

Neonikotinoider och bin

– en systematisk genomgång av den
vetenskapliga litteraturen



Neonikotinoider och bin

– en systematisk genomgång av den vetenskapliga litteraturen

Detta är en rapport från ett projekt om bin, skadegörare och neonikotinoider som finansierats av Myndigheten för samhällsskydd och beredskap. Ett delmål för projektet har varit att sammanställa den internationella forskningslitteraturen för att beskriva kunskapsläget vad det gäller påverkan på bin och humlor av neonikotinoider. Här presenterar vi och diskuterar resultaten av denna litteraturgenomgång. Rapporten bygger på en sammanfattning och svensk översättning av en vetenskapligt granskad artikel¹. Kompletterande information har lagts till om relevansen av resultaten för svenska förhållanden.

Författare

Ola Lundin och Riccardo Bommarco

Institutionen för ekologi, Sveriges lantbruksuniversitet, Box 7044, 750 07 Uppsala

Omslag

Honungsbi på rapsblomma. Foto: Albin Andersson.

¹ Lundin O, Rundlöf M, Smith HG, Fries I, Bommarco R (2015) Neonicotinoid insecticides and their impacts on bees: a systematic review of research approaches and identification of knowledge gaps. PLoS One 10: e0136928.

Sammanfattning

Det finns farhågor om att den utbredda användningen av insektsmedel av klassen neonicotinoider är skadlig för bin. Vi gjorde en systematisk sammanställning av den vetenskapliga litteraturen på området med fokus på hur man utfört studierna och vad man undersökt. Målsättningen var att identifiera områden som kunskapen om neonicotinoiders påverkan bin täcker in och var det finns kunskapsluckor. Vi utvärderade samtliga studier om ämnet som var tillgängliga i Web of Science och PubMed i juni 2015.

Flest studier på honungsbin

Av de 216 studierna med primärforskning som vi hittade, hade de flesta genomförts i Europa eller Nordamerika (82 %), och de hade studerat det verksamma ämnet imidakloprid (78 %) och honungsbiet *Apis mellifera* (75 %). Kunskapen om neonicotinoider och bin i områden utanför Europa och Nordamerika verkar därmed vara bristfällig. Mindre är också känt om effekterna av andra neonicotinoider förutom imidakloprid. Den stora mängden studier på honungsbin kan sannolikt inte helt förutsäga effekterna av neonicotinoider på andra biarter. Studier på grödor dominerades av fröbetad majs, raps och solrosor. Mindre är känt om påverkan på bin av användning av neonicotinoider med andra appliceringsmetoder än betning och i andra grödor, t.ex. i frukt, grönsaker och prydnadsväxter. Flera användningsområden för vilka det råder kunskapsbrist om är dock inte aktuella för svenska förhållanden.

Få fältstudier om neonicotinoidernas påverkan på bin

Laboratoriestudier var vanligast och de har varit värdefulla för att identifiera möjliga effekter av neonicotinoider på bin. För att kunna dra mer långtgående slutsatser från laboratoriestudier behövs det dock fler studier om påverkan på bin av sådan exponering som sker i fält med avseende på halter, tidpunkter och varaktighet av exponeringen. Många fältstudier undersökte endast bins exponering för neonicotinoider genom att mäta resthalter i växter eller i bin. Det behövs fler fältstudier som mäter påverkan på bin av sådan exponering. De flesta studierna mätte påverkan av neonicotinoider på bin på individnivå. Vi föreslår att effekter på bin på individnivå bör kopplas till mekanismer på molekylär- cell- och vävnadsnivå, samt till konsekvenser för bisamhället och om möjligt hela bipopulationen.

Låg risk i Sverige vid en internationell jämförelse

I en internationell jämförelse finner vi att risken för effekter av neonicotinoider på bin och pollinering av grödor är mindre i Sverige än i många andra länder. Detta beror på en mindre användning av neonicotinoider, en striktare reglering av användningen och relativt litet beroende av grödpollinering från bin. Trots detta kan användning av neonicotinoider ha skadliga effekter på bin i Sverige. I en nyligen publicerad stor svensk fältstudie² framstår humlor och solitärbin som särskilt känsliga för den exponering

² Rundlöf M *et al.* (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* 521: 77-80.

som sker via pollen och nektar om användning av utsäde betat med neonicotinoider åter skulle bli aktuellt i grödor som är attraktiva för bin.

Flera samverkande faktorer hotar bin

Användningen av bekämpningsmedel är en av flera samverkande faktorer som hotar bin. En överväldigande utmaning för forskningen är att särskilja neonicotinoidernas roll i förhållande till andra möjliga hot, samt att fastställa omfattningen av eventuella samverkans effekter av dessa hot i fält.

Innehåll

Inledning	6
Metoder	7
Resultat och diskussion.....	8
Publikationstyper och publiceringsår	8
Geografisk fördelning av studier	9
Verksamma ämnen.....	10
Grödor.....	11
Biarter	13
Metoder.....	15
Biologiska nivåer – från påverkan på subindividnivå till populationsnivå	17
Slutsatser.....	18
Referenser.....	20

Inledning

Djur som pollinerar växter utför en viktig ekosystemtjänst. Nästan 90 procent av alla blommande växter och 75 procent av världens vanligaste grödarter pollineras av djur, främst bin (Klein *et al.* 2007, Ollerton *et al.* 2011). Flera svenska grödor, som till exempel äpplen, jordgubbar, oljeväxter, åkerbönor och klöverfrö gynnas av att bin pollinerar dem och det ekonomiska värdet av denna pollinering uppskattas till flera hundra miljoner kronor årligen (Jordbruksverket 2012). Förlust och fragmentering av binas livsmiljöer i jordbrukslandskapet, användning av bekämpningsmedel, förekomst av allvarliga patogener, intensiv förvaltning av honungsbin, och minskat intresse för biodling har alla föreslagits utgöra globala hot mot bina och deras pollinerings tjänster, men den relativa betydelsen av dessa faktorer är oklar (Potts *et al.* 2010). I Sverige har främst varroakvalstret och associerade virus samt otillräcklig biodling i slättbygder pekats ut som hot mot biodling och grödpollinering från honungsbin (Jordbruksverket 2009, 2012), medan förlust och fragmentering av binas livsmiljöer och jordbrukets generella intensifiering har pekats ut som primära hot för vilda bin och deras pollinering (Linkowski *et al.* 2004).

