

Analyse van de implicaties van Nature artikel op bestaande toelatingen / reactie voor EZ aangaande Nature artikel

1. Beoordeling van het artikel

Samenvatting van het artikel

Het onderzoek is geheel gebaseerd op een vergelijkende, statistische analyse van twee sets bestaande meetgegevens: SOVON lange termijn tellingen van 15 insectivore broedvogels van het boerenland en imidacloprid meetgegevens uit de reguliere monitoring waterkwaliteit van de Waterschappen. De SOVON data zijn afkomstig uit de periode 2003 – 2010 en de waterkwaliteitsgegevens uit de periode 2003 – 2009 (imidacloprid werd voor het eerst toegelaten in 1994). Om de twee datasets ruimtelijk aan elkaar te kunnen koppelen werden de imidacloprid concentraties ruimtelijk geëxtrapoleerd (zie verderop bij kwaliteit gebruikte data en referenties). De vogelstanden op de monitoringslocaties zijn dus gecorreleerd met geëxtrapoleerde imidacloprid concentraties voor die monitoringslocaties.

De vergelijking tussen de twee datasets laat voor enkele vogelsoorten een negatieve correlatie zien tussen de trend in aantallen en de over de genoemde periode gemeten imidacloprid concentraties in oppervlaktewater. Van de 15 soorten onderzochte broedvogels bleken er voor 6 soorten een significante negatieve correlatie te zijn (95% betrouwbaarheidsinterval). Voor 8 soorten was er een negatieve trend, maar niet significant; en voor één soort was er een positiever trend.. De in het artikel getrokken conclusie is dat er sterke aanwijzingen zijn dat hogere concentraties imidacloprid in oppervlaktewater samenhangen met een afnemende populatietrend van een aantal soorten insectenetende vogels. Bij lokale imidacloprid concentraties in oppervlaktewater groter dan 20 ng/l¹ (of verderop in het artikel, 19.4 ng/L) berekenen de auteurs een afname in de vogelstand van de onderzochte boerenlandsoorten met 3,5 % per jaar.

Voor de gevonden correlaties worden ook twee alternatieve verklaringen dan imidacloprid onderzocht. De eerste is dat de achteruitgang van broedvogels een effect van ruimtelijke veranderingen kan zijn, veroorzaakt door andere factoren en reeds gestart voordat imidacloprid toegelaten was. Om dit te controleren werden ook lokale SOVON data uit de periode 1984 – 1995 in de analyse betrokken. Op basis hiervan wordt de conclusie getrokken dat de geconstateerde lokale achteruitgang van de vogelstand niet gerelateerd kan worden aan een al langere tijd durende lokale afname van de vogelstand door andere factoren. Dit werd gedaan door te onderzoeken of lokale veranderingen in landgebruik in de onderzoeksperiode de (mate van) achteruitgang van de lokale vogelstand kon verklaren. Zeven soorten landgebruik werden onderzocht: maïs, wintergranen, kassen, natuur, braakliggend land, stedelijk gebied en bloembollen en daarnaast N-gift. De veranderingen in oppervlakten bloembollen en braakliggende grond en de trend in concentraties imidacloprid correleerden positief (voor wat betreft bloembollen significant) met de trend waargenomen in de lokale vogelpopulaties. De trend geeft overigens geen indicatie over de algemene samenhang tussen die gebieden en de vogelpopulaties, alleen geeft het aan dat de verandering in areaal wel of niet correleerde. Ook geeft het artikel verder niet aan of er verschil in landbouwintensiteit of pesticiden gebruik heeft opgetreden, waardoor interpretatie van de resultaten lastig is.

De auteurs geven aan dat tot nu toe de potentiële risico's van neonicotinoïden voor vogels vooral gezocht werden in acute risico's door directe consumptie. Met dit artikel suggereren ze dat de verschraving van voedselbronnen – insecten- een mogelijke oorzaak is van de achteruitgang van de vogelstand. Alle onderzochte vogelsoorten voeren hun kuikens in de

¹ De waarde van 20 ng/L is het punt waar de regressielijn de X-as snijdt, en dus het gemiddelde effect op de in vogelstand negatief wordt.

broedperiode, waarin de voedselbehoefte het grootst is, bijna uitsluitend met insecten. In hoeverre de voedselbron bestaat uit aquatische of terrestrische insecten wordt niet weergegeven in het artikel.

Daarnaast blijkt via eenzelfde vergelijkende aanpak dat in gebieden met hogere concentraties imidacloprid een sterke achteruitgang van aquatische macrofauna kan optreden, ook van macrofauna met watergebonden larvale stadia (Van Dijk et al., 2013²).

Daarnaast wordt in het artikel aangegeven dat de relaties correlatief zijn. De auteurs doen verder nog suggesties voor mogelijke andere oorzaken: doorvergiftiging naar hogere trofische niveaus in de voedselketen (consumptie van verontreinigde insecten), en directe effecten voor de zes onderzochte soorten, met significant negatieve trend en die deels granivoor zijn, door de consumptie van gecoat zaad. Deze suggesties zijn verder niet uitgewerkt of onderbouwd in het artikel.

De auteurs stellen dat de gevonden resultaten suggereren dat de neonicotinoïden een mogelijk groter risico vormen voor vogelpopulaties dan tot nu toe werd aangenomen. De aanbeveling wordt gedaan om bij toekomstige regelgeving voor insecticiden expliciet aandacht te besteden aan de trofische component. In het artikel wordt niet vermeld of de auteurs hierbij zowel aquatische en terrestrische voedselweb bedoelen.

Kritische aandachtspunten met betrekking tot het artikel

- ruimtelijke verdeling van concentraties imidacloprid

Ctqb en RIVM analyse

Kriging (interpolatie van concentraties imidacloprid over grotere gebieden om zo samen te vallen met de gebieden waar de vogeltellingen plaatsvonden) lijkt gebaseerd te zijn op een uniforme extrapolatie, dat wil zeggen dat er geen rekening is gehouden met heterogeniteit in de afwateringsrichting of afwateringseenheden in bijvoorbeeld kassengebieden. Dit kan zelfs op kleine schaal -de auteurs nemen 5 km tussen een imidacloprid meting en een vogeltelgebied als maximale afstand (cut-off value) - tot ruimtelijke verschillen leiden; zie ook Fig 1 in artikel. De basis voor de keuze van 5 km wordt beschreven in het artikel, en tevens de statistische effecten van 1-25km, maar het is onbekend waarom de standaard range van de kriging niet is gebruikt.

Het is niet helder hoe de gemiddelde concentraties zijn bepaald. Het lijkt te gaan om jaarlijkse (maart –september) gemiddelden die vervolgens weer over de jaren zijn gemiddeld. De standaardafwijking in de gebruikte gemiddelde log concentratie is 5.7 (=80%), dus een hoge mate van onzekerheid. Daarnaast wordt van de totale metingen van imidacloprid die beschikbaar zijn, 40% niet meegenomen vanwege een te hoge detectielimiet. Deze keuze is begrijpelijk uit het oogpunt dat het de foutenmarge in de extrapolatie kan verhogen en dus ook de statistische analyse beïnvloedt. Echter, omdat de detectielimiet per methode verschilt, en daarmee ook per waterschap, is het niet duidelijk wat hiervan de ruimtelijke gevolgen zijn. Dit wordt verder niet bediscussieerd in het artikel.

Het is hierdoor onze indruk dat er maar een relatief klein deel van de totale metingen gebruikt wordt, en vervolgens verwerkt tot data met mogelijk een relatief grote foutenmarge. Toch wordt in de verdere (statistische) analyse van de gegevens deze foutenmarge in de imidaclopridmetingen niet genoemd of geëvalueerd.

De volgende opmerkingen hebben betrekking tot de gebruikte extrapolatietechniek (mede gebaseerd op Heuvelink et al. 2011).

- Er wordt slechts globaal ingegaan op de extrapolatie van imidacloprid concentraties. Heuvelink et al. 2011 geven aan dat gedetailleerde informatie meegenomen moet

2 Van Dijk TC, Van Staalduinen MA, Van der Sluijs JP (2013) Macro-Invertebrate Decline in Surface Water Polluted with Imidacloprid. PLoS ONE 8(5): e62374. doi:10.1371/journal.pone.0062374

worden voor de betrouwbaarheid van een ruimtelijke extrapolatie. Het lijkt er op dat geen informatie is meegenomen over de toepassing en het gebruik van de middelen waar imidacloprid in zit, zoals het gebruik als zaadcoating ten opzichte van het gebruik in kassen of veldgewassen.

- In lijn met het bovenstaande zou, om de betrouwbaarheid van de extrapolatie van de imidacloprid metingen in oppervlaktewater te vergroten, de stromingsrichting van het water meegenomen dienen te worden. Bij voorkeur wordt ook de verblijftijd/doorstromingsnelheid meegenomen in de kriging, voor zo ver deze verblijftijd nog niet wordt meegenomen in de afstand parameter.
- De afstandsrelatie voor de kriging lijkt, op basis van de verdeling van monitoringspunten en de dichtheid van de metingen, voor een belangrijk deel te worden bepaald door de metingen in het westen van het land. Een groot aantal van de doelgebieden (SOVON locaties) ligt echter in gebieden met nagenoeg geen metingen. De gevonden afstandsrelatie voor die gebieden kan beïnvloed zijn door de dichtheid van de metingen in het westen.

Hoge imidacloprid waarden (> 100 ng/L) uit Fig. 1b lijken een relatief kleine invloed te hebben op de trend; de helling van de lijn lijkt vooral te worden bepaald door de punten onder de x-as tussen 50 en 100 nanogram/liter. Juist in dit concentratie-gradient lijken veel van de contourlijnen in Fig. 1a door middel van kriging te zijn verkregen. Hierdoor zijn de bovengenoemde kritiekpunten op de kriging, die zorgen voor een niet toepassing- en stofafhankelijke afwatering naar alle zijden, heel belangrijk. Bovenstaande argumenten zorgen dat met name in Limburg en het noordoosten van Nederland, de interpolatie van de concentraties imidacloprid in Nederland (figuur 1a), een behoorlijke fouten marge kunnen hebben gecreëerd. Dit komt doordat afwatering binnen de 5 km straal een sterk effect heeft.

Distributie modellen zoals CASCADE³ (zie ook Focks et al., 2014) zouden de betrouwbaarheid van de extrapolatie kunnen verhogen, omdat deze ontworpen zijn om de distributie van bestrijdingsmiddelen in verschillende watergangen te beschrijven.

Analyse Biometris

De samenvatting van de bevindingen van Biometris zijn hieronder weergegeven. Het rapport is in bijlage II.

'In Hallmann et al (Nature, 2014) wordt de afname in insectenetende vogels in verband gebracht met hoge concentraties imidacloprid (imid) op basis van data uit gestandaardiseerde monitoring data van Sovon en de bestrijdingsmiddelenatlas van Nederland. Dit wordt gedaan op basis van statistische analyses. In dit rapport worden de statistische analyses in het artikel kritisch bekeken vanuit statistisch perspectief. De samengevatte gegevens die met het artikel gepubliceerd zijn (weergegeven in Figuur 1b van het artikel), zijn op verschillende manieren nader geanalyseerd.

Het belangrijkste punt van zorg over de gebruikte analyses is dat ze lijden aan pseudoherhaling. Bij pseudo herhaling worden gegevens als onafhankelijk beschouwd terwijl ze feitelijk statistisch gezien afhankelijk zijn. Zo worden de trendschattingen van soorten van eenzelfde monitoring plot als onafhankelijke punten in de analyse opgenomen en wordt er geen rekening gehouden met mogelijke ruimtelijke afhankelijkheid (autocorrelatie) en er wordt ook niet achteraf gecontroleerd of autocorrelatie een rol kan spelen.

Een punt van zorg is de interpolatie van imid naar de monitoring plots. Daarbij is gebruik gemaakt van kriging met externe drift. De gebruikte drift vorm kan ongewenste randeffecten geven. De mogelijke randeffecten (voor zover leidend tot hoge concentraties) lijken echter het verband niet direct te treffen aangezien de trendschattingen in de hoogste concentratie

³ <http://www.cascade.pesticidemodels.eu/documentation.shtml>

klasse juist hoger zijn dan verwacht op basis van het lineaire verband met log-imid. De onnauwkeurigheid in de imid metingen en interpolaties zijn geen punt van grote zorg aangezien het niet leidt tot het overschatten van het verband; het leidt eerder tot onderschatting van de sterkte.

Trendschattingen uit twee perioden (1984-1995 en 2003-2010) worden in verband gebracht met de gemiddelde log-imid concentratie uit de periode 2003-2009. Voor de periode 1984-1995 wordt geen statistisch significant verband gevonden en voor de periode 2003-2010 wel. Het verschil tussen “niet-statistisch significant” en “statistisch significant” is op zich niet statistisch significant. Het verschil is mogelijk niet significant hetgeen de onderbouwing ondermijnt van de conclusies die uit dit verschil worden getrokken in het artikel.

