbraak van bladmateriaal op de bodem waarmee ook de doorstroom wordt gereguleerd (Verdonchot et al. 2011). In dit experiment ontdekten we dat gemeenschappen minder hecht waren doordat soorten die normaliter gezamenlijk voorkwamen dat nu niet of in mindere mate deden. Daarnaast waren er tot 85% afnames in de biomassa van organismen behorend tot de gilde van voedselverzamelaars en/of -versnipperaars. Dit had consequenties voor het functioneren van het ecosysteem aangezien door het wegvallen van deze gilde organisch materiaal niet langer werd opgeruimd van de bodem en draadalgen niet effectief werden geweerd wat daarop weer zorgde voor verliezen in fytoplankton (figuur 3). De milieurelevante concentratie van een neonicotinoïde insecticide heeft dus daadwerkelijk ernstige consequenties voor de ongewervelde zoetwaterbiodiversiteit en daarmee het functioneren van het ecosysteem.

Insect decline en neonicotinoïden?

Een belangrijke vraag was ook of deze neonicotinoïde insecticiden een rol spelen in de voortdurende verliezen in natuurlijke insectenstanden (Brain & Anderson 2019, Gilburn et al. 2015). In onze sloten, die natuurlijk gekoloniseerd worden door insecten (en andere organismen), konden we een inschatting maken of huidige milieurelevante concentraties van neonicotinoïden inderdaad insectenstanden aantasten. Gedurende drie maanden ving we met uitsluitvallen 55.574 insecten uit 36 sloten die werden blootgesteld aan vier concentraties van thiacloprid (0, 0,1, 1 en 10 $\mu\text{g/L}$). Deze werden alle tenminste tot op orde gedetermineerd en we ontdekten dat zowel de aantallen als de biomassa van kevers (Coleoptera), schietmotten (Trichoptera), libellen (Odonata), haften (Ephemeroptera) en tweevleugeligen (Diptera) werden aangetast door de neonicotinoïde. De afname aan kevers (91%) en haften (98%) in de behandeling met de hoogste concentratie waren het hoogst, vergeleken met de controle (figuur 4). In dezelfde behandeling werd het aantal soorten dansmuggen (de doorgaans meest soortenrijke familie in oppervlaktewater) effectief gereduceerd tot één soort: *Procladius*



4. Gemiddelde cumulatieve aantallen van uitgevlogen insecten (per 60 cm² wateroppervlak, ± standaard fout van het gemiddelde, n=9) per nominale concentratie van thiacloprid. Thiacloprid werd toegediend op t=0 and t=14 (in dagen). Figuur eerder gepubliceerd in Barmantlo et al. 2021.

4. Average cumulative number of emerged insects (per 60 cm² water surface level, ±SEM, n = 9) per nominal concentration of thiacloprid. Thiacloprid was applied on t=0 and t=14 (in days). Figure published by Barmantlo et al. 2021.

choreus Meigen die zelfs met 310% toenam in aantallen. Doordat deze soort echter relatief klein is, maakte dat de verliezen in biomassa niet goed.

Ook deze resultaten hebben sterke implicaties voor het milieu. Zo zijn de uitsluitende aquatische insecten bijvoorbeeld belangrijk voor tal van insectivore vogels en is eerder vastgesteld dat populaties van deze vogels negatief geassocieerd zijn met gebruik en oppervlakte waterconcentraties van neonicotinoïden (Hallmann et al. 2014, Li et al. 2020). Onze resultaten indiceren dat dit kan komen door duidelijke verliezen van hun voedselbron.

Van testsoorten naar ecosystemen

Neonicotinoïden worden tegenwoordig minder gebruikt en in de Europese Unie bestaat zelfs een verbod op de meeste toepassingen. Er worden echter wel elk jaar uitzonderingen gemaakt op dit verbod middels noodverordeningen. Tegelijkertijd werd tijdens de laatste maand van het schrijven van mijn proefschrift thiacloprid opnieuw geëvalueerd. Er werd geconcludeerd dat er 'op het gebied van ecotoxicologie, geen kritische zorgen werden geïdentificeerd' (vertaald uit European Parliament 2019). Deze bewering is voornamelijk gebaseerd op proeven met honingbijen *Apis mellifera* Linnaeus; er was een tekort aan aquatische data.

De resultaten uit mijn proefschrift laten zien dat er duidelijke redenen zijn tot zorg en dat deze zorgen niet worden ontdekt binnen de standaard toetsen van ecotoxicologische effecten van bestrijdingsmiddelen. Dit komt voornamelijk doordat (i) het milieu en het mengsel van landbouwchemicaliën de mate van toxiciteit bepaalt en (ii) ecologische kettingreacties in een ecosysteem niet adequaat kunnen worden ingeschat zonder het gebruik van natuurlijk ontwikkelde gemeenschappen. Data uit veldrelevante experimenten zijn dan ook zeer relevant wanneer effecten op het ecosysteem vermoed worden, ondanks dat een middel specifiek ter bestrijding van één of enkele plaagsoort(en) ontwikkeld is.

Dankwoord

Ik wil graag mijn promotors prof. dr. Ing. Martina Vijver, prof. dr. Ir. Peter van Bodegom en prof. dr. Geert de Snoo danken voor hun geweldige begeleiding. Dankzij hun verschillende invalshoeken en expertise kwam dit proefschrift tot stand. Daarnaast dank ik al mijn coauteurs, collega's, studenten en vele vrijwilligers voor hun werk en support. Ten slotte is dit proefschrift een feit geworden door iedereen die zo genereus heeft gedoneerd aan de bouw van het Levend Lab, heel hartelijk dank.