Insektsmedel av klassen neonicotinoider har på senare tid specifikt pekats ut i den vetenskapliga litteraturen som en faktor som kan utgöra ett hot mot både honungsbin och vilda bin (Goulson 2013a, van der Sluijs *et al.* 2013). Sedan den kommersiella introduktionen i början av 1990-talet har neonicotinoiderna snabbt blivit den mest använda klassen av insektsmedel i världen, med en marknadsandel på omkring en fjärdedel. En fördel gentemot äldre klasser av insektsmedel är att neonicotinoiderna har selektiv verkan mot ryggradslösa djur jämfört med ryggradsdjur (Jeschke *et al.* 2011). De tas upp systemiskt av växten och sprids till alla dess delar, vilket kan göra dem effektiva mot ett brett spektrum av skadegörare under en lång tidsperiod (Elbert *et al.* 2008, Jeschke och Nauen 2008, Jeschke *et al.* 2011). Neonicotinoiderna transporteras därmed också till pollen och nektar, som är binas viktigaste näringskällor (Cresswell 2011). Flera av neonicotinoiderna har visat sig vara giftiga för bin i mycket små mängder (Iwasa *et al.* 2004), men samtidigt har uppskattningar av bins exponering för neonicotinoider i miljön i allmänhet visat att de förekommer i halter som är betydligt lägre än de som direkt dödar bin. Flera neonicotinoider bryts ner långsamt i miljön, och finns kvar i till exempel jord och växter lång tid efter användningen (Hopwood *et al.* 2012, Krupke *et al.* 2012, Goulson 2013a). En oro för att bin ska påverkas negativt av neonicotinoider har lett till en tillfällig begränsning av användningen i EU av de tre verksamma ämnena klotianidin, tiametoxam och imidakloprid i grödor som är attraktiva för bin (EU 2013). Betydande kunskapsluckor och kontroverser kvarstår dock om hur välbefogad restriktionen är (Dicks 2013, Goulson 2013b, Gross 2013).

Den internationella vetenskapliga litteraturen om neonicotinoider och bin har sammanfattats vid flera tillfällen tidigare. Dessa litteratursammanställningar har i flera fall handlat om hur neonicotinoider påverkar det europeiska honungsbiet *Apis mellifera* (Maini *et al.* 2010, Cresswell *et al.* 2012a, Farooqui 2013, Fairbrother *et al.* 2014). Andra omfattande litteratursammanställningar har fokuserat på mätningar av resthalter av neonicotinoider i miljön som bin kan utsättas för, möjlig påverkan på bin, samt riskbedömning (Blacquiere *et al.* 2012, van der Sluijs *et al.* 2013, Pisa *et al.* 2015). Dessutom har det vetenskapliga underlaget om effekter av neonicotinoider på bin nyligen sammanfattats av Godfray *et al.* (2014). För att inte upprepa detta syntesarbete valde vi att göra en systematisk litteratursammanställning

av hur man utfört forskningen och vad man undersökt. Mer specifikt ställde vi följande frågor för varje studie om neonikotinoider och bin: (i) I vilket land utfördes studien? (ii) Vilka verksamma ämnen studerades? (iii) Vilka grödor studerades? (iv) Vilka biarter studerades? (v) Vilka metoder användes? (vi) Vilka biologiska nivåer studerades, från *subindividnivå*³ till populationsnivå? Genom att söka svar på dessa frågor ville vi kartera hur vår nuvarande kunskap om påverkan av neonikotinoider på bin har härletts, samt identifiera vilka områden vi har kunskap om och var kunskapsluckorna finns. Vi diskuterar också relevansen av forskningsresultaten för svenska förhållanden.

Metoder

Vi sökte i de vetenskapliga databaserna Web of Science Core Collection och PubMed efter studier som hade undersökt effekter av neonikotinoider på bin. Det sista sökdatumet var 20 juni 2015. Sökningen begränsades till Web of Science och PubMed eftersom de innehöll forskningsartiklar som till stor del fanns lätt tillgängliga i fulltext, som var skrivna på engelska, och som hade granskats av andra forskare innan publiceringen. Vi använde följande söksträng för att hitta potentiella studier om neonikotinoider och bin: (neonic* OR imidacloprid OR clothianidin OR thiamethoxam OR acetamiprid OR tiacloprid OR nitenpyram OR dinotefuran) AND (*bee OR *bees).

Den primära sökningen gav 543 publikationer. Vi sorterade först bort dubletter som förekom i båda databaserna. Konferensbidrag, bokkapitel och publikationer som inte var skrivna på engelska uteslöts också. Återstående publikationer hämtades i fulltext och lästes mer ingående. För att primära forskningsstudier skulle ingå i granskningen hade vi som krav att studien skulle innehålla antingen ett mått på en effekt av en neonikotinoid på bin, eller ett mått på förekomst av en neonikotinoid i bin eller material som bin kommer i kontakt med, exempelvis pollen och nektar. Vi sammanställde även andra typer av artiklar än primärforskning om de behandlade dessa frågor, men dessa listas endast i avsnittet "*Publikationstyper och publiceringsår*" i resultatdelen (se nedan).

För varje studie med primärforskning som uppfyllde kriterierna noterade vi det land där studien genomförts, samt vilka verksamma ämnen, grödor och biarter som studerats. För studier som saknade information om var forskningen hade utförts, t.ex. i vissa laboratoriestudier, antog vi att studien hade utförts på det ställe som den förste författaren angav som sin hemvist.

De metoder som användes i studier med primärforskning kategoriserades i fem olika klasser: laboratoriestudie, semifältstudie, fältstudie, modelleringsstudie, eller kombinationsstudie. Försök där behandlingar och datainsamling utfördes i laboratorium eller i växthus klassades som laboratoriestudier. Studier som använde burar eller tunnlar i fält klassades som semifältstudier. Riskbedömningar och datormodelleringar klassades som modelleringsstudier. Studier som kombinerade flera metoder i serie, t.ex. genom att behandling skedde i fält men effekterna studerades i laboratorium eller tvärtom, klassades som kombinationsstudier. En minoritet av studierna fick flera klassningar eftersom flera metoder användes parallellt, t.ex. när separata laboratorie- och fältstudier publicerades tillsammans.