Een sterk punt van het artikel is het onderzoek naar acht andere mogelijke verklaringen voor de afname in insectenetende vogels. In die vergelijking is imid veruit de belangrijkste factor en zijn zeven van de acht variabelen niet statistisch significant. Het probleem van pseudo-herhaling in de gegevens, zoals hierboven omschreven, is kennelijk niet zo groot dat erg gemakkelijk statistische significante verbanden gevonden kunnen worden.

De samengevatte gegevens leiden veel minder aan mogelijke pseudo-herhaling en hun aantal is kleiner dan het aantal onderzochte monitoring plots. De statistische analyses uitgevoerd op de samengevatte gegevens laten zien dat het statistische verband tussen de afname in insectenetende vogels en imid robuust is tegen grote perturbaties van de gegevens. Zo leidt het weglaten van de laagste twee imid klassen of de hoogste twee klassen (die mogelijk een effect van de imid interpolatie zijn) niet tot andere conclusies. Zelfs op basis van maar negen datapunten, die gevormd zijn door de mediaan te nemen van de trendschattingen per imid klasse, is er statistisch gezien nog een duidelijke aanwijzing voor het verband.

In het artikel wordt zorgvuldig omgegaan met de vraag of een correlatie ook een aanwijzing voor een causale verband zou kunnen betekenen. Een aantal aspecten kan alleen worden beantwoord in een uitgebreide her-analyse van de originele gegevens. Het rapport bevat een aantal aanknopingspunten hiervoor.

Ctgb conclusie statistische analyse:

Uit de analyse van Biometris en RIVM / Ctgb analyse blijkt dat er wel wat kanttekeningen geplaatst kunnen worden, maar dat de meeste daarvan de conclusies niet zullen veranderen als deze punten juist zouden zijn uitgevoerd. Echter een heel belangrijk punt van kritiek is dat de controle mogelijk geen echte controle is. Dat wil zeggen, dat er niet is gecontroleerd of er inderdaad een verschil is tussen (trends in) de datasets van 1984-1995 (geen imidacloprid op de markt) en 2003-2010 (wel imidacloprid op de markt) op de verschillende monitoringslocaties. [Een eerste inschatting van Biometris toont aan dat er waarschijnlijk geen statistisch verschil is tussen 1984-1995 en 2003-2010](#). Als tussen deze twee tijdsperiodes geen significant verschil zit; dan ondermijnt dit alle getrokken conclusies uit het artikel of zijn ze zelfs ongeldig. Idealiter zou er een her-analyse van de dataset worden gedaan, waarbij ook op soortsniveau de hypothese wordt getoetst, inclusief op niet-insectivore vogelsoorten als controle op de insectivore vogelsoorten.

➤ kwaliteit gebruikte data en referenties

Eén van de referenties in het artikel betreft de studie van Van Dijk et al (2013) betreffende de relatie tussen het voorkomen van macrofauna en verhoogde concentraties imidacloprid. Deze studie werd door het Ctgb geëvalueerd in het kader van de (her)beoordeling van een aantal middelen. In afstemming met RIVM en WUR is daarbij geconcludeerd, dat het onduidelijk is in hoeverre aanwezigheid van imidacloprid op de ene locatie niet meer is dan

een voorspeller van 'slechte ecologische omstandigheden' door intensief agrarisch gebruik op de locatie waar fauna is onderzocht⁴ vanwege de volgende complicerende factoren:

- > Niet-bestrijdingsmiddel gerelateerde factoren, zoals eutrofiëring, die leiden tot ecologische verarming in sloten in agrarische gebieden zijn niet onderzocht.
- > De blootstelling aan andere bestrijdingsmiddelen, naast imidacloprid, bij de geobserveerde locaties. Gedurende de periode waarover de data zijn vergeleken, zullen meerdere gewasbeschermingsmiddelen zijn toegepast. De geobserveerde negatieve effect op soortenrijkdom in de studie kan deels worden veroorzaakt door deze gewasbeschermingsmiddelen.
- > Van belang is bovendien dat imidacloprid concentraties en biologische waarnemingen niet van dezelfde locaties en tijdstippen zijn. Er wordt een radius van maximaal 1 km gehanteerd tussen de locaties waar imidacloprid is gemeten en waar biologische waarnemingen (fauna) zijn gedaan. Daarnaast is er een verschil in tijdstip tot maximaal 160 dagen tussen metingen van imidacloprid concentraties en biologische waarnemingen.

Vijver en van den Brink⁵ schreven een weerwoord⁶ op Van Dijk et al (2013). Hierin worden de conclusies van Van Dijk et al (2013) ter discussie gesteld met name omdat de observaties van macrofauna niet van dezelfde plekken zijn en niet op hetzelfde moment hebben plaatsgevonden als de metingen van imidacloprid in oppervlaktewater. De auteurs presenteren een nieuwe analyse van de meetdata uit de bestrijdingsmiddelenatlas. In deze analyse wordt aangetoond dat deze meetdata van imidacloprid covariëren met andere bestrijdingsmiddelen.

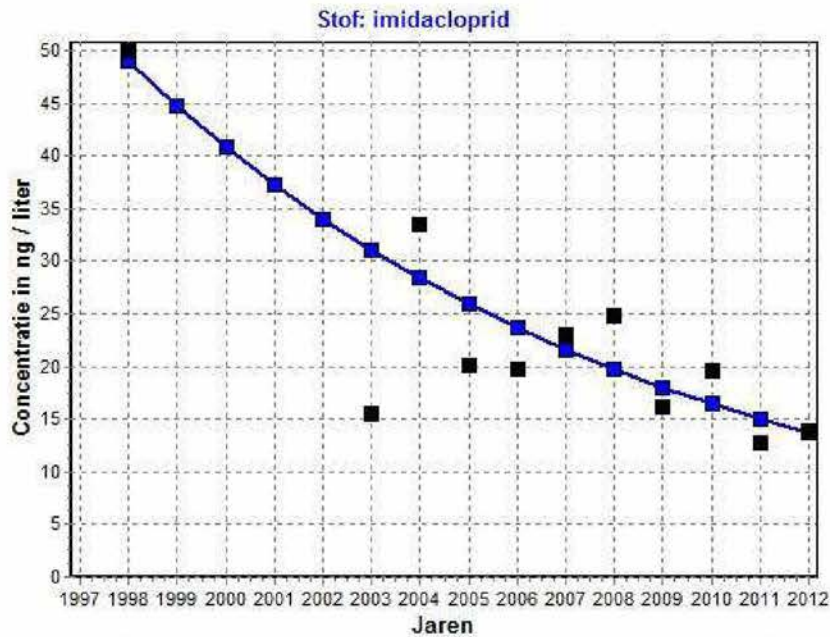
De (gemiddelde) concentraties imidacloprid van 2003-2009 zijn op dit moment niet meer actueel. Hoewel er fluctuaties voorkomen, is de algemene trend in de gemiddelde concentratie imidacloprid afnemend in de tijd zie grafiek hieronder⁷. De concentraties 2010-2012 zijn lager dan die in de periode 2003-2009 (hierbij moet worden aangetekend dat het aantal metingen/locaties niet gelijk was over de jaren).

⁴ Brief Ctgb aan ministeries I&M en EZ, mei 2013, betreffende heroverweging middelen op basis van imidacloprid i.v.m. risico waterorganismen

⁵ Vijver, M.G. and P.J. van den Brink, 2014. Macro-Invertebrate decline in surface water polluted with imidacloprid: a rebuttal and some new analyse. [1]

⁶ Imidacloprid is one of several pesticides that can be detected in surface waters draining agricultural areas at levels frequently exceeding environmental quality standards. Despite this, we show here that key assumptions made by Van Dijk et al. specifically relating to imidacloprid toxicity are not supported by observational data and, therefore, their assessment is unsuitable to determine threshold levels of effects. Specifically, the validity of two assumptions: 1) that imidacloprid levels are not correlated with toxic levels of other pesticides residues and 2) that chemical exposure data can be extrapolated over a 1 km distance and 160 day time window are here shown to be highly questionable. The ecological status of field sites can be attributed to a complex suite of stressors resulting from a range of anthropogenic practices in the highly managed landscape of the Netherlands, of which pesticides are just one factor, and imidacloprid only one of many pesticides being applied, albeit an important one in terms of ecological risks.

⁷ <http://www.bestrijdingsmiddelenatlas.nl/>



<http://www.bestrijdingsmiddelenatlas.nl>

databank 01-04-2014

Hoewel de auteurs een argumentatie geven dat er van jaar tot jaar niet veel variatie was in de concentraties per locatie en dat daarmee de exercitie om over de jaren te middelen geoorloofd is (zie 'Supplementary Data en Fig. 3b), zijn er ook aanwijzingen dat de middeling van de data over de jaren heen wellicht niet de meest geschikte methode is om naar trends te kijken. Vijver en Van den Brink (2014) stellen: "...it can be expected that correlations between pesticide occurrences will be year specific.". Wellicht zou een dataselectie met concentraties gedurende de broedperiode gedaan kunnen worden om de variatie te verlagen.

Vogelsoorten

Het is niet duidelijk op basis van welke criteria de vogelsoorten zijn geselecteerd. In de 'supplementary data' wordt vermeld dat het om veel voorkomende soorten gaat die in imidacloprid blootgestelde gebieden leven, waarvan voldoende gegevens beschikbaar zijn en waarvan de voedselbron uit kleine invertebraten bestaat. Echter, deze criteria zouden veel meer soorten moeten opleveren (bv. mezen).

In een reactie in het WUR magazine Resource⁸ stelt Prof Dr. Paul v/d Brink dat er ook vogelsoorten hadden moeten worden meegenomen in de analyse die niet afhankelijk zijn van insecten. Deze groep dient dan als controlegroep voor de hypothese dat een verschraving in de insectenpopulaties de achterliggende oorzaak is van het negatieve verband tussen imidacloprid en vogelstand.

➤ correlatie met andere (landbouwkundige) factoren

In de studie wordt er geen significant verband gevonden tussen de verandering in het areaal kassen met de trend in vogelpopulatie. Op basis van andere data (Bestrijdingsmiddelenatlas, verband tussen teelten en overschrijdingen) en analyses daarvan (zie bijvoorbeeld het toelatingsbesluit Kohinor 700 WG) zijn er wel verbanden gevonden tussen kassen en waternormoverschrijdingen van imidacloprid. Een mogelijke verklaring voor deze ogenschijnlijke tegenstrijdigheid zou kunnen zijn dat (de verandering in) het areaal aan kassen op zich niet sterk gerelateerd is aan de trend in vogelpopulatie, maar wel aan de teeltwijze, de intensiteit, de toepassingstechniek of het type teelten in de kas zelf. Verder

⁸ Resource (magazine van de WUR) 14 augustus 2014. Dag vogels, dag imidacloprid/
<http://resource.wageningenur.nl/nl/wetenschap/show/Dag-vogels-dag-imidacloprid.htm>

moet er ook worden opgemerkt dat de tijdslijnen niet gelijk lopen. Het vogelpopulatie onderzoek loopt immers van 2003-2010, terwijl de areaalvergelijking is gedaan over de periode 1996-2006; en de data voor imidacloprid concentraties zijn genomen over de periode 2003-2009.

Met betrekking tot de relatie (op basis van de concentraties imidacloprid) tussen landgebruik en (omvang) van de vogelpopulaties is alleen gekeken naar *veranderingen* in het areaal landgebruik terwijl de vraag wat een *normale* vogelstand is bij een bepaald type landgebruik niet als basis is gebruikt. Daarnaast is maar een beperkt aantal typen landgebruik meegenomen die mogelijk geen recht doen aan de zeer verschillende landschapstypen in Nederland. Zie in dit verband ook Vijver en van de Brink, 2014.

Ook is de richting van de verandering in landgebruik niet aangegeven. Er is wel een positief effect gevonden op de vogelpopulatiestand door de verandering in het areaal bollenteelt; maar nergens staat vermeld of de verandering in de bollenteelt zelf positief of negatief was. Ook het verschil in ligging of verplaatsing van de percelen is daardoor niet meegenomen. Ook in het artikel wordt dit niet verder bediscussieerd

De gebieden met hogere imidacloprid concentraties worden beschreven als landbouwgrond, boerderijen, maar ook als graslanden, riet en struiken. Het is opvallend dat in deze laatste gebieden geen direct gebruik van imidacloprid is toegelaten, maar dat andere gebieden zoals boomgaarden waar het wel wordt gebruikt, *niet* worden genoemd.

➤ correlatie vs causaliteit

Een regressieanalyse toont nog geen causaal verband aan. Een correlatie geeft alleen weer dat er een mogelijk verband is, maar oorzaak en gevolg, of de mogelijkheid van meer oorzaken, is daarmee niet aangetoond.