Literatuur

- Barmantlo SH, Parmentier EM, De Snoo GR & Vijver MG 2018. Thiacloprid-induced toxicity influenced by nutrients: Evidence from in situ bioassays in experimental ditches. *Environmental Toxicology and Chemistry* 37: 1907-1915.
- Barmantlo SH, Vriend LM, Van Grunsven RHA & Vijver MG 2019a. Environmental levels of neonicotinoids reduce prey consumption, mobility and emergence of the damselfly *Ischnura elegans*. *Journal of Applied Ecology* 56: 2034-2044.
- Barmantlo SH, Schrama M, Van Bodegom PM, De Snoo GR, Musters CJM & Vijver MG 2019b. Neonicotinoids and fertilizers jointly structure naturally assembled freshwater macroinvertebrate communities. *Science of the Total Environment* 691: 36-44.
- Barmantlo SH, Schrama M, De Snoo GR, Van Bodegom PM, Van Nieuwenhuijzen A & Vijver MG 2021. Experimental evidence for neonicotinoid driven decline in aquatic emerging insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118(44): e2105692118.
- Beentjes KK, Barmantlo SH, Cieraad E, Schilthuizen M, Van der Hoorn BB, Speksnijder AG & Trimbos KB 2022. Environmental DNA metabarcoding reveals comparable responses to agricultural stressors on different trophic levels of a freshwater community. *Molecular ecology* 31: 1430-1443.
- Brain RA & Anderson JC 2019. The agro-enabled urban revolution, pesticides, politics, and popular culture: a case study of land use, birds, and insecticides in the USA. *Environmental Science and Pollution Research* 26: 21717-21735.
- European Parliament 2019. P8_TA(2019)0199. Active substances, including thiacloprid. European Parliament resolution of 13 March 2019 on the draft Commission implementing regulation amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011.
- Gilburn AS, Bunnefeld N, McVean Wilson J, Botham MS, Brereton TM, Fox R & Goulson D 2015. Are neonicotinoid insecticides driving declines of widespread butterflies? *PeerJ* 2015: 1-13.
- Goulson D 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* 50: 977-987.
- Hallmann CA, Foppen RPB, Van Turnhout CAM, De Kroon H & Jongejans E 2014. Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature* 511: 341-343.
- Li Y, Miao R & Khanna M 2020. Neonicotinoids and decline in bird biodiversity in the United States. *Nature Sustainability* 3: 1027-1035.
- Jeschke P & Nauen R 2008. Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science* 63: 1100-1106.
- Jeschke P, Nauen R, Schindler M & Elbert A 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids†. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 59: 2897-2908.
- Morrissey CA, Mineau P, Devries JH, Sanchez-Bayo F, Liess M, Cavallaro MC & Liber K 2015. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International* 74: 291-303.
- OECD 2004a. OECD Guideline for testing of chemicals - *Daphnia* sp., acute immobilization Test 202. Paris, France.
- OECD 2004b. OECD Guideline for the testing of chemicals - Sediment water chironomid toxicity test using spiked sediment Test 218. Paris, France.
- Pavlaki MD, Pereira R, Loureiro S & Soares AM 2011. Effects of binary mixtures on the life traits of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and environmental safety* 74: 99-110.
- Sánchez-Bayo F, Goka K & Hayasaka D 2016. Contamination of the aquatic environment with neonicotinoids and its implication for ecosystems. *Frontier in Environmental Science* 4: 71.
- Verdonschot RCM, Keizer-vlek HE & Verdonschot PFM 2011. Biodiversity value of agricultural drainage ditches: a comparative analysis of the aquatic invertebrate fauna of ditches and small lakes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 21: 715-727.

Geaccepteerd: 19 oktober 2022

Summary

Neonicotinoid in nature: the effects on aquatic invertebrates and their role in ecosystems

The aim of my thesis was to study agricultural chemicals (agrochemicals) in a more environmentally relevant context in order to improve our insights into the risks of, amongst others, neonicotinoid insecticides in the aquatic environment. Neonicotinoids are the world's most used and sold group of insecticides. For this reason, they are observed in surface waters across the globe, often in concentrations that exceed environmental norms. To evaluate their potential risks in the aquatic environment, we developed a new outdoor test facility, the 'Living Lab', which facilitates a controlled experimental character, while it simultaneously offers the possibility to study naturally formed species interactions. By performing several tests from the species to the ecosystem level, we discovered that current surface water concentrations of neonicotinoids have profound negative effects on several aspects of the aquatic ecosystem. We observed a decline in aquatic emergent insects, shifts in freshwater biodiversity and a stunted functioning of several ecosystem processes. However, the degree of effect was dependent on environmental conditions. The addition of artificial fertilizers, for example, often reduced or nullified the observed toxic effects at the species level, while at the community level there were profound interaction effects together with the neonicotinoid thiacloprid on species diversity. Such observations show that we cannot adequately assess the risks posed by neonicotinoid insecticides from standardized laboratory assessments alone since these do not investigate natural communities and these standardize (most) environmental conditions. My thesis therefore indicates that when we suspect a chemically induced ecological risk, we should evaluate the risks of these agrochemicals in the most natural experimental setup.