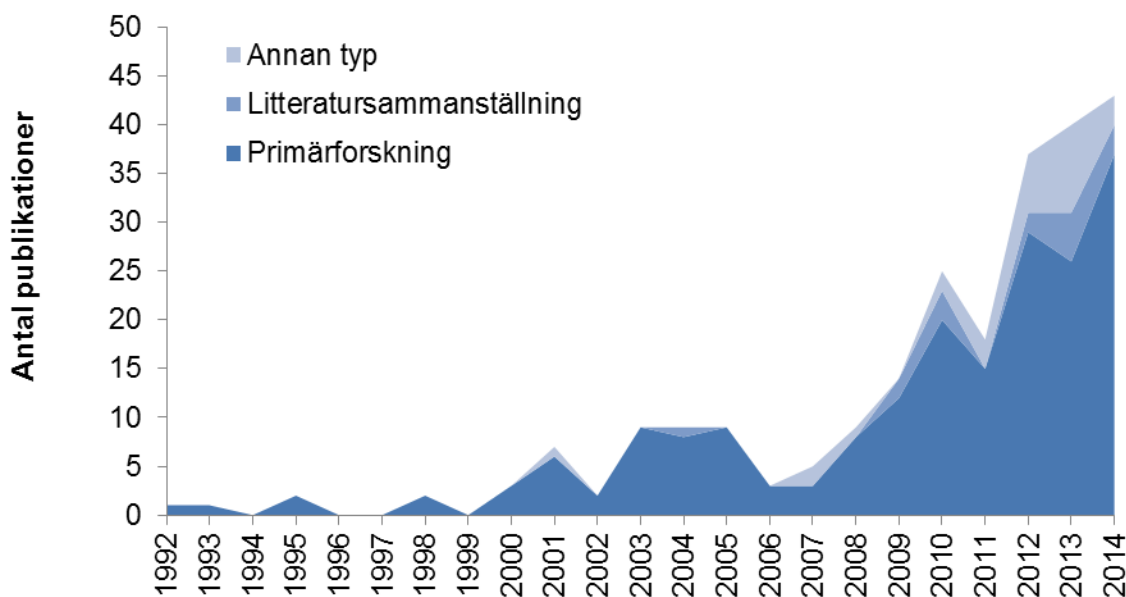
³ Molekyl-, cell- eller vävnadsnivå.

Slutligen kartlade vi på vilken biologisk organisationsnivå som studien mätte effekterna på. Mätningarna delades in i fyra klasser: (i) subindividnivå (t.ex. effekter på genuttryck, celldöd, nervimpulser eller fysiologiska mått), (ii) individnivå (t.ex. effekter på inlärning, minne, rörelse eller dödlighet), (iii) bisamhällesnivå (t.ex. effekter på bisamhällets vikt, fortplantning eller överlevnad), eller (iv) populationsnivå (påverkan på antalet individer i en population).

Resultat och diskussion

Publikationstyper och publiceringsår

Vi fann sammanlagt 268 publikationer som matchade kriterierna; 216 av dessa var studier med primärforskning, 18 var litteratursammanställningar, en var en *meta-analys*⁴, och 33 var andra publikationstyper, t.ex. redaktionellt material, kommentarer och debattartiklar. I Lundin *et al.* (2015) återfinns referenserna till samtliga artiklar. Många studier har tillkommit i snabb takt på senare tid; ungefär hälften av studierna var publicerade under de senaste tre åren (Figur 1).

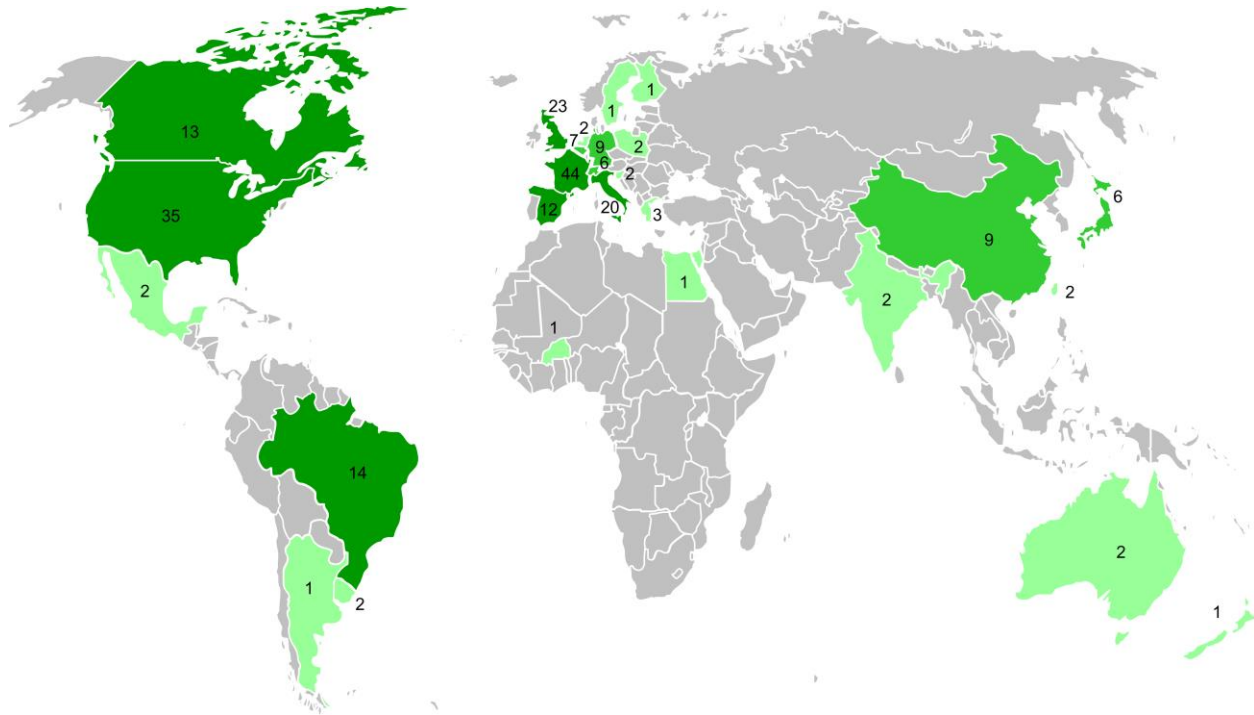


Figur 1. Utvecklingen av antal publikationer om neonicotinoider och bin över tid fördelat på primärforskning, litteratursammanställning eller annan typ av vetenskaplig publikation (t.ex. redaktionellt material, kommentarer eller debattinlägg). Vi fann ytterligare 28 artiklar publicerade under första halvåret 2015 som inte har tagits med i figuren.

⁴ Kvantitativ sammanvägning av resultaten från flera studier.