In het artikel wordt met name geconcentreerd op areaal veranderingen als mogelijke alternatieve variabelen die de dalende trend in vogelstand op de locaties kan verklaren. Andere pesticiden, klimaatverandering, meervoudige effecten van intensivering van de landbouw zijn voorbeelden van mogelijke overige factoren die ook een direct of indirect effect kunnen hebben op de vogelstand. Bijvoorbeeld, door de intensivering van de landbouw zijn er mogelijk steeds minder zijn er voor de vogels minder plekken in de akkers om te broeden, maar kan ook de insectenpopulatie zijn verschaald. Het is daarom niet uitgesloten dat de resultaten van de studie samenhangen met andere factoren die de populatiegrootte van insectivore vogels (mede) kunnen beïnvloeden.

De suggestie dat de causaliteit voor de gevonden correlatie tussen hogere concentraties imidacloprid en een achteruitgang van de insectivore vogelstand wellicht gezocht moet worden in een onvoldoende hoeveelheid beschikbaar voedsel, is een zeer logische keuze. Binnen de landbouw worden tal van maatregelen toegepast om insectenplagen tegen te gaan, zowel biologisch als chemisch. In alle gevallen is het doel het bestrijden van plaaginsecten en in alle gevallen zal dit consequenties hebben voor populaties van insecten. Ook kunnen er lagere insectenaantallen tot stand komen als gevolg van veranderingen in perceelsmanagement in het algemeen, bijv akkerrandenbeheer en intensivering van de landbouw. Dit is geen specifiek punt voor imidacloprid of voor neonicotinoïden, maar relevant voor alle insecticiden (biologisch of chemisch). Deze indirecte effecten van afnemende insectenpopulaties (te weinig voedsel voor jonge vogels) worden niet meegenomen in de huidige risicobeoordeling in de toelating van gewasbeschermingsmiddelen. De wijze waarop het risico voor vogels in deze beoordeling nu wordt meegenomen wordt in paragraaf 3 verder toegelicht.

Indien mogelijk, zou het een mogelijk goede aanvulling zijn om de aquatische macroinvertebrate fauna op te vragen bij de waterschappen, of de dataset van van Dijk et al., 2013, om dit mee te nemen als verklarende variabele in de statistische analyse.

De consumptie van gecoat zaad lijkt onwaarschijnlijk als oorzaak. In Nederland is momenteel in het veld alleen zaadcoating van bietenzaden toegestaan. Hierbij worden de zaden niet alleen gecoat met een insecticide, maar ook omhuld met een harde kleilaag; ter bescherming van het zaad. Dit zaad heeft dan meer de vorm van kleikogels; en is niet meer als zaad te herkennen. Doordat ze ook een stuk groter zijn, worden ze niet ingeslikt door kleine zaadeters. In het verleden is ook gecoat mais toegelaten geweest, wat ook grote zaden zijn. Grote zaden zijn vaak ook behandeld met vogelafweermiddelen. Imidacloprid heeft als stof ook zelf een repellent effect op vogels⁹. Beide soorten zaden worden op enige diepte in de bodem gebracht en ondergewerkt. Het risico voor kleine zaadeters via deze zaden is heel klein en kan niet achteruitgang van populaties kleine zaadeters veroorzaken, zoals wordt gesuggereerd in het artikel.

Algemene conclusie

Door de gebruikte spatiële extrapolatie en de mogelijke correlaties met overige pesticiden is het onduidelijk in hoeverre aanwezigheid van imidacloprid op de ene locatie niet meer is dan aanwijzing voor slechte levensomstandigheden door intensief agrarisch gebruik op de locatie waar vogels zijn geteld.

2. Effect van maatregelen

In de periode vanaf 2006 tot heden is er een toenemende belangstelling geweest voor de risico's die het gebruik van neonicotinoïden met zich meebrengt voor niet-doelwit organismen. In 2006 is een belangrijke studie verschenen m.b.t. de achteruitgang van bestuivers. In 2009 zijn de eerste alarmerende artikelen verschenen (zie ook neonicotinoïde houdende middelen en www.ctgb.nl/onderwerpsdossier/neonicotinoïden). Sinds 2011 zijn zowel in Europa als door het Ctgb maatregelen genomen die als volgt kunnen worden samengevat:

1. de Bijenbesluiten (2011, herbeoordeling door het Ctgb van de effecten op de gezondheid van bijen van in totaal 55 middelen; naar aanleiding waarvan bij 13 middelen het WG/GA werd aangepast om de risico's te beperken),
2. de EU verboden (mei 2013), naar aanleiding waarvan bij besluiten van 6 september 2013 restricties werden gesteld aan een aantal toepassingen van onder andere imidacloprid,
3. aanscherping door het Ctgb van de waternorm (onder invloed van de studie van Roessink et al, 2013) voor imidacloprid van 60 ng/l naar 27 ng/l, naar aanleiding waarvan aanpassingen werden gedaan in de toelatingen van een drietal gewasbeschermingsmiddelen (besluiten van 30 januari 2014) en
4. herbeoordeling door het Ctgb in het kader van de herregistratie van middelen op basis van imidacloprid naar aanleiding waarvan een aantal toepassingen geschrapt werd en aanvullende eisen werden gesteld aan de reductie van drift (voor 2 resterende toepassingen in appel en peer) en aan de zuivering van afvalwater uit de bedekte teelten (besluiten van 31 januari 2014).

Deze door het Ctgb genomen maatregelen zijn uiteraard relevant voor de Europese stoftoelating. In het kader van Europese harmonisatie zijn deze ontwikkelingen en de onderliggende data gedeeld met Duitsland, die RMS (rapporteur Member State) is voor verlenging van de Europese goedkeuring van de werkzame stof imidacloprid. De ingetrokken toepassingen zijn genotificeerd binnen Europa. De Commissie heeft dit ter kennisgeving

⁹ In de toelating voor Sombbrero (13524 N) wordt hier verwezen naar het Europees stofdossier van imidacloprid, waar de dietary studies met vogels aantonen dat er bij hoge concentraties een repellent effect van imidacloprid wordt waargenomen.

aangenomen en wacht het renewal proces af. De expiratiedatum van de plaatsingsgoedkeuring is 31 juli 2019.

De termijn waarop de effecten van de hierboven genoemde genomen maatregelen zichtbaar worden, is afhankelijk van de wijze en snelheid waarop de emissies uit de landbouw (bedekte en onbedekte teelt) het oppervlaktewater bereiken, welke routes door middel van de opgelegde restricties zijn gelimiteerd of (volledig) gesaneerd en welke relevantie de overige routes (nog) hebben. In de volgende paragrafen wordt deze analyse gemaakt.

Emissieroutes naar oppervlaktewater vanuit de glastuinbouw

Restwater uit de kas (filterspoelwater, spuiwater) is naar verwachting de belangrijkste route voor de emissie naar oppervlaktewater. Imidacloprid breekt relatief langzaam af in spuiwater, waardoor de stof via lozing van drainwater, drainagewater of filterspoelwater in het oppervlaktewater terecht kan komen. De toelatingsnorm van imidacloprid in het oppervlaktewater is per januari 2014 aangescherpt tot 27 ng/l. Om aan deze norm te kunnen voldoen is bij de recente herbeoordeling van middelen op basis van imidacloprid een restrictiezin opgesteld waardoor het emissiewater dat uit de kas komt eerst moet worden gezuiverd voordat het op het oppervlaktewater geloosd mag worden. De restrictiezin luidt als volgt:

Om in het water levende organismen te beschermen is het in de bedekte teelten niet toegestaan om ongezuiverd filterspoelwater, drainwater bij substraatteelten en drainagewater bij grondgebonden teelten op het oppervlaktewater te lozen. Het te lozen drain-, drainage en filterspoelwater mag uitsluitend worden geloosd, nadat het te lozen drain-, drainage en/of filterspoelwater geleid wordt door een werkende zuiveringsvoorziening:

- o Deze zuiveringsvoorziening dient te bestaan uit één van onderstaande combinaties van technieken:*
 - H₂O₂ + MDUV + actief koolfilter of*
 - H₂O₂ + LDUV + actief koolfilter of*
 - Ozon + actief koolfilter*
 - Een andere door het bevoegd gezag gelijkwaardig verklaarde techniek*
- o De zuiveringsvoorziening wordt tenminste éénmaal per jaar op de goede werking gecontroleerd en onderhouden door een deskundige op het gebied van zuiveringsvoorzieningen*
- o Een bewijs van de controle en het onderhoud is binnen de inrichting aanwezig en op aanvraag direct te tonen.*

Overige emissieroutes naar oppervlaktewater vanuit de landbouw

Naast de toepassing in kassen zijn er nog 3 potentiële emissieroutes van imidacloprid naar oppervlaktewater vanuit de landbouw:

1. via drift tijdens spuittoepassingen
2. via drainage, uitspoeling vanuit landbouwgrond
3. via afspoeling vanuit landbouwgrond.

In de herbeoordeling werden middelen op basis van imidacloprid voor spuittoepassingen in buitenteelten ook meegenomen. Op twee na zijn deze toepassingen ingetrokken. Voor twee resterende toepassingen (teelt van appel en peer; 2 middelen) worden in de toelating driftreducerende technieken (*KWH k1500-3R2 VLOS 3-rijenspuit met variabele luchtondersteuning en 90% driftreducerende doppen en ventilatorstand "laag"*) voorgescreven waarmee wordt voorkomen dat de toelatingsnorm in oppervlaktewater wordt overschreden.

Bij een aantal andere buitentoepassingen van imidacloprid treedt geen drift op. Dit betreffen granulaat toepassingen, middelen dat in een voor worden gespoten en

zaadbehandelingstoepassingen en dompeltoepassingen. Bij deze toepassingen zijn drainage en afspoeling de grootste emissieroutes.

Drainage, (horizontale) uitspoeling naar oppervlaktewater uit landbouwgrond, wordt niet in de huidige modellen voor toelating van gewasbeschermingsmiddelen voor de Nederlandse markt meegenomen. In de Europese beoordelingsmethodiek wordt drainage (en ook run-off) wél meegenomen. Voor Nederland is een model in ontwikkeling dat ook de drainageroute meeneemt (DRAINBOW). De verwachting is dat dit model in december 2014 beschikbaar komt.

Er zijn aanwijzingen dat de drainage route een bijdrage kan leveren aan de concentratie van imidacloprid in oppervlaktewater, op basis van enkele voorbeeldberekeningen met een vergelijkbare stof (echter zonder afbraak mee te nemen) met het nieuwe model¹⁰. Echter de piekconcentraties in deze voorbeeldberekeningen worden (bij standaard driftwaarden) veroorzaakt door drift.

Doordat dit scenario nog niet definitief is, en ook de stofparameters tussen de geteste stof en imidacloprid (EFSA conclusion, 2014) niet geheel vergelijkbaar zijn, vallen hier op dit moment nog geen eindconclusies te trekken.

De drainageroute zou relevant kunnen zijn voor zowel de spuittoepassingen als de zaadbehandeling en dompelbehandeling. Op basis van de beschikbare berekeningen, zoals die zijn gedaan met de Europese modellen, is de blootstelling vanuit die route veel lager dan die van drift (in de DAR van imidacloprid zijn voor alle scenario's/teelten de hoogste concentraties veroorzaakt door afspoeling en drift).

Verticale uitspoeling naar grondwater is wel een regulier onderdeel van de nationale toelatingsbeoordeling. Toegelaten middelen/toepassingen voldoen altijd aan de grondwaternorm zoals deze geldt voor gebruik als drinkwater (0.1 µg/L).

De route via afspoeling van landbouwgrond wordt niet in de huidige modellen voor toelating van gewasbeschermingsmiddelen voor de Nederlandse markt meegenomen. Run-off speelt met name een rol op hellende gebieden en dit geldt niet voor het overgrote deel van Nederland. Run-off vanaf waterverzadigde grond en/of als puntemissie kan mogelijk lokaal een rol spelen maar daarvoor ontbreekt op dit moment een beoordelingsmethodiek. Voor zaadcoating en boldompeling lijkt run-off minder relevant omdat run-off met name de bovenste centimeters betreft. Ook voor de ontwikkeling van het nieuwe modelinstrumentarium DRAINBOW is in de betreffende werkgroep vastgesteld dat (reguliere) run-off geen urgente route is.

Effect van maatregelen

Er is op basis van monitoringsgegevens vastgesteld dat in Nederland de emissie vanuit kassen de grootste bijdrage levert aan de hogere concentraties van imidacloprid in oppervlaktewater. Dit komt omdat de huidige modellen voor de glastuinbouw een onderschatting van de emissies naar het oppervlaktewater geven, waardoor het risico wordt onderschat. Er is een nieuw emissiemodel in ontwikkeling, welke echter nog niet gereed is voor gebruik¹¹. De verwachting is dat de concentraties in het oppervlaktewater in kassengebieden flink omlaag zullen gaan als gevolg van de voorgeschreven restricties, als deze goed worden uitgevoerd en nageleefd. Daardoor zal naar verwachting het aantal overschrijdingen van de norm aanzienlijk afnemen.