Geografisk fördelning av studier

Studier med primärforskning hittades från 27 länder, men mer än hälften av studierna kom från fyra länder: Frankrike, USA, Storbritannien och Italien. Totalt sett hade 82 % av studierna genomförts i Europa eller Nordamerika (Figur 2). Nio procent av studierna var från Asien (n = 19) och 8 % var från Sydamerika (n = 17). Tre studier var från Oceanien och två från Afrika.



Figur 2. Geografisk fördelning av forskningen på neonicotinoider och bin. Siffran anger antalet studier med primärforskning från respektive land. Mörkare grön färg illustrerar länder med fler studier.

Fördelningen av studier mellan olika länder skiljer sig förmodligen från hur användningen av neonicotinoider fördelar sig geografiskt. Imidaklopid, som är det mest använda verksamma ämnet, har registrerats för användning i minst 120 länder (Jeschke *et al.* 2011). Det saknas detaljerad information om användningen av neonicotinoider för många länder (Simon-Delso *et al.* 2015), men användningen av insektsmedel är generellt sett mest intensiv i medelinkomstländer som framförallt finns utanför Europa och Nordamerika (Schreinemachers och Tipraqsa 2012). Användningen av bekämpningsmedel är också generellt svagare reglerad i länder utanför Europa och Nordamerika (Schreinemachers och Tipraqsa 2012). Dessutom finns de största ekonomiska värdena av pollinering av grödor i områden utanför Europa och Nordamerika. Det har uppskattats att 58 procent av det globala ekonomiska värdet av insekspollinering härstammar från Asien och ytterligare 8 respektive 10 procent kommer från Afrika och Syd- och Centralamerika (Gallai *et al.* 2009). Dessa faktorer pekar tillsammans på att frågan om hur

användning av neonikotinoider påverkar bin förtjänar mer uppmärksamhet i länder även utanför Europa och Nordamerika.

Endast en av de granskade studierna var från Sverige (Rundlöf *et al.* 2015). Stora skillnader i *grödanvändningsområden*⁵ mellan länder gör att delar av den internationella forskningen inte är av direkt relevans för svenska förhållanden. Användningen av insektsmedel är generellt låg i Sverige, både i ett europeiskt och i ett globalt perspektiv (Rundlöf *et al.* 2012, Schreinemachers och Tipraqsa 2012). Det saknas också behov eller tillstånd för flera användningsområden för neonikotinoider som vi identifierar kunskapsluckor och möjliga risker för i vår granskning av den internationella litteraturen (se vidare diskussion om verksamma ämnen och grödor nedan). Slutligen är den svenska jordbruksproduktionens beroende av grödpollinering från djur litet jämfört med i många andra länder (<2.5% 2009, Lautenbach *et al.* 2012). I en internationell jämförelse finner vi därför att risken för effekter av neonikotinoider på bin och grödpollinering är relativt låg i Sverige (se dock vidare diskussion om den svenska studien nedan).

Verksamma ämnen

Imidaklopid var det mest studerade verksamma ämnet (imidaklopid ingick i 78 % av studierna, n = 168), följt av tiametoxam (34 %, n = 73), klotianidin (33 %, n = 71), acetamiprid (19 %, n = 40), tiaklopid (18 %, n = 39), dinotefuran (7 %, n = 15), och nitenpyram (6 %, n = 13).

Dessa siffror följer i stort den globala försäljningsstatistiken (data för 2009 finns tillgängliga i Jeschke *et al.* 2011); verksamma ämnen med höga försäljningssiffror har också studerats mer vad det gäller effekter på bin. Tiametoxam avviker dock från detta förhållande och har studerats mindre än vad som förväntas från dess försäljningsdata. Imidaklopid, tiametoxam och klotianidin är alla mycket giftiga för honungsbin (*akut kontakt LD50*⁶ för det europeiska honungsbiet *Apis mellifera* är 0.02-0.08 µg per bi) (EFSA 2012). De har också liknande grödanvändningsområden (Jeschke *et al.* 2011). Vi drar därför slutsatsen att det finns ett behov av fler jämförande studier av hur väl det stora antalet studier på imidaklopid återspeglar effekterna av tiametoxam och klotianidin. I Sverige har betning av grödor som är attraktiva för bin förmodligen utgjort den viktigaste källan för bins exponering för dessa neonikotinoider. Med nu rådande restriktioner mot sådan användning bedömer vi därför att bins exponering för dessa neonikotinoider i Sverige har minskat avsevärt (se vidare diskussion om grödor nedan).

Acetamiprid och tiaklopid är flera storleksordningar mindre toxiska för honungsbin jämfört med imidaklopid, klotianidin och tiametoxam (*akut kontakt LD50* för *A. mellifera*: 8.1-39 µg per bi) (EFSA 2012). Tiaklopid och acetamiprid verkar också ha kortare halveringstid i miljön (3-74 dagar i jord för tiaklopid, 31-450 dagar för acetamiprid) jämfört med imidaklopid (28-1250 dagar), klotianidin (148-6931 dagar) och tiametoxam (7-353 dagar, klotianidin är en primär metabolit) (Goulson *et al.* 2013a).

⁵ Det som kallas "crop use" i Jeschke *et al.* 2011; en viss appliceringsmetod i en viss gröda, t.ex. betning i majs.

⁶ *LD50* är förkortning av engelskans "lethal dose 50%" och anger den dos vid vilken hälften av testorganismerna dör. *Akut kontakt* anger att dödligheten mättes inom 1-2 dygn och att testorganismerna utsattes för ämnet via kontaktextponering.

Detta är egenskaper som ger en klart lägre riskprofil för påverkan på bin av dessa ämnen. Tiaklopid och acetamiprid har dock ofta betydligt mer liberala användningskriterier. Till exempel är det ofta tillåtet att spruta dem i blommande grödor (Godfray *et al.* 2014). Sprutning av tiaklopid och acetamiprid, inklusive sådan som sker i grödor som är attraktiva för bin under blomningstid, är ett vanligt användningsområde för dessa neonikotinoider i Sverige (Jordbruksverkets växtskyddscentraler, personligt meddelande, Kemi 2015). Få vetenskapliga studier har undersökt påverkan på bin och pollineringen av användning av tiaklopid eller acetamiprid i blommande grödor (se dock Schmuck *et al.* 2003) och detta är något som förtjänar ytterligare uppmärksamhet. Med hänsyn till vad som hittills är känt om acetamiprid och tiaklopids lägre bigiftighet och kortare varaktighet i miljön jämfört med andra neonikotinoider, bör dock negativa effekter som kan finnas av sådan användning vara av mer begränsad karaktär.

Dinotefuran och nitenpyram är två andra verksamma ämnen av klassen neonikotinoider med låga försäljningssiffror (Jeschke *et al.* 2011). De används inte i Sverige (Simon-Delso *et al.* 2015) och berörs inte vidare i denna sammanställning.

Grödor

Majs var mest studerade grödan (28 studier), följt av raps (7 studier) och solrosor (7 studier). Vi fann en till fyra studier för 13 andra grödor (Tabell 1). Neonikotinoider används i ett stort antal grödor, däribland många frukter och grönsaker (Elbert *et al.* 2008) som ofta är beroende av bin för pollinering (Klein *et al.* 2007). Imidaklopid har till exempel minst 140 olika grödor användningsområden (Jeschke *et al.* 2011). Trots detta fann vi att forskningen om neonikotinoider och bin främst har fokuserat på tre, om än stora, användningsområden, nämligen betning i majs, solrosor och raps.

Studierna på majs undersökte främst (i) vindavdrift vid sådd som kan vara dödligt giftig för bin (t.ex. Girolami *et al.* 2013), (ii) exponering för *guttationsdroppar*⁷ från behandlade växter som också kan vara dödligt giftiga för bin (t.ex. Girolami *et al.* 2009) och (iii) möjliga, men ej bekräftade, *subletala*⁸ effekter på bin till följd av polleninsamling från betad majs (t.ex. Ngyen *et al.* 2009). Dessa risker är inte aktuella för svensk majsodling eftersom majsfrö betat med neonikotinoider inte har använts i Sverige. I de sju studierna vardera på raps och solrosor fokuserade man främst på eventuella subletala effekter på bin till följd av nektar- och polleninsamling från utsäde som betats med neonikotinoider. Två av studierna på raps, som är den mest relevanta grödan för svenska förhållanden, identifierade negativa effekter på jordhumlekoloniers tillväxt och reproduktion av användning av neonikotinoider (Goulson 2015, Rundlöf *et al.* 2015). Rundlöf *et al.* (2015) visade även att att rödmurarbin (*Osmia bicornis*) misslyckades med att etablera bon vid rapsfält som betats med klotianidin. Inga av studierna i raps påvisade några negativa effekter på honungsbikolonier.

⁷ Vätska som bildas på plantor. Guttation liknar dag, men vätskan kommer från växten istället för från luften.

⁸ Inte direkt dödliga men långsiktigt skadliga.

Endast ett fåtal studier utfördes i trädgårdsgrödor, och de flesta av dem undersökte endast möjligheten för att bin kan exponeras för neonicotinoider. Amerikanska studier har t.ex. visat att markbehandlingar med neonicotinoider eller behandlingar via bevattningssystem på friland medför klart högre resthalter i pollen och nektar i pumpa och squash, jämfört med resthalterna i betad majs, solrosor och raps (Dively och Kamel 2012, Stoner och Eitzer 2012). Detta är betydelsefulla fynd eftersom beslut om vad som utgör en fältrealistisk exponering för bin i experiment (t.ex. Gill *et al.* 2012, Whitehorn *et al.* 2012) och i riskbedömningar i den vetenskapliga litteraturen (Rortais *et al.* 2005, Halm *et al.* 2006, se dock Sanchez-Bayo och Goka 2014) ofta har varit grundat på information från majs, solrosor och raps. Om det visar sig att resthalter i pollen och nektar i majs, solrosor och raps inte är representativa för alla grödor så kan uppskattningarna av riskerna med neonicotinoider för bin vara felaktiga. Det var dessutom endast ett fåtal studier som bedömde risker för bin av användning av neonicotinoider på gräsmattor med blommande ogräs (men se Gels *et al.* 2002, Larson *et al.* 2013, 2014, 2015), fruktträd, prydnadsväxter och för hemmabruk i trädgårdar. Det finns visst stöd för att neonicotinoider kan förekomma i högre halter under en längre tidsperiod i behandlade buskar och träd jämfört med i örter och gräs (Hopwood *et al.* 2012, Byrne *et al.* 2014). Det var därför förvånande att man inte i större utsträckning studerat effekter på bin av neonicotinoider som används för fruktträd, bärbuskar, parkträd och prydnadsbuskar.

Tabell 1. Totalt antal studier på neonicotinoider och bin i olika grödor med ett exempel för varje gröda.

Latinskt namn	Svenskt namn	# studier	Exempel på studie
<i>Zea mays</i>	Majs	28	Girolami <i>et al.</i> 2013
<i>Brassica napus</i>	Raps	7	Rundlöf <i>et al.</i> 2015
<i>Helianthus annuus</i>	Solros	7	Schmuck <i>et al.</i> 2001
-	Gräsmatta	4	Larson <i>et al.</i> 2015
<i>Cucumis melo</i>	Cantaloupmelon	3	Hoffmann och Castle 2012
<i>Gossypium spp.</i>	Bomull	3	Stewart <i>et al.</i> 2014
<i>Solanum lycopersicum</i>	Tomat	3	Sechser och Freuler 2003
<i>Citrus spp.</i>	Citrusfrukter	2	Byrne <i>et al.</i> 2014
<i>Cucurbita pepo</i>	Pumpa, squash	2	Stoner och Eitzer 2012
<i>Malus domestica</i>	Äpple	2	Skerl <i>et al.</i> 2009
<i>Brassica juncea</i>	Senap	2	Choudhary och Sharma 2008
<i>Actinidia spp.</i>	Kiwi	1	Chen <i>et al.</i> 2014
<i>Brassica rapa</i>	Ryps	1	Vaikkanen <i>et al.</i> 2015
<i>Glycine max</i>	Sojaböna	1	Stewart <i>et al.</i> 2014
<i>Medicago sativa</i>	Lusern	1	Iwasa <i>et al.</i> 2004
<i>Triticum spp.</i>	Vete	1	Reetz <i>et al.</i> 2011

De flesta kunskapsluckorna och möjliga riskerna med användningsområden som vi identifierat i den internationella vetenskapliga litteraturen är inte aktuella för svenska förhållanden. För biattraktiva trädgårdsgrödor på friland har användningen av imidaklopid, tiametoxam och klotianidin före den nu rådande restriktionen varit begränsad till import av betade frön (Jordbruksverkets växtskyddscentraler, personligt meddelande). Vad vi känner till är också användningen av preparat med dessa tre verksamma ämnena mycket liten eller obefintlig på blommande växter i hemmaträdgårdar, parkmiljöer eller andra ytor som bin besöker utanför jordbruket i Sverige. Imidaklopid är godkänt för användning som granulat på golfbanor och idrottsanläggningar i Sverige (Kemi 2015). Så länge instruktionen följs om att granulatet ska vattnas in, så bedöms sådan användning inte påverka bin som födosöker på eventuellt blommande ogräs på behandlade grönytor (Gels *et al.* 2002).