10 Tiktak A. et al, 2012. Scenarios for exposure of aquatic organisms to plant protection products in the Netherlands. RIVM report 607407002/2012

11 Gezonde Groei, Duurzame Oogst Tweede nota duurzame gewasbescherming periode 2013 tot 2023.

De mate waarin en de snelheid waarmee de afname van de concentratie zal plaatsvinden zijn onder andere afhankelijk van de implementatiegraad en -snelheid van de genomen maatregelen en de handhaving daarvan.

Nalevering vanuit sediment en/of de afbraaksnelheid in de waterfase kunnen een rol spelen voor de termijn waarop de stof nog gemeten wordt nadat de lozingen zijn gereduceerd. Die elementen zijn hieronder verder uitgewerkt.

➤ **Nalevering uit sediment**

Er is nagegaan of een langdurige nalevering vanuit sediment (met daarin opgeslagen stof die met vertraging vrijkomt) te verwachten valt. Aangezien de stof niet sterk bindt aan sediment¹², zal dit naar verwachting geen grote rol spelen: De hoeveelheid in sediment opgeslagen stof is, op basis van de beschikbare onderzoekgegevens zoals vastgelegd in het toelatingsdossier, relatief klein. Het is niet uit te sluiten dat deze route plaatselijk relevanter zou kunnen zijn, bijvoorbeeld op plekken met sediment met een veel hoger dan gemiddeld gehalte organische stof waardoor er meer stof naar de sedimentfase gaat.

➤ **Verblijftijd in oppervlaktewater**

Imidacloprid is goed afbreekbaar door licht. In de zomer is de halfwaardetijd ca. 1 week, en gecorrigeerd voor de lichtintensiteit van het gehele jaar is de halfwaardetijd ca. 3 weken. In water/sedimentsystemen in het donker blijkt imidacloprid minder goed afbreekbaar met een halfwaardetijd van ca. 80 dagen. De stof lijkt niet zeer persistent, maar dit hangt wel af van de condities.

Conclusie: effect van maatregelen

Uit bovenstaande analyse kan geconcludeerd worden dat de effecten van de genomen maatregelen op de kwaliteit van het oppervlaktewater naar verwachting op een termijn van 1 jaar zichtbaar zullen worden en naar verwachting aanzienlijk zullen zijn. Niet uit te sluiten is dat lokaal het effect verstoord kan worden door een (mogelijke) nalevering uit sediment en door uitspoeling.

Monitoring van de concentraties in oppervlaktewater is noodzakelijk om het effect van de bij de toelatingen voorgeschreven restricties te kunnen bepalen. Verder zal gemonitord moeten worden hoe het met de naleving en handhaving staat.

3. Aspecten relevant in de beoordeling van een toelating

➤ **Toxiciteit van imidacloprid voor insecten ten opzichte van andere insecticiden**

Toxiciteit als zodanig zegt niet alles over mogelijk optredende gevaren, omdat factoren als dosering, gebruik, blootstelling, persistentie, een grote rol spelen in de uiteindelijk te verwachten effecten in het veld. Met name de samenhang van factoren zoals relatieve persistentie, systemische werking, oplosbaarheid en grootschalig gebruik in Nederland en in Europa maakt dat de neonicotinoïden erg in de belangstelling staan. Ook veel andere insecticiden vertonen vergelijkbare toxiciteit, of soms veel hogere toxiciteit voor bepaalde groepen insecten of invertebraten. Voor sommige groepen insecten zijn pyrethrinen, die in de biologische bestrijding gebruikt kunnen worden toxischer dan imidacloprid

➤ **Risicobeoordeling vogels**

Standaardgegevens die voor iedere werkzame stof geleverd dienen te worden zijn acute toxiciteitstesten voor minimaal 2 soorten vogels (LC50 waarden), en een chronische test

¹² Koc ca. 200 L/kg, verder is relatief weinig transport van actieve stof in de sedimentfase gemeten in de water-sediment studies (10-30% naar sediment) en de mesocosms studies (< 10% naar sediment) uit het EU dossier

voor de meest gevoelige soort van de eerder geteste soorten (No Effect Concentration bepaling). In de laatste test wordt ook rekening gehouden met een aantal reproductie effecten, zoals eileg en het opgroeien van de kuikens. Vaak is er ook nog een 5-d dieetttest bij adulten beschikbaar (LC50).

Deze eindpunten worden met een additionele veiligheidsfactor van 10 voor het acute risico en 5 voor het chronische risico gebruikt om een risico inschatting te maken van directe blootstelling via direct bespoten voer. Uitgangspunt zijn de indicatorsoorten die representatief zijn voor herbivore vogels (bijv. duiven), kleine omnivore vogels (bijv. leeuwerik), kleine insectivore vogels (bijv. mezen en kwikstaarten) en kleine granivore vogels (bijv. kneu). Dit zijn dus deels dezelfde soorten als in het artikel zijn bekeken; met name de gele kwikstaart (yellow wagtail, *Motacilla flava*) en veldleeuwerik (skylark, *Alauda arvensis*) worden vaak gebruikt als indicator soorten. Het voedseltype is dan direct bespoten blad/gras/onkruid, insecten of zaden.

Uiteindelijk betekent dit dat er een risicobeoordeling ligt voor insectivore vogels waarvan het dieet geheel uit bespoten voedselitems kan bestaan. Er is pas een toelating mogelijk als bij de te verwachten blootstellingsconcentratie geen effecten (NOEC inclusief veiligheidsfactor) zijn te verwachten op reproductie.

Voor zaadbehandelingen wordt een aparte risicobeoordeling gedaan. Daarbij wordt bekeken of er sterfte is te verwachten na het opnemen van 1 behandeld zaadje. Aanvullend wordt er een acute en chronische risicobeoordeling gedaan voor kleine zaadeters, zoals vinken of kneu's en in geval van grote zaden (mais, gecoat bietenzaad) voor grote zaadeters, zoals patrijzen.

Voor systemische middelen (zoals imidacloprid) wordt tevens een beoordeling uitgevoerd voor herbivore vogels, zoals de houtduif, die blad eten dat via de systemische route de actieve stof bevat. Dit is met name relevant wanneer de manier van toepassen de route via directe bespuiting van het blad uitsluit, zoals bij grondbehandeling, zaadbehandeling, opkweek in kassen en uitplanting.

Bij de standaard risicobeoordeling hoort ook de indirecte route via doorvergiftiging. Hierbij wordt uitgegaan van de route via bodem-regenworm-vogel, of via water-vis-vogel. Echter vanwege de sterk hydrofiele chemische eigenschappen van imidacloprid wordt deze route niet relevant geacht, omdat ophoping in organismen niet zal plaatsvinden.

Tenslotte wordt ook nog de route van blootstelling via drinkwater in beschouwing genomen.

Globaal is deze invulling van de risicobeoordeling over de jaren heen hetzelfde gebleven, maar de precieze invulling is in de loop der jaren aangescherpt en ook het aantal indicatorsoorten dat in beschouwing moet worden genomen is in de loop der tijd toegenomen.

4. voedselketen effecten en normstelling van imidacloprid

Het artikel in Nature geeft niet expliciet weer of imidacloprid concentraties als absolute metingen worden gezien, of als indicator voor imidacloprid gebruik. Het persbericht (Bijlage I) geeft enkele aanwijzingen dat de hypothese gebaseerd is op een verondersteld mogelijk causaal verband met negatieve effecten op insecten tijdens hun aquatische fase, en niet op het effect van imidacloprid op de bodem:

“...Het zijn voor het merendeel vogels die afhankelijk zijn van slootkanten, perceelsranden en landschapselementen waar zij hun voedsel bij elkaar scharrelen.’ Het Nederlandse vogelnetwerk is het fijnmazigste ter wereld.

Voor de studie gebruikten de onderzoekers verder waterkwaliteitsmetingen van de waterschappen. Veel voor vogels belangrijke insecten brengen een deel van hun leven in het water door”

Toch worden zowel terrestrische en aquatische normstellingen hieronder besproken, omdat de auteurs hier niet expliciet en omdat het aquatisch en terrestrische milieu zeer verschillend zijn qua risicobeoordeling en (beleids)oplossingen!!.

Aquatisch

De meest recente serie van maatregelen in januari 2014 is de aanscherping van de toelaatbare norm voor emissie naar het oppervlaktewater en daarmee samenhangend het in het WG/GA voorschrijven van vérgaande zuiveringstechnieken voor emissiewater uit kassen. De nieuwe norm is gebaseerd op een Species sensitivity distribution waarbij een norm wordt afgeleid waarbij 95% van de soorten wordt beschermd. Hierbij wordt gebruikt gemaakt van chronische blootstellingsstudies uit het laboratorium.

Een SSD is een model waarbij op basis van toxiciteitdata van meerdere soorten een (water)norm wordt af geleid waarbij een bepaald fractie van de soorten wordt beschermd. Bij normstelling obv een SSD is de aanname dat indien er een hoog percentage van de soorten wordt beschermd, de voedselketen en het ecosysteem functioneren ook wordt beschermd. Deze aanname is echter afhankelijk of er voldoende soorten zijn getest in het lab, of er keystone species zijn meegenomen en of de meest gevoelige groep is meegenomen.

- Er zijn meerdere laboratorium- en mesocosm testen in de database waar veel insectensoorten zijn meegenomen. Door de vele¹³ soorten die getest zijn, kunnen we met redelijk grote zekerheid stellen dat de meebest gevoelige soort is geïdentificeerd: de eendagsvliegen. Deze zijn in de SSD opgenomen.
- Keystone species: Het is lastig om van alle aquatische ecosystemen in NL de keystone species of keystone functionele groepen vast te stellen. Als er genoeg overige soorten zijn getest, kan aangenomen worden dat ook keystone functionele groepen zijn meegenomen. Bij bescherming van de eendagsvliegen is ook de bescherming van keystone species of key functionele groep gewaarborgd.

De SSD-methodiek is getoetst met vele verschillende mesocosm studies, om te beoordelen of deze methodiek beschermend genoeg is ten opzichte van de mesocosm studies. Deze laatste studies kun je zien als zeer dicht tegen de praktijksituatie aan liggend. Uit deze toetsing bleek dat de SSD-methodiek, met inbegrip van de veiligheidsfactoren, gezien kan worden als realistic worst-case ten opzichte van de mesocosm studies. Het is dus aannemelijk dat in het geval van imidacloprid het voedselaanbod voor insectivore vogels m.b.t. aquatische insecten en insecten met een aquatisch levensstadium is gewaarborgd.

De effecten van de voorgeschreven vérgaande zuiveringstechnieken zullen naar verwachting op een termijn van 1 jaar tot meetbare effecten leiden en zichtbaar worden in een verbetering van de waterkwaliteit in kassengebieden

Terrestrisch

Imidacloprid mag buiten worden toegepast als eenmalige sproeibehandeling in onbedekte teelt van appel en peer, en als smeertoepassing in onbedekte teelt van hop. Daarnaast is het toegelaten als dompelbehandeling van bloembollen voor onbedekte teelt en grondbehandeling voor teelt van pootaardappelen en zaadcoating van bietenzaad.

¹³ Van de invertebraten zijn er 13 soorten crustacea en 25-30 soorten aquatische insecten getest in acute laboratorium testen; Chronische laboratorium testen zijn beschikbaar voor 5 crustacea en 11 aquatische insecten. Daarnaast zijn er ook nog meerdere crustacea en aquatische insecten getest in (outdoor) mesocosms.

De inzet van insecticiden heeft als gevolg dat naast de plaagsoorten, ook niet-doelwit insecten in de bodem mogelijk worden bestreden, wat kan leiden tot een lokaal lager voedselaanbod voor insectivore vogels. Dit geldt met name voor spray toepassingen. Dit is inherent aan insecticiden, en dus ook voor imidacloprid. In het beoordelingskader van gewasbeschermingsmiddelen wordt daarom getoetst of er herstel van de populaties van niet doelwit arthropoden in de bodem mogelijk is. Door te toetsen op herstel, en niet op verstoring van een populatie, bestaat de mogelijkheid dat het gebruik van insecticiden in de landbouw kan leiden tot een (tijdelijke) lagere voedselbeschikbaarheid van vogels. Er zullen voldoende alternatieve voedselbronnen beschikbaar moeten zijn voor vogels om de verlaging in insectenaantallen in landbouwgronden (tijdelijk) te compenseren.