Biarter

De flesta studierna (75 %, 162 studier) har utförts på det europeiska honungsbiet *Apis mellifera*. Därefter var den mörka jordhumlan *Bombus terrestris* (11 %, 24 studier) och den amerikanska humlearten *Bombus impatiens* (5 %, 10 studier) de mest studerade arterna. För 15 andra biarter eller artgrupper fann vi en till sex studier (Tabell 2).

Få studier har undersökt effekten av neonicotinoider på solitära bin eller på andra sociala bin än honungsbiet och ett par humlearter. Som ett svenskt exempel kan nämnas att oljeväxter förutom honungsbin och humlor också besöks av och till viss del pollineras av sandbin (*Andrena*), bandbin (*Halictus*), smalbin (*Lassioglossum*) och murarbin (*Osmia*) (Pettersson *et al.* 2004). Kunskapen om hur dessa artgrupper av bin påverkas av exponering för neonicotinoider är generellt sett liten, men ett undantag är studien av Rundlöf *et al.* (2015) som visade att rödmurarbin (*Osmia bicornis*) som sattes ut vid rapsfält i genomsnitt etablerade 2.88 bon vid obetade fält, men inga bon alls vid fält som betats med klotianidin.

En intressant fråga är om den kunskapslucka som finns för i princip alla biarter förutom honungsbiet kan övervinnas genom att anta att effekterna på det välstuderade honungsbiet är liknande för andra biarter. När man testat effekter av neonicotinoider på honungsbin och andra biarter samtidigt har man dock i samtliga fall funnit att effekterna varierar mellan arter (Stark *et al.* 1995, Cresswell *et al.* 2012b, Biddinger *et al.* 2013, Cresswell *et al.* 2014). Det verkar dock finnas en generell positiv korrelation mellan vilken dos av ett visst bekämpningsmedel som är dödligt giftig för honungsbiet och för andra biarter (Arena *et al.* 2014). Dessutom kan kanske en del av variationen mellan arter förklaras av skillnader i kroppsstorlek, där större biarter är mindre känsliga för en viss dos av bekämpningsmedel (Devillers *et al.* 2003, Arena *et al.* 2014). Denna möjlighet att kunna förutsäga effekter på andra arter från studier på honungsbin gäller dock endast den dödliga giftigheten av en given mängd bekämpningsmedel för bin på individnivå. Humlor har t.ex. visat sig vara känsligare än honungsbin vad det gäller vissa subletala

Tabell 2. Totalt antal studier om neonicotinoider utförda på olika biarter. Svenskt namn anges för arter som förekommer i Sverige.

Art	# studier	Svenskt namn
<i>Apis mellifera</i>	162	honungsbi
<i>Bombus terrestris</i>	24	mörk jordhumla
<i>Bombus impatiens</i>	10	
<i>Apis cerana</i>	6	
<i>Bombus spp.</i>	4	
<i>Megachile rotundata</i>	3	
<i>Apoidea spp.</i>	3	
<i>Melipona quadrifasciata</i>	3	
<i>Osmia bicornis</i>	2	rödmurarbi
<i>Osmia lignaria</i>	2	
<i>Bombus hypocrita</i>	1	
<i>Bombus ignitus</i>	1	
<i>Bombus occidentalis</i>	1	
<i>Bombus patagiatus</i>	1	
<i>Nannotrigona perilampoides</i>	1	
<i>Nomia melanderi</i>	1	
<i>Osmia cornifrons</i>	1	
<i>Scaptotrigona postica</i>	1	

effekter av neonicotinoider trots att humlor är större än bin (Cresswell *et al.* 2012b, Cresswell *et al.* 2014). Det finns dessutom en stor variation i val av boplatser, flygsäsonger och graden av socialitet mellan olika biarter. Detta innebär att både exponeringen för neonicotinoider och effekterna av sådan exponering på bisamhället och populationen kommer att variera mellan biarter (Thompson och Hunt 1999, Williams *et al.* 2010, Brittain och Potts 2011). Av dessa skäl är det osannolikt att studier på honungsbin helt kan förklara och förutsäga effekterna av neonicotinoider på andra arter av bin.

Honungsbiet är en viktig pollinatör av många grödor (Klein *et al.* 2007), men vilda bin kompletterar honungsbin som pollinatörer och nyare studier indikerar att bidraget från vilda bin till pollineringen av grödor tidigare kan ha underskattats (Breeze *et al.* 2011, Garibaldi *et al.* 2013). Beroendet av pollinerings tjänster från vilda bin kan också komma att öka framöver eftersom behovet av grödpollinering växer mycket snabbare än mängden tillgängliga honungsbin (Aizen *et al.* 2009, Breeze *et al.* 2014). Framtida studier bör därför säkerställa att användningen av neonicotinoider inte äventyrar vare sig honungsbinas eller vildbinas pollinering.

Metoder

Laboratoriestudier var vanligast (n = 112), följt av fältstudier (n = 92). Kombinationsstudier (n = 25), semifältstudier (n = 14) och modelleringsstudier (n = 12) var mindre vanliga.

Laboratoriestudier är värdefulla eftersom de kan avslöja mekanismerna för hur neonicotinoider påverkar bin (Godfray *et al.* 2014). Många laboratoriestudier har hittills undersökt effekterna av neonicotinoider i halter eller doser som är högre än de nivåer som binas utsätts för i fält (Cresswell 2011). Detta är rimligt för att i ett första steg kontrollera om en påverkan överhuvudtaget är mätbar. För att kunna dra mer långtgående slutsatser om påverkan på bin i fält från laboratoriestudier behövs det mer dock information om påverkan på bin av sådan exponering som sker i fält med avseende på halter, tidpunkter och varaktighet av exponeringen.