Herstel is onderdeel van het toetsingskader. Om te voorkomen dat dit risico optreedt zijn er twee opties:

1. verandering van het toetsingskader van 'beoordeling van herstel' naar 'het optreden van effecten op soortsniveau'. In dat geval zijn alle spray-behandelingen van insecticiden en herbiciden niet meer mogelijk, en mogelijk nog veel meer toepassingen, vanwege mogelijk optredende indirecte effecten. Dit is een zeer onwaarschijnlijke optie, en moet in Europees verband worden aangepakt.
2. Beheer(sing) van het risico op landschapsniveau: bijvoorbeeld door herstel te optimaliseren middels goed akkerrandenbeheer, toepassen van vanggewassen, en lokaal voldoende alternatieve voedselbronnen voor insectivore vogels te creëren. Voor akkerrandenbeheer een vanggewassen heeft het ministerie recent de tweede kamer geïnformeerd over de vergroening van het gemeenschappelijk landbouwbeleid¹⁴.

5. Overall conclusie en belang van het artikel voor de toelatingen op basis van imidacloprid

Conclusies aangaande weergave en beoordeling van relevante feiten uit het artikel

De studie laat een negatieve correlatie zien tussen de trend van enkele vogelsoorten en de over de genoemde periode gemeten imidacloprid concentraties in oppervlaktewater. Er zijn kanttekeningen te plaatsen aangaande de gebruikte methodiek, maar de gevonden correlaties lijken voldoende robuust om deze te kunnen weerstaan. Het is echter niet uit te sluiten dat er meerdere factoren covariëren met imidacloprid, zoals andere bestrijdingsmiddelen. In het artikel is niet gecontroleerd of er een verschil is tussen (trends in) de datasets van 1984-1995 (geen imidacloprid op de markt) en 2003-2010 (wel imidacloprid op de markt) op de verschillende monitoringslocaties. De statistische toetsing van Biometris toont aan dat er geen statistisch verschil is tussen 1984-1995 en 2003-2010. Als tussen deze twee tijdsperioden geen significant verschil zit; dan ondermijnt dit alle getrokken conclusies uit het artikel of zijn ze zelfs ongeldig.

Er worden verschillende verklaringen genoemd hoe imidacloprid het negatieve effect op vogels kan veroorzaken. Het eten van verontreinigde insecten en gecoate zaden worden niet waarschijnlijk geacht. Echter, een potentieel tekort aan insecten als voedselbron zou een potentiële oorzaak kunnen zijn.

Door de gebruikte methodiek is het verband tussen (lokale) concentraties imidacloprid in oppervlaktewater en de (lokale) broedvogelstand niet eenduidig te herleiden naar één of meerdere oorzaken. Hierdoor is het onduidelijk in hoeverre de aanwezigheid van imidacloprid op de ene locatie niet meer is dan 'aanwijzing voor slechte levensomstandigheden door intensief agrarisch gebruik op de locatie waar vogels zijn geteld. Echter, het menigvuldig overschrijden van de waternorm van imidacloprid in het

¹⁴ <http://www.rijksoverheid.nl/documenten-en-publicaties/kamerstukken/2014/07/29/kamerbrief-wijzigingen-in-vulling-van-de-vergroening-gemeenschappelijk-landbouwbeleid-glb.html>

oppervlaktewater en de mogelijke effecten hiervan op aquatische insecten en potentieel vogelstand op lokale schaal, is een gegronde zorg.

Het is onbekend in hoeverre ook de afname in terrestrische insecten bijdragen aan de gevonden correlatie tussen aquatische concentraties en afname in vogelstand. Echter, alle insecticiden hebben een direct ongewenst neveneffect op niet-doelwit insecten op agrarische gronden.

De mogelijke correlatie van imidacloprid met overige pesticiden en overige landbouwkundige factoren, impliceren dat er geen absolute 'grenswaarde' voor imidacloprid kan worden afgeleid aangaande een effect op vogels op basis van de gevonden correlatie. Opvallend blijft dat de genoemde 'grenswaarde' van 20 ng/L in dezelfde orde van grootte is dan de nieuwe waternorm (27 ng/L). De studie van Hallman et al., 2014 sluit derhalve in die zin goed aan bij de in januari 2014 door het Ctgb vastgestelde waternorm voor imidacloprid.

In principe wordt verschraving van een voedselbron niet meegenomen in het huidige toetsingskader. Een dergelijk secundair effect is ook niet eenvoudig te modelleren omdat ook andere effecten een rol zullen spelen. Alle insecticiden zullen een effect hebben op insectenaanbod vanuit de bodem, maar ook herbiciden kunnen door de planten te doden de insectenpopulaties aantasten. Een voorbeeld van een indirect effect is ook een mogelijk negatief effect van het gebruik van herbiciden en het omploegen van het agrarisch land op het voedselaanbod van veldleeuwerik in de winter¹⁵. Het is de vraag in hoeverre deze indirecte effecten al bij middeltoelating moet worden meegenomen of dat deze effecten met een gebiedsgerichte aanpak moeten worden beheerst.

Geven de feiten aanleiding om in te grijpen in de toelatingen?

Nee. Het mogelijke risico voor een nadelig effect van imidacloprid op de aquatische insectenpopulatie, en hierdoor ook op de vogelstand, zal substantieel verlagen met de meest recente serie van maatregelen: de aanscherping van de toelaatbare norm voor emissie naar het oppervlaktewater en het daarmee samenhangend in het WG/GA voorschrijven van vérgaande zuiveringstechnieken voor emissiewater uit kassen. Nu er een accuratere, meer beschermende waternorm is vastgesteld voor imidacloprid en er zuiveringstechnieken zijn voorgeschreven om te garanderen dat de waternorm ook wordt gehaald, zou de aquatische levensgemeenschap voldoende beschermd moeten zijn en worden ook trofische effecten naar vogels voorkomen. De effecten van deze maatregelen zijn momenteel nog niet zichtbaar in een verbetering van de waterkwaliteit in de kassengebieden. De verwachting is dat dit op een termijn van 1 jaar wel tot meetbare effecten leidt.

Op basis van bovenstaande analyse en de recent genomen maatregelen oordeelt het Ctgb dat op dit moment ingrijpen in de bestaande toelatingen niet opportuun is. Nu er wetenschappelijk geen aanleiding of rechtvaardiging is om nogmaals in te grijpen in de toelating van imidacloprid-houdende gewasbeschermingsmiddelen, is het zeer onwaarschijnlijk dat – indien daartoe desalniettemin zou worden besloten – zo'n ingreep bij rechterlijke toetsing stand zou houden.

¹⁵ Geiger F., Hegemann A., Gleichman M., Flinks H., de Snoo G.R., Prinz S., Tieleman B.I., Berendse F. (2014) Habitat use and diet of Skylarks (*Alauda arvensis*) wintering in an intensive agricultural landscape of the Netherlands. *Journal of Ornithology* 155: 507-518.

Bijlage I – Persbericht artikel Nature

Spreeuw en zwaluw verdwijnen in gebieden met hoge gehaltenes neonicotinoïde (Nature)

Insectenetende vogels gaan sterker achteruit in gebieden met hoge concentraties van de neonicotinoïde imidacloprid in het oppervlaktewater. Dit blijkt uit een analyse van gedetailleerde gegevens over milieufactoren en trends van algemene insectenetende vogels in het boerenland. Het wetenschappelijk tijdschrift Nature publiceerde de studie van biologen van de Radboud Universiteit en van Sovon Vogelonderzoek Nederland op 9 juli 2014.

Veel vogels die afhankelijk zijn van het boerenland lopen al jaren in aantal terug. Er zijn echter verschillen in teruggang van gebied tot gebied. Nijmeegse biologen hebben deze verschillen gerelateerd aan de neonicotinoïdegehaltenes in het water en vergeleken met de invloed van diverse andere factoren zoals veranderingen in landgebruik.

Grondige tellingen

‘We hebben gekozen om algemeen voorkomende insecteneters te bekijken, zoals de spreeuw en de boerenzwaluw,’ zegt Ruud Foppen van Sovon Vogelonderzoek Nederland—de organisatie die vogeltellingen organiseert en analyseert. ‘Daarvan zijn voldoende data voorhanden om trends in aantallen te kunnen bepalen. Het zijn voor het merendeel vogels die afhankelijk zijn van slootkanten, perceelsranden en landschapselementen waar zij hun voedsel bij elkaar scharrelen.’ Het Nederlandse vogeltelnetwerk is het fijnmazigste ter wereld.

Voor de studie gebruikten de onderzoekers verder waterkwaliteitsmetingen van de waterschappen. Veel voor vogels belangrijke insecten brengen een deel van hun leven in het water door. De biologen vergeleken de datasets met een derde dataset van het Centraal Bureau voor de Statistiek, waarin (veranderingen) in landgebruik zijn geregistreerd.

Duidelijke trend

De onderzoekers vonden een duidelijke trend: waar de hoeveelheid imidacloprid in het oppervlaktewater boven de 20 nanogram per liter komt, nemen de vogels in aantal af en naarmate de hoeveelheid hoger is, is de afname groter. In gebieden met een hogere concentratie dan 20 nanogram en waarvoor gegevens beschikbaar waren, was de teruggang van de vijftien onderzochte vogelsoorten gemiddeld 3,5 % per jaar. Deze waarde van imidacloprid in het oppervlaktewater wordt op veel plekken in Nederland (ver) overschreden. Het is voor het eerst dat er een correlatie wordt gevonden tussen de achteruitgang van populaties gewervelde dieren en de concentratie van imidacloprid in het oppervlaktewater. Het wetenschappelijk tijdschrift Nature publiceert het werk op...

‘We hebben zeer grondig gekeken naar andere mogelijke factoren die kunnen samenhangen met de lokale achteruitgang van deze vogels. Maar de hoeveelheid imidacloprid in het oppervlaktewater komt uit onze analyse naar voren als veruit de belangrijkste verklaring voor de ruimtelijke verschillen in trends,’ zegt prof. Hans de Kroon, onder wiens leiding het onderzoek werd uitgevoerd bij het Institute for Water and Wetland Research van de Radboud Universiteit.

Imidacloprid is in 1995 in gebruik genomen in Nederland en sindsdien is het gebruik snel toegenomen. ‘Ook voor 1995 gingen veel vogels in het boerenland achteruit. Maar de ruimtelijke verschillen in achteruitgang die we hebben vastgesteld na de introductie van imidacloprid zien we niet terug in de tellingen van voor die tijd.’ zegt Ruud Foppen van Sovon.

Veel gebruikt landbouwgif

Imidacloprid is een insectenwerend middel uit de klasse neonicotinoïden en is wereldwijd de meest gebruikte insecticide in de landbouw. Het wordt gebruikt om zaden en bollen mee te behandelen en voor het spuiten van gewassen in de open lucht en kassen. Het middel werkt in op het centraal zenuwstelsel van insecten. Hierdoor raken ze gedesoriënteerd, verlamd en sterven ze. Het bestrijdingsmiddel wordt ook in verband gebracht met de afname van het aantal bijen en andere insecten en ongewervelden.

Gebrek aan voedsel?

De onderzoekers weten overigens nog niet hoe de teruggang van de vogels precies tot stand komt. Mogelijke verklaringen zijn een gebrek aan insecten zelf, het eten van vergiftigde insecten of een combinatie van beide. Directe vergiftiging door het eten van behandeld zaad kan voor een klein aantal soorten niet worden uitgesloten. Onduidelijk is of het broedsucces afneemt of dat de sterfte toeneemt.

'Neonicotonoïden werden altijd als selectief werkende gifstoffen beschouwd. Maar onze resultaten doen vermoeden dat het doorwerkt in het hele ecosysteem. Dit onderzoek laat zien hoe belangrijk het is om goede velddatasets te hebben en wetenschappelijk te analyseren. Door onze samenwerking met organisaties als Sovon ontdekken we ecologische effecten die anders over het hoofd worden gezien,' zegt de Kroon.

Noot voor de pers

Het onderzoek dat in dit artikel beschreven is, werd medegefinancierd door NWO.

Declines of insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations

Caspar A. Hallmann^{1,2}, Ruud P.B. Foppen^{2,3}, Chris A.M. van Turnhout², Hans de Kroon¹ & Elke Jongejans¹

¹ Radboud University Nijmegen, Institute of Water and Wetland research, Nijmegen, The Netherlands.

² Sovon, Dutch Center for Field Ornithology, Nijmegen, The Netherlands.

³ Birdlife Netherlands, Zeist, The Netherlands.

De vogels uit de studie: bosrietzanger; rietzanger; kleine karekiet; veldleeuwerik; graspieper; geelgors; spotvogel; boerenwaluw; gele kwikstaart; ringmus; fitis; roodborsttapuit; spreeuw; grasmus; grote lijster.

Meer informatie en contact:

Prof. Hans de Kroon ^{5.1.2.e} [@science.ru.nl](mailto:hans.de.kroon@science.ru.nl) ^{5.1.2.e} Institute for Water and Wetland Research van de Radboud Universiteit Nijmegen.