Många fältstudier mätte endast bekämpningsmedelsrester i bin eller deras miljö. Detta ger viktig information om vilka halter av neonicotinoider som bin utsätts för, men det kan vara svårt att dra mer långtgående slutsatser om möjliga konsekvenser av exponeringen. I en liknande typ av fältstudier relaterades uppmätta resthalter av neonicotinoider till observationer gjorda på bisamhällen. Detta gjordes t.ex. genom att förekomsten av neonicotinoider mättes i svaga bisamhällen eller bin som misstänktes vara förgiftade av bekämpningsmedel (t.ex. Bacandritos *et al.* 2010, Chauzat *et al.* 2010). I vissa fall gjordes också jämförelser med resthalter i bisamhällen som bedömdes vara friska (t.ex. Chauzat *et al.* 2009, Pareja *et al.* 2011). Det kan vara svårt att dra slutsatser om vilken roll exponeringen för neonicotinoider spelade för binas hälsa från sådana studier, bland annat eftersom att förekomsten av olika klasser av bekämpningsmedel och bisjukdomar kan samvariera med förekomsten av neonicotinoider.

I tolv fältstudier utfördes ett mer kontrollerat experiment där bisamhällen placerades vid fält som antingen behandlades med en neonicotinoid eller vid kontrollfält (Tasei *et al.* 2001, Cutler och Scott-Dupree 2007, Ngyen *et al.* 2009, Ondo Zue Abaga *et al.* 2011, Pohorecka *et al.* 2012, Boily *et al.* 2013, Pilling *et al.* 2013, Cutler och Scott-Dupree 2014, Cutler *et al.* 2014, Alburaki *et al.* 2015, Goulson 2015, Rundlöf *et al.* 2015). Man följde därefter hur det gick för bina och bisamhällena. Två sådana nyligen publicerade studier har visat på negativa effekter av betning i raps på jordhumlors kolonitillväxt och reproduktion (Goulson 2015, Rundlöf *et al.* 2015). Den senare studien visade även att rödmurarbin misslyckades med att etablera bon vid betade fält. I de studier som mätte påverkan på honungsbisamhällen fann man inte några tydliga negativa effekter av behandlingen med neonicotinoider. I vissa av studierna drog man därför slutsatsen att den undersökta användningen av neonicotinoider är säker för honungsbin. Minst två typer av reservationer har dock höjts mot dessa slutsatser. För det första har det uppmärksammats att

fältstudier har haft låg *statistisk styrka*⁹ att upptäcka eventuell skadlig påverkan med tanke på det låga antalet upprepningar och honungsbisamhällens stora naturliga variation i storlek (Cresswell 2011, Pirk *et al.* 2013). För det andra kan bisamhällen i kontrollfält utsättas för neonicotinoider från andra fält i studielandskapet (Goulson 2013b), och tvärtom kan bisamhällen vid behandlade fält samla föda från andra fält i landskapet som är obehandlade. Detta beror på att de biarter som främst studerats (honungsbiet eller den mörka jordhumlan) är goda flygare och kan födosöka över flera kilometer i landskapet (Walther-Hellvig och Frankl 2000, Steffan-Dewenter och Kuhn 2003). Av dessa orsaker kan det krävas fler storskaliga fältstudier i landskap där förekomsten av neonicotinoider kontrolleras för att säkrare slutsatser ska kunna dras om effekterna på honungsbin. Sådana studier kan dock av praktiska skäl vara mycket svåra att genomföra eftersom förekomsten av neonicotinoider behöver kontrolleras över stora områden.

En sista kategori av fältstudier bestod av experiment utförda i fält med bin som utfodrades med neonicotinoider och där man sedan mätte hur det gick för bina och bisamhällena (t.ex. Faucon *et al.* 2005, Lu *et al.* 2014, Sandrock *et al.* 2014). Flera sådana studier har funnit skadliga effekter av neonicotinoider på bin. Denna typ av fältstudier ger den högsta nivån av kontroll men de har liknande nackdelar som laboriestudier. Det kan vara svårt att bedöma om exponeringen är realistisk, och i de fall där man trots allt lyckas göra en bedömning av hur realistiska experimenten är blir slutsatsen ofta att exponeringen ligger i den övre delen eller över de nivåer som förekommer i fält (Godfray *et al.* 2014).

Semifältstudier ger en nivå av kontroll som ligger mittemellan fält- och laboriestudier, och de kan generellt vara användbara för att studera sidoeffekter på nyttoinsekter av bekämpningsmedelsanvändning (Macfadyen *et al.* 2014). Som ett exempel kan nämnas att man i en studie inneslöt hela honungsbisamhällen i 200 m² stora tunnlar som sattes upp i betade majs- och rapsfält under blomningstiden (Pilling *et al.* 2013). Ett sådant försöksupplägg simulerar ett scenario i ett intensivt odlat jordbrukslandskap där hela bisamhället samlar all sin mat från en betad gröda under dess blomning. Pilling *et al.* (2013) rapporterade resthalter av neonicotinoider i bin och i grödan, men inte några resultat om påverkan på bina. Denna typ av experiment kan vara ett sätt att studera hur bisamhällen påverkas av högsta tänkbara exponering som kan förekomma i fält, men de ska då utföras på både obehandlade och behandlade fält och effekter på bina ska mätas.

Modellering och riskbedömning är användbara verktyg för att förstå bekämpningsmedels ekotoxikologi, särskilt på högre biologiska nivåer (Köhler och Triebkorn 2013), men det fanns bara ett fåtal utvecklade modeller i den vetenskapliga litteraturen om neonicotinoider och bin. Modeller för bisamhällens utveckling är kostnadseffektiva alternativ till storskaliga fältstudier, och de är användbara för att sammanställa tillgänglig kunskap och identifiera kunskapsluckor (Becher *et al.* 2014). Modeller för att förutsäga effekterna av neonicotinoider på bin är fortfarande sällsynta (men se Henry *et al.* 2012, Bryden *et al.* 2013, Henry *et al.* 2014) och skulle kunna användas i större utsträckning. Modellerna har visat på möjliga skadliga effekter av neonicotinoider på bin (t.ex. Henry *et al.* 2012), men det behövs mer kunskap

⁹ Ett statistiskt mått som anger hur stor chans en undersökning har att med rimlig säkerhet upptäcka en verklig skillnad.

om hur rimliga de antaganden som görs i modellerna är (se t.ex. Cresswell och Thompson 2012). Populationsmodeller kan också användas för att utvärdera hur nyttoinsekter påverkas av användning av bekämpningsmedel (t.ex. Banks *et al.* 2014), men hittills har inga sådana modeller utvecklats för att studera påverkan av neonicotinoider på bin.