Dr. Ruud Foppen ^{5.1.2.e} [@sovon.nl](mailto:ruud.foppen@sovon.nl) ^{5.1.2.e} Sovon Vogelonderzoek Nederland.

U kunt het volledige artikel opvragen via het team wetenschapscommunicatie van de Radboud Universiteit. Wetenschapscommunicatie - Corporate communicatie - Dienst Marketing & Communicatie Radboud Universiteit, tel. (024) 361 60 00

Bijlage II. Analyse van Biometris Wageningen University and Research Centre.

Evaluation of the statistical analyses in Hallmann et al. 2014 “Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations”.

Biometris, Wageningen University and Research Centre 14 August 2014, Wageningen.

Evaluatie van de statistische analyses in Hallmann et al 2014 “Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations.

Korte samenvatting

De statistische analyses in Hallmann et al (Nature, 2014) worden kritisch bekeken vanuit statistisch perspectief. De zorgen vanuit dit perspectief blijken na analyse van de samengevatte gegevens niet tot andere conclusies te leiden.

Eén conclusie moet wel naar mijn mening wel worden afgezwakt. Het is de conclusie die getrokken wordt uit de vergelijking van trendschattingen uit twee perioden (1984-1995 en 2003-2010) en hun verband met gemiddelde log imidacloprid concentratie uit de periode 2003-2009. Het verschil in effect tussen die twee periodes is vermoedelijk niet statistisch significant.

Het artikel heeft een goede discussie over de vraag of de correlatie van afname met imidacloprid op een causaal verband kan wijzen.

Een aantal aspecten kan alleen worden beantwoord in een uitgebreide heranalyse van de originele gegevens. Het rapport bevat een aantal aanknopingspunten hiervoor.

Uitgebreide samenvatting

In Hallmann et al (Nature, 2014) wordt de afname in insectenetende vogels in verband gebracht met hoge concentraties imidacloprid (imid) op basis van data uit gestandaardiseerde monitoring data van Sovon en de bestrijdingsmiddelenatlas van Nederland. Dit wordt gedaan op basis van statistische analyses. In dit rapport worden de statistische analyses in het artikel kritisch bekeken vanuit statistisch perspectief. De samengevatte gegevens die met het artikel gepubliceerd zijn (weergegeven in Figuur 1b van het artikel), zijn op verschillende manieren nader geanalyseerd.

Het belangrijkste punt van zorg over de gebruikte analyses is dat ze lijden aan Pseudoherhaling. Bij pseudo herhaling worden gegevens als onafhankelijk beschouwd terwijl ze feitelijk statistisch gezien afhankelijk zijn. Zo worden de trendschattingen van soorten van eenzelfde monitoring plot als onafhankelijke punten in de analyse opgenomen en wordt er geen rekening gehouden met mogelijke ruimtelijke afhankelijkheid (autocorrelatie) en er wordt ook niet achteraf gecontroleerd of autocorrelatie een rol kan spelen.

Een punt van zorg is de interpolatie van imid naar de monitoring plots. Daarbij is gebruik gemaakt van kriging met externe drift. De gebruikte drift vorm kan ongewenste randeffecten geven. De mogelijke randeffecten (voor zover leidend tot hoge concentraties) lijken echter het verband niet direct te treffen aangezien de trendschattingen in de hoogste concentratie klasse juist hoger zijn dan verwacht op basis van het lineaire verband met log-imid. De onnauwkeurigheid in de imid metingen en interpolaties zijn geen punt van grote zorg aangezien het niet leidt tot het overschatten van het verband; het leidt eerder tot onderschatting van de sterkte.

Trendschattingen uit twee perioden (1984-1995 en 2003-2010) worden in verband gebracht met de gemiddelde log-imid concentratie uit de periode 2003-2009. Voor de periode 1984-

1995 wordt geen statistisch significant verband gevonden en voor de periode 2003-2010 wel. Het verschil tussen “statistisch significant” en “statistisch significant” is op zich niet statistisch significant. Het verschil is mogelijk niet significant hetgeen de onderbouwing ondermijnt van de conclusies die uit dit verschil worden getrokken in het artikel.

Een sterk punt van het artikel is het onderzoek naar acht andere mogelijke verklaringen voor de afname in insectenetende vogels. In die vergelijking is imid veruit de belangrijkste factor en zijn zeven van de acht variabelen niet statistisch significant. Het probleem van pseudo-herhaling in de gegevens, zoals hierboven omschreven, is kennelijk niet zo groot dat erg gemakkelijk statistische significante verbanden gevonden kunnen worden.

De samengevatte gegevens leiden veel minder aan mogelijke pseudo-herhaling en hun aantal is kleiner dan het aantal onderzochte monitoring plots. De statistische analyses uitgevoerd op de samengevatte gegevens laten zien dat het statistische verband tussen de afname in insectenetende vogels en imid robuust is tegen grote perturbaties van de gegevens. Zo leidt het weglaten van de laagste twee imid klassen of de hoogste twee klassen (die mogelijk een effect van de imid interpolatie zijn) niet tot andere conclusies. Zelfs op basis van maar negen datapunten, die gevormd zijn door de mediaan te nemen van de trendschattingen per imid klasse, is er statistisch gezien nog een duidelijke aanwijzing voor het verband.

In het artikel wordt zorgvuldig omgegaan met de vraag of een correlatie ook een aanwijzing voor een causale verband zou kunnen betekenen.

Een aantal aspecten kan alleen worden beantwoord in een uitgebreide her-analyse van de originele gegevens. Het rapport bevat een aantal aanknopingspunten hiervoor.

Introduction

This report discusses the statistical aspects of Hallman et al. (2014) upon a request by the Ctgb-College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden on 30 July, 2014. The deadline for the report was 14 August, 2014. The original data were not available but summarized data turned out to be available.

References to the paper by Hallman et al. (2014) take the form N:... or N:Sp... for a reference to the main paper or the Supplementary Information page

The R code with results for the summarized data is added as Appendix to this report.

1. Issues when inferring from spatial patterns

The main issue when inferring relationships from two spatial pattern is that of spatial auto-correlation in either or both spatial variables. Spatial auto-correlation entails that the values at two close locations is likely to be more similar than those at two distant locations.

Autocorrelation can be seen as a problem of pseudo-replication in that two very highly correlated observations should in fact be counted as one observation. This is the basis of, for example, Dutilleul’s modified t-test (Dormann et al. 2007). The most striking feature is that the uncertainty of a regression coefficient increases. More detail is as follows.

In a regression setting as in the paper, most attention has be devoted to autocorrelation in the response variable (here the local bird trend) as standard regression results are based on the

assumption of independence of the errors. This assumption can be partly checked by an analysis of the residuals of the fitted regression model. In the paper, it would have been logical to check for residual spatial autocorrelation by fitting a semivariogram to the residuals of the analysis in the same way as done in the paper for the imidacloprid (for short, imid) concentrations (Extended Data Figure 3). Such or similar analysis has not been reported. If residual autocorrelation is found (or is suspected), a method to account for spatial autocorrelation can be applied (Dormann et al. 2007). The effect of auto-correlation can give bias in the estimate of the effect in some situations, but not necessarily so as Dormann et al (2007) confirmed in simulations. “The more striking feature is underestimation of the uncertainty.” (Dormann et al. 2007).

Less attention has been devoted to autocorrelation in the predictor variable (here log imid concentration). In time series analysis, which is a slightly easier context, the standard used to be to pre-whiten the two time series before correlating them. Prewhitening is an operation that attempts to remove the autocorrelation in a time series. The standard model nowadays is the Vector AutoRegression (VAR) model (http://en.wikipedia.org/wiki/Vector_autoregression) which does the whitening simultaneously with estimation of the relation between the two series.

High (spatial) autocorrelation in the predictor makes it more likely that there is another (unobserved) variable that may also explain the response variable. If, for example, imid takes only two values (low and high), and low occurs only in the East of the Netherlands and high only in the West of the Netherlands, than any variable that differs greatly between East and West can equally explain the bird trend. The problem of spatial autocorrelation is thus closely linked to the possibility of other variables causing the effect on bird trends.

In N:Figure 1a there appear to be 8-12 disjoint regions with concentrations >50ng/l and 2-4 disjoint regions with concentrations <10ng/l. For a regression analysis, as reported in N:Figure 1b, the low regions are equally informative as the high regions.

2. Interpolated and imprecise imid values

The imid concentrations are low, are measured with error and all water boards have their own measuring method. These issues are largely outside the scope of this evaluation but I have a few general remarks on the possible influence of measurement error and of the interpolation.

Measurement error

The statistics literature distinguishes two main types of measurement error (ME), classical and Berkson. For a recent overview see Muff et al. (2014). In the classical error model, the predictor entered in the regression has a higher variance than the true covariate whereas in the Berkson case the opposite applies. Their effects on the estimated regression coefficient differ: with classical ME, the regression coefficient is attenuated, meaning that it has a bias toward 0 (http://en.wikipedia.org/wiki/Errors-in-variables_models), whereas with Berkson ME the regression coefficient is unbiased. Both types of ME thus imply that the effect in the paper is not overestimated due to ME. If imid would have been measured at the monitoring plot, ME would certainly have been of the classical type and the effect of imid is likely to be underestimated.

Interpolation by kriging

The imid concentration were not available at the monitoring plots and were interpolated by universal kriging with external drift (a third order polynomial in the geographic coordinates). The sensitivity of the results to changes in this procedure has not been reported.

The third order polynomial drift is a drift that is likely to cause edge effects. The high interpolated values in East Groningen may perhaps be explained by the high values at neighboring plots in North and South-East Groningen, but the high interpolated values in East Twente (>50ng/l) are likely due to this drift specification. The influence might be that some of the points in the highest classes of imid in N:Figure 1b move to the left. This is not likely to change much the estimated effect.

Interpolation by kriging can also be a good thing in that the procedure may smooth the variability in imid and thus also lessen the variability due to measurement error.

In theory, the problem that the imid concentration were not available at the monitoring plots, is one of missing values. A general statistical methodology for missing data is that of multiple imputation (Rubin 1996, van Buuren 2012). By using this methodology the uncertainty caused by the interpolation could have been accounted for. The likely effect of the uncertainty is that the standard error of the regression coefficient would increase.

I recommend using the multiple imputation methodology in any full re-analysis of the data.

3. Detailed statistical evaluation

3.1 The data used

Bird data

The selection of bird species is on subject matter grounds (N:Sp1-4): insectivorous farmland passerine species that are common to the Dutch agricultural landscape. The national trend estimates over the period 1990-2005 are reported in qualitative terms in N:Extended Data Table 1: four species with increasing trends, four stable trends and seven negative trend in the period 1990-2005. This period is largely before the main (eight years) period studied in the paper (2003-2010).

Monitoring plots “with less than three years of non-zero counts for a given species were” ignored. This selection is irrespectively of the years in which the non-zero each plot on a time series of 10 years which has at least three non-zero counts. This is a bare minimum, which will lead to sometimes very imprecise trend estimates per plot. Imprecision will make the detection of a statistical relation of trends with imid more difficult. The method of trend estimation is a Poisson log-linear regression of territory counts against year (N:Sp8). The trend is estimated by the slope of this regression and this is the standard method.

Monitoring plots that are >5 km from imid measurement points are also ignored. All 354 remaining monitoring plots (17-200 for individual species) are thus within 5 km of imid measurement points “to avoid basing inference on distant interpolations”(N:Sp4). The locations of the 354 plots are shown in N:Extended Figures 2.

Imidacloprid data

The measurements are from the period 2003-2009 and carried out in March – September. Data with limits of concentration above 10 ng/l were ignored. In total 3947 measurements

were used from 555 unique sampling locations. Per location, the log-concentrations are averaged and the resulting averages (z) are submitted to a geostatistical analysis (universal kriging with drift) to map to a fine grid (250 meter) across the Netherlands represented as color map with contour lines in N:Fig. 1a. The drift is a third order polynomial of the spatial coordinates which may lead to unwanted edge effects at points further away from sampling locations. It would have been an advance if the sensitivity to this choice was investigated and reported. The kriging used a “classical matern variogram” (N:Sp5) where “classical” refers here, as I understand it, to variogram and not matern. The roughness parameter (κ) of the Matérn model is not reported, but can influence the interpolation. The reported range of spatial autocorrelation is reported as 13.2 km with a nugget of 0.1901 and a sill of 1.6989. Nugget and sill are the variances of the averaged log-concentration (z) at very short and very large distances, respectively. The value of 0.19 translates to a coefficient of variation of about 44% of the geometric mean concentration ($\exp(z)$) (Jongman et al. 1995)[p.19]. At 5 km, the semi-variance is about 1 (N: Extended Data Figure 3), which translates to a coefficient of variation of more than 100% of the geometric mean concentration ($\exp(z)$). There is thus considerable variability in measured concentration, even at short distances. The effect of measurement error in covariates (predictors) of a regression is discussed in section “Measurement error”.

The software used for kriging is the R library `gstat`. It is not reported whether the variogram estimation took into account the drift model. As it is not reported, it is likely that the variogram was calculated from the raw imid averages and not in a more advanced way, such as from residuals from the third order polynomial drift model or in a model-based way.

The temporal correlation of imid is found to be high in this data (N: Extended Data Figure 3). Vijver and van den Brink (2014) analyzed temporal variability of imid and found it to be high (implying low temporal correlation), but their analysis of variability does not use formal statistical tools.

The imid concentrations used in the paper are averages of the kriged logconcentrations at the grid-cells whose centroid fell within the monitoring plot boundaries. The resulting values are denoted by x in the R code in the Appendix to this report.

Kriging can also output the uncertainty estimate of a prediction (an interpolation), but this information is neither used nor reported nor mapped. It would have been useful to investigate the sensitivity of the main statistical analysis on the choice of the drift model.

Further remarks on the data

I did not check whether the locations of the monitoring plots in N:Extended Data Figure 2 are all within 5 km of a imid sampling station in N:Extended Data Figure 1, but I wondered whether the locations in East Groningen and Twente fulfilled the criterion. From a statistical point the criterion has importance in view of the range of the autocorrelation. N:Extended Data Figure 5b shows that the 5 km is not crucial to the conclusions of the paper; in the range 1-25 km, the smaller the cut-off value the stronger is the negative effect of imid on bird trends.

A striking feature of N:Figure 1a is the above 100 ng/l concentrations in East- Groningen and in Twente. This feature may be an edge effect of the drift model, but note that in East Groningen sampling locations with high imid concentrations are nearby (N: Extended Data Figure 1).

There are no monitoring plots in N. Limburg or near Venlo, which is apparently a short-coming in the Dutch Common Breeding Monitoring Scheme. Such plots would have been useful as there is a high average imid concentration in this region.

3.2 Statistical analyses of bird trend on imid

The joint statistical analysis on all 15 species (LMER)

The main analysis reported in the main text of Hallmann et al. (2014) and summarized in N:Figure 1b is an analysis of all 15 species jointly (pooled analysis). The data are available from the Nature web site in the discretized form presented in N:Figure 1b (http://www.nature.com/nature/journal/v511/n7509/source_data/nature13531-f1.csv) The file also contains the species name attached to each point in the figure and thus allows to check the analysis albeit on binned data. Binning is not necessarily a bad thing as the interpolated imid data contain error anyway.

N:Figure 1b is based on a model with 15 parallel lines, one for each species, thus with a common slope and with an (random) intercept that depends on the particular species, of which the average line is shown with confidence bands. The model is fitted to the (averaged) interpolated imid log-concentrations. The model suffers in my opinion from pseudo-replication (Hurlbert 1984) in that it treats the trends of different species at the same sampling location as independent units (after correction for species-specific random intercept) whereas they are in fact dependent. Pseudoreplication underestimates variability and usually leads to statistical tests that are too tolerant, in particular, tests that judge an effect too often as significant where there is no true effect. The model treated the $n=1459$ residuals of the model as independent with no check on the validity of this. My re-analyses try to avoid pseudo-replication as much as possible and are based on $n=119$ or even on $n=9$ observations. These analyses, reported in section “Re-analysis of the binned data”, show that effect of imid on bird trends, as deducible from the binned data, remains strong and significant.

The model with species-dependence slopes was run on the full data by the authors as reported in the N:Sp9 but not used “as the random slope to imidaclo-pyrid concentrations for each species accounted for an insignificant amount of variance ($sd=0.0070$) compared to the intercept ($sd=0.0375$),...”. The sd for slopes depends on the scale of log-imid concentrations and is thus difficult to compare with the sd of the intercept (which has a fixed scale). Although the written motivation for use of the simple model is not convincing it is convincing knowing the range of log-imid concentrations. Moreover, the choice for the simple model appears valid as judged from my re-analysis on the basis of the binned data. The simple model fitted as well as both the correlated and the uncorrelated random-intercept-random-slope model as judged by likelihood ratio tests using lme4 (Bates et al. 2014) (p -values > 0.7). The differences in slopes among species are thus not statistically significant. Anyway, the conclusions about the fixed effect of imid on bird trends are about the same under the more complicated models. Note that these more complicated models suffer from the same pseudo-replication as the simple model.

I missed checks for residual correlation among species trends after fitting the model so as to be able to judge the amount of pseudo-replication. The simplest way of extending the model to allow for pseudo-replication is to add a random effect for monitoring plot as applied in a slightly different context by Jamil et al. (2013); even that extension may not be sufficient to remove all residual correlation.

I also missed a plot of the spatial auto-correlogram or of the semi-variogram of the residuals of the analysis, to check for residual spatial autocorrelation and (in connection with the previous paragraph) cross-correlations among species.

Interpretation of the joint analysis

The regression line $y = 0.111 - 0.0374 \log(\text{imid})$ in N:Figure 1b is used in the main text (N:p1) to derive that “the imid concentration above which bird populations were in decline was 19.43 (s.e.m 0.03) ng/l” with $19.43 = \exp(0.111/0.0374)$. In a model with random intercepts for species, some species are predicted to increase at this concentration, while other are predicted to decrease. Indeed, the average predicted trend across species is 0 at this concentration.

I note that the model is unrealistic in the sense that at low concentrations the species on average increase (only two decrease in my re-analysis) with more increase when extrapolating to even lower imid concentrations, whereas the overall trend in the Netherlands (in an earlier period) had a negative trend for 7 out of the 15 species. This aspect should have been discussed in the paper.

If the model holds in the range of the data, then the value of 19.43 ng/l has no special meaning in my opinion. If this model holds, the difference in trend at a particular concentration and the predicted trend at the lowest concentration or at the no-effect concentration is of interest. This reasoning makes the putative effects bigger than reported in the paper.

Comparison of the effects in two periods (1984–1995 and 2003–2009)

The trends per plot and species were also calculated for the period 1984-1995, i.e. before imid application and regressed to the imid data from the 2003-2009 period “in order to preclude that the interpolated imid concentrations reflect a spatial pattern of local farmland declines that developed before the introduction of imid in the Netherlands”. The calculated trends in this earlier period “did not relate to imid”, reported as for the full data as “(LMER: df 1288, $t = -1.56$, $P = 0.11$)” in N:Sp11 and for the monitoring plots with trends for both periods (thus using fewer plots) as ($t = -1.43$, $P = 0.15$) for the 1984-1995 period and ($t = -2.16$, $P = 0.031$) with d.f. = 365 for the 2003-2010 period of trends in N:Extended Data Figure 6. The emphasis in the paper is on the fact that the one trend is significant and the other is not. However the “difference between *significant* and *non-significant* is not itself statistically significant” (Gelman and Stern 2006). The appropriate analysis to do in this context is a test on the difference in effects between the two periods, in general, by comparing a model of main effects and interaction effects between period and imid with a model without the interaction. As the measurements are from the same plot, plots should be added to the model as well. The equivalent simpler analysis is to calculate the difference of the trend estimates between periods for each plot and analyse these differences with the same model as the original data. A significant relation with imid then shows the difference in effect in the two periods.

To the reader and me, only the t-values are available. As a crude proxy of the recommended analysis I reason as follows. As the number of degrees of freedom is large, the distribution of the t-value is close to the standard normal distribution. The difference in t-values is $2.16 - 1.42 = 0.73$ with, assuming independence of the two t-values, a variance of two. This is thus a small difference that is not statistical significant. However, as the data are from the same plots, the t-values are positively correlated giving a smaller variance. With correlation $r > 0$, the variance

is $2(1-r)$. For quite high r , namely $r > 1 - 0.732/8 = 0.93$, the difference of 0.73 is significant at the 5% level.

This part of the statistical analysis can easily be improved upon with access to the original data analyzed. Such data were not available for this evaluation.

Accounting for other factors (landscape variables)

The part of the paper on accounting for landscape variables is strong from a statistical point of view. The significance of the *imid* effect is judged in the context of the full multiple mixed effect model for trend using *imid* and 8 landscape variables as predictors and compared to the effects of the landscape variables (N:Figure 2 and N:Extended Data Table 2). According to N:Sp11, the F statistics in N:Figure 2a are based on single term deletions from the full model (N:Extended Data Table 2). In N:Figure 2a this is described as the marginal variance ratio, which I found confusing; to me it is a conditional variance ratio as it is conditional on the other predictors in the model.

A noteworthy result of this analysis is that only *imid* and Bulb area have significant effects in the model. But note that the effect of Bulb area is *positive* and only marginally significant; it is inferred to increase the local trend. If *imid* is high in a region with high Bulb area, their joint effect is thus less than predicted by *imid* alone.

The negative effect of *imid* in the full model is less in absolute value (namely -0.0294 s.e.m. 0.0077) than in the analyses with *imid* alone (namely -0.0374 s.e.m. 0.0066). The analyses on accounting for landscape variables also show that the pseudoreplication problem should not be overemphasized; effects of the eight tested variables (except one) are not significant despite the pseudo-replication mentioned in this section and the section “Issues when inferring from spatial patterns”.

Analyses per species

The analyses per species do not suffer from the pseudo-replication in the sense of the subsection “The joint statistical analysis on all 15 species (LMER)”.

The analyses per species are least-squares regression “weighted by the mean number of territories of plots ... in order to avoid a high influence of demographic stochasticity of small populations” (N:Sp9). In the functions `lm` for regression in the software environment R, which was presumably used for this, the weight total does not influence the outcome of the model including standard errors, so that using the numbers as the weights does not incur any (additional) pseudo-replication. (The function `lmer` for mixed model regression works the same in this respect as the function `lm` for regression). It is nevertheless wiser to write “weighted proportional to the mean number” as in other software a weight of 2 may mean the same as putting the data row twice in the data set.

All but one of the 15 tested species showed a negative slope with respect to *imid*, and 6 out of 15 are significant at the 5% significance level after Bonferroni correction for multiple testing (Np1).

The kind of possible pseudo-replication in these analyses is the spatial aspect of the data. See the section “Issues when inferring from spatial patterns”.

4. Re-analysis of the binned data

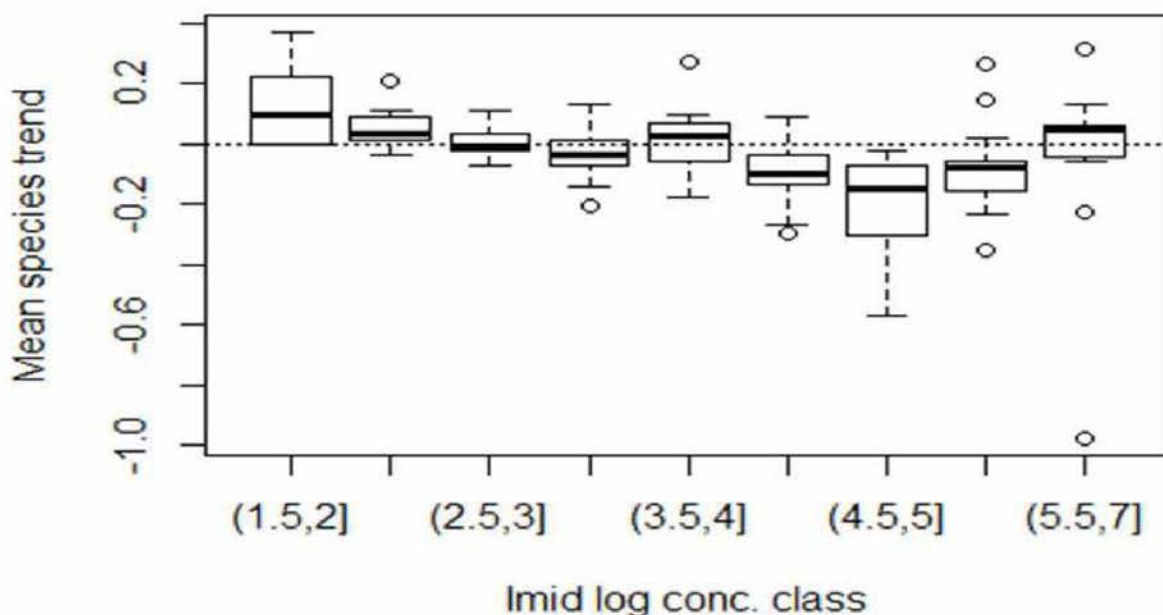
4.1 The binned data

Only a limited amount of information and data is available for this evaluation. The discretized data presented in N:Figure 1b is available from the Nature web site (http://www.nature.com/nature/journal/v511/n7509/source_data/nature13531-f1.csv) The file also contains the species name attached to each point in the figure and thus allows to check the analysis albeit on binned data. Binning is not necessarily a bad thing as the interpolated imid data contain error anyway. All geographic information was not available, nor information on co-occurrence of species at the same plot. Figure 1 shows a standard boxplot of the data.

It should be noted that there is one data point not shown in N:Figure 1b, but visible in the boxplot shown in Figure 1: a trend of -0.9775 for the *Mistle thrush* in a single plot (n=1) in the highest dosage (ln-conc = 6.25, conc = 518). Removing this point [or resetting to about the next lowest trend in this concentration class (-0.2)] turns out 1).

The concerns about pseudo-replication as expressed in section 3 do not apply as much to these analyses as to the original analyses. The number of units in these analyses is far less than in the original analysis (119 against 1459) and even less than the number of monitoring plots (119 against 354). The problem that trends of species in the same plot may be dependent (given the covariates in the model) is not solved in the binned data, but its putative effect is likely to be small. The problem of spatial autocorrelation remains implicit in the analyses of the binned data, but its effect is likely to be small. The concerns about pseudo-replication as expressed in section 3 do not apply to the analyses that I performed on just nine points, which are weighted median trends in the nine imid classes.

I carried out the LMER analyses in `lme4` which is the successor to the `nlme` library used in the paper and by the same senior author (Bates). All analyses were carried out in R with mention of package name if not `lme4`.



4.2 Analyses of the binned data and the median.

Table 1 summarizes the results of the analyses. In Table 1, Model N is the model of the paper as reported in N:Figure 1b.

Model A (Table 1) mimics the analysis in N:Figure 1b as much as possible using the available binned data. It uses 119 observations which are means trends within the bins per species. The weight (W) used is proportional to the number of monitoring plots of the particular species falling a particular imid bin. The conclusions to be drawn from this analysis are identical to those of the original analysis. The model without imid but with random intercepts for species has an overall mean close to 0, namely -0.00825 (0.00945). The mean bird trend averaged over all birds thus close to 0.

Related models with correlated or uncorrelated random intercept and random slope yield about the same results as model A. The standard deviation of the random slopes is very small compared to the absolute main effect (the slope of -0.034). There is thus no evidence of a difference among species in terms of the effect of imid. A same conclusion is reached when using multiple regression using the model species + species.x (with x is log imid).

Model B (Table 1) ignores the number of plots that is used as weight in Model A and model C (Table 1) removes the outlier in the highest imid class. The outlier has an influence on the unweighted analysis B. It has little influence on the weighted analysis (result not shown). The conclusions to be drawn from these analysis are identical to those of the original analysis.

Model D (Table 1) is suggested by N:Figure 1a, where the contour lines appear to focus on regions with concentrations above and below 50ng/l. This model addresses the issue whether the linear model applies across the whole range of log-imid concentrations. The model consists of two straight lines that connect at 50ng/l. It included random intercepts for species. The slope with respect to imid is very negative and significant in the region below 50ng/l, and less negative and nonsignificant in the region above 50ng/l. However, as difference between *significant* and *non-significant* may not itself be statistically significant, I tested for the difference and the difference is not statistically significant. The model with a single slope describes the data sufficiently well.

Removing the highest imid class or highest two imid classes strengthens in this data the negative relationship with imid (see Appendix). But the lowest imid values also have a big influence on a regression and these may be due to edge effects in the interpolation method and/or appear in isolated regions that might be peculiar. Model E is an analyses without the lowest imid concentration class (<7.2ng/l) and is very similar to the results of Model A. Model F removes all regions with less than 12ng/l (an idea about the regions involved can be obtained by inspecting the 10ng/l contour lines in N:Fig1a). The result shows a highly significant effect; the regression coefficient is -0.027.

Models G-J are fits on weighted medians trends per concentration class. These are fits on only nine points. The models differ in weighting of the points. The P-values are two-sided. As one does not expect the trend to increase with imid, a better test would be one-sided. For this, the reported P-value must be halved, yielding a significant negative slope at $P < 0.05$, expect for model F which is weighted by number of species (which gives low weight to the lowest concentration class).

I included three smooth fits to the binned data (n=119) using the packages `mgcv` and

scam and using Bayesian P-splines fitted with the INLA and the (not yet public) BayesPspine package, but these smooth fits do not fit statistically much better than the straight line model of the paper. Figure 2 shows the fit by scam which allows monotonic decreasing fits. The model fit is thus either a horizontal line or, in our case, a decreasing curve (Figure 2). The confidence bands shown in Figure 2 are likely too wide as the model ignored the random intercepts for species, which increases the residual variance of the model.

Table 1. Results of lmer analyses on the binned data.

L ¹	Short description	N ²	W ³	Intercept ⁴	Slope ⁵	s.e.(slope) ⁶	P ⁷
N	N:Fig.1b	1459	1	0.110	-0.0374	0.0066	<0.0001
A	Weighted binned data	119	<i>n</i>	0.100	-0.0342	0.0076	<0.0001
B	Unweighted binned data	119	1	0.124	-0.0421	0.0107	0.00014
C	Unweighted without the outlier	118	1	0.093	-0.0319	0.0094	0.00091
D	Weighted, change point at 50ng/l?	119	<i>n</i>	<50ng/l >50ng/l difference	-0.0398 -0.0243 0.0154	0.0122 0.0190 0.0270	0.0011 0.02 0.57
E	Weighted without 7.4ng/l	112	<i>n</i>	0.097	-0.0335	0.0079	0.00005
F	Weighted without <12.2 ng/l	97	<i>n</i>	0.070	-0.0268	0.0100	0.0092
	Analyses (G-J)		on	weighted	medians		
G	Unweighted	9	1	0.0719	-0.0233	0.0118	0.089
H	Weighted by number species	9	<i>s</i>	0.0513	-0.0191	0.0116	0.14
I	Weighted by number plots	9	<i>n</i>	0.05568	-0.0215	0.0099	0.065
J	Weighted by inverse variance	9	1/var(y)	0.0830	-0.0309	0.0103	0.02

1 Model labels : N- original analysis, A: mimic of N using the binned data, B: as A but not using weights for the data points, C: as B, but without the outlier in the highest imid class, D: a change point model with a slope for log-imid <50ng/l and a slope for log-imid >50ng/l, E: analysis as A but without log-imid <7.4ng/l, D: analysis as A but without log-imid <12.2 ng/l, G-J: simple linear regressions on the weighted medians

per imid bin of N:Fig1b on log imid.

²*N*: number of observations. ³*W*: weight of each observation (*n* = number of monitoring plots or 1).

⁴intercept: estimate of the intercept. ⁵slope: estimate of the slope with respect to log imid. ⁶s.e. (slope): standard error of the slope estimate.

⁷*P*: P-value of statistical test of the null hypothesis that the slope is equal

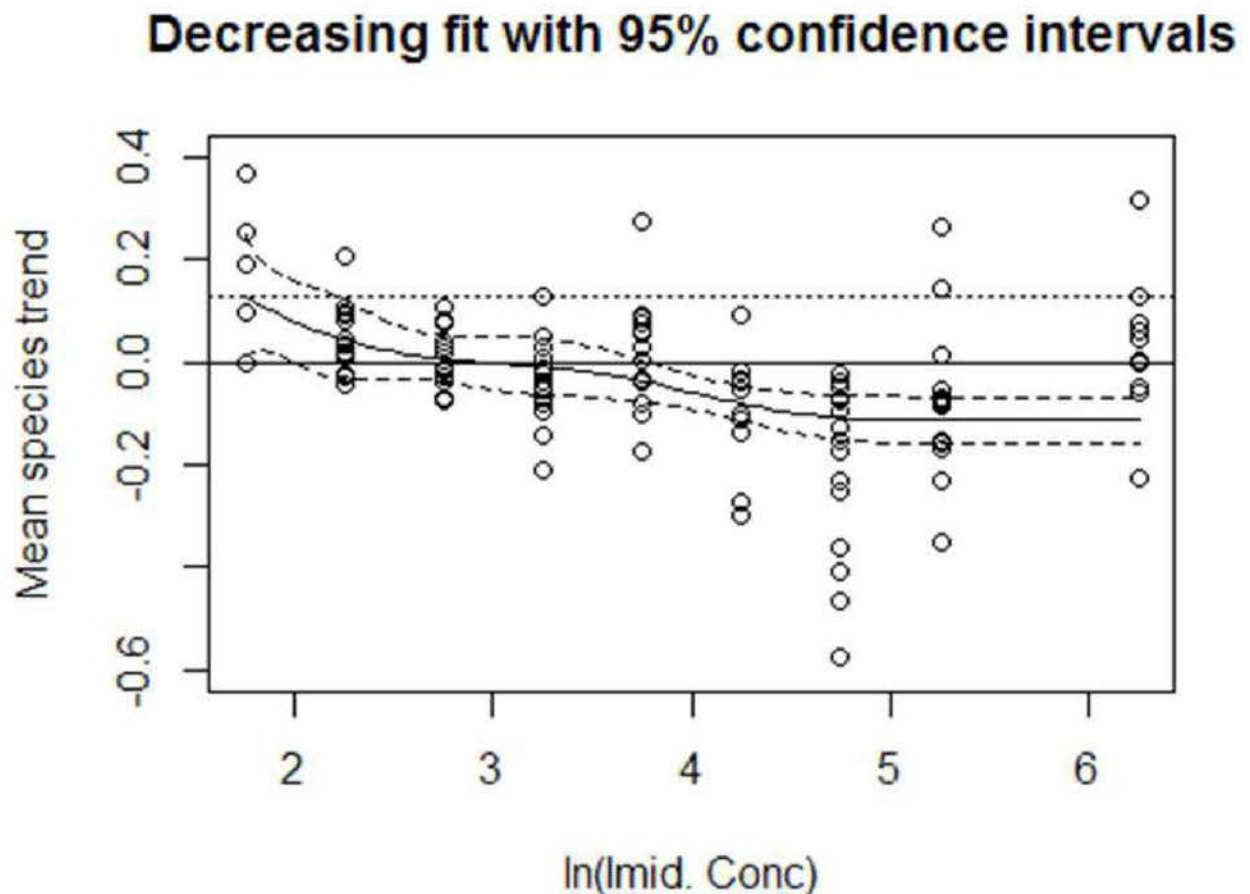


Figure 2. Unweighted smooth fit using package *scam*. The dotted line gives the expected trend at the lowest concentration class and can be considered as a reference line (see subsection Interpretation of the joint analysis). The model did not include random intercepts for species. Consequently the confidence bands may be too wide.

4.3 Conclusions for the analyses of the binned data

The conclusion from the analyses on the binned data is that the statistical relationship between the bird trends and imid is robust against a number of appropriate changes in the data and analysis.

Disclaimer

This report is made without access to the original data and on short notice.

Conflict of interest

The author is co-author on a paper in 2011 with one of the authors of the Nature paper

(R. Foppen). The author does contract research with industry, but not currently or in the recent past with Bayer. These points are mentioned for transparency purposes.

5. References

- Bates, D., M. Maechler, and B. Bolker. 2014. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4 classes. R package version 1.1-7, <http://CRAN.Rproject.org/package=lme4>.
- Dormann, C. F., J. M. McPherson, M. B. Araújo, R. Bivand, J. Bolliger, G. Carl, R. G. Davies, A. Hirzel, W. Jetz, W. D. Kissling, I. Kühn, R. Ohlemüller, P. R. Peres-Neto, B. Reineking, B. Schröder, F. M. Schurr, and R. Wilson. 2007. Methods to account for spatial autocorrelation in the analysis of species distributional data: a review. *Ecography* **30**:609-628.
- Gelman, A. and H. Stern. 2006. The Difference Between “Significant” and “Not Significant” is not Itself Statistically Significant. *The American Statistician* **60**:328-331.
- Hallmann, C. A., R. P. B. Foppen, C. A. M. van Turnhout, H. de Kroon, and E. Jongejans. 2014. Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature* **511**:341-343.
- Hurlbert, S. H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs* **54**:187-211.
- Jamil, T., W. A. Ozinga, M. Kleyer, and C. J. F. ter Braak. 2013. Selecting traits that explain species–environment relationships: a generalized linear mixed model approach. *Journal of Vegetation Science* **24**:988-1000.
- Jongman, R. H. G., C. J. F. ter Braak, and O. F. R. van Tongeren. 1995. *Data analysis in community and landscape ecology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Muff, S., A. Riebler, L. Held, H. Rue, and P. Saner. 2014. Bayesian analysis of measurement error models using integrated nested Laplace approximations. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)*:n/a-n/a.
- Rubin, D. B. 1996. Multiple Imputation After 18+ Years. *Journal of the American Statistical Association* **91**:473-489.
- van Buuren, S. 2012. *Flexible Imputation of Missing Data*. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, FL.
- Vijver, M. G. and P. J. van den Brink. 2014. Macro-Invertebrate Decline in Surface Water Polluted with Imidacloprid: A Rebuttal and Some New Analyses. *Plos one* **9**:e89837.

6. Appendix R code with results

Alleen elektronisch aangeleverd bij deze brief.