Biologiska nivåer – från påverkan på subindividnivå till populationsnivå

De flesta studier mätte effekterna av neonicotinoider på bin på individnivå ($n = 109$ studier), följt av bisamhällesnivå ($n = 60$) och subindividnivå ($n = 48$). Ingen av studierna undersökte effekter på populationsnivå enligt vår klassificering.

Studier av effekter på subindividnivå behövs för att förstå neonicotinoidernas verkningsmekanism (Tomizawa *et al.* 1992) och de kan också ge en mer mekanistisk uppfattning om på vilket sätt neonicotinoider kan samverka med effekten av andra bekämpningsmedel (Palmer *et al.* 2013) och patogener (Alaux *et al.* 2010, Di Presco *et al.* 2013). Endast ett fåtal av studierna på denna nivå gjorde dock direkta kopplingar till högre biologiska nivåer genom att mäta och rapportera konsekvenser av uppmätta subindivideffekter för individen och bisamhället (men se Moffat *et al.* 2015). I allmänhet finns det en begränsad förståelse av hur effekter av bekämpningsmedel på subindividnivå påverkar individ-, populations- och samhällsnivåer i ekosystemen (Köhler och Triebkorn 2013) vilket kan göra det svårt att utvärdera konsekvenser för högre biologiska nivåer från sådana studier.

Studier som mätte effekterna av neonicotinoider på bin på individnivå var vanligast. Sådana studier ger information om vilka doser av neonicotinoider som är dödliga för bin (t.ex. Iwasa *et al.* 2004) eller som resulterar i subletala effekter på faktorer som livslängd, födosöksbeteende, födointag, inlärning och minne hos bin (t.ex. Decourtye *et al.* 2004a, Decourtye *et al.* 2004b, Cresswell *et al.* 2012b, Schneider *et al.* 2012). De flesta studierna mätte effekter på det vuxna stadiet, medan mätningar på larv- eller puppstadier var mindre vanliga, trots att exponering för neonicotinoider i bins tidiga livsstadier både kan ha direkta och fördröjda skadliga effekter (Yang *et al.* 2012). Dessutom mättes sällan långsiktiga effekter av låg exponering under en längre tid även om detta är speciellt relevant för neonicotinoider (Rondeau *et al.* 2014). En begränsning med att bara mäta effekterna på individnivå är att ingen hänsyn tas till eventuell förstärkning eller kompensering för exponering av bekämpningsmedel på bisamhällesnivån. Hos honungsbin, humlor och andra samhällsbyggande bin, är bisamhället den reproduktiva enheten, och förluster av enskilda arbetarbin kan ibland tolereras upp till en viss nivå utan några mätbara konsekvenser för bisamhällets överlevnad eller reproduktion (Schmid-Hempel och Heeb 1991).

Vi definierade effekter på populationsnivå som en förändring i populationsstorleken som kvarstod under minst en komplett livscykel hos studieorganismen. Enligt denna definition fann vi inga studier som undersökte populationseffekter, trots att flera studier indikerade att sådana effekter kan förekomma. Till exempel har två studier nyligen visat minskad reproduktion hos jordhumlor som exponeras för neonicotinoider under fältförhållanden (Goulson 2015, Rundlöf *et al.* 2015). Den senare studien visade även på en negativ effekt på rödmurarbiets förmåga att etablera bon vid betade rapsfält. Huruvida sådana

effekter på fortplantningen går att översätta till konsekvenser för vilda bins populationsstorlekar beror på flera faktorer. Till exempel beror det på hur reproduktionen inom hela bipopulationen (inte bara hos de bin som har boplatser precis bredvid betade fält) påverkas av exponeringen för neonicotinoider. Det beror också på hur negativa effekter på fortplantningen i sin tur påverkar andra populationsreglerande faktorer, t.ex. genom mindre konkurrens om föda och boplatser (kompensation för den negativa effekten orsakat av insektsmedlet) eller ökade svårigheter att hitta en partner och högre grad av inavel (förstärkning av den negativa effekten orsakat av insektsmedlet) (Roulston och Goodell 2011, Godfray *et al.* 2014). Möjliga sätt att åtgärda bristen på information om populationseffekter på vilda bin är att övervaka bin under flera säsonger i landskap med varierande användning av neonicotinoider, eller att använda sig av modellstudier som baseras på demografisk populationsdata från experiment.

Slutsatser

Grundat på en systematisk genomgång av den vetenskapliga litteraturen drar vi slutsatsen att det trots en avsevärd mängd forskning fortfarande finns betydande kunskapsluckor om hur neonicotinoider påverkar bin. Studierna var inte representativa i förhållande till den mångskiftande och globala användningen av neonicotinoider. Forskningen om påverkan på bin har inte täckt in att neonicotinoider används med många olika appliceringsmetoder på en lång rad grödor och andra växter som en mångfald av biarter besöker.

Laboratoriestudier var vanligast. För att kunna dra mer långtgående slutsatser om påverkan på bin i fält från laboratoriestudier behövs det mer information om påverkan på bin av sådan exponering som sker i fält med avseende på halter, tidpunkter och varaktighet av exponeringen. Många fältstudier undersökte endast bins exponering för neonicotinoider genom att mäta resthalter i växter som bin besöker eller i bin, och fler fältstudier behövs som mäter effekterna på bin av sådan exponering. I de flesta studierna mättes effekter på honungsbin på individnivå. För att bättre förstå vilka effekter neonicotinoider har på bin, behövs fler studier som kopplar effekter på individen till mekanismer på subindividnivå, samt till konsekvenser för bisamhällen och populationer.

Det är viktigt att komma ihåg att en begränsning med denna litteratursammanställning är att den baserades enbart på studier tillgängliga i Web of Science och PubMed. Ytterligare information om effekten av neonicotinoider på bin kan finnas i publikationer utanför dessa databaser, men vi bedömer att sammanställningen har tagit hänsyn till merparten av den vetenskapligt granskade litteraturen. Vår sammanställning har inte heller tagit med någon information om påverkan på bin från de omfattande riskbedömningar som genomförs vid registreringar av bekämpningsmedel.

I en internationell jämförelse finner vi att risken för effekter av neonicotinoider på bin och pollinering är mindre i Sverige än i många andra länder. Detta beror på en mindre användning av neonicotinoider, en striktare reglering av användningen och relativt litet beroende av grödpollinering från bin. Trots detta kan användning av neonicotinoider ha skadliga effekter på bin i Sverige. I en nyligen publicerad stor svensk fältstudie (Rundlöf *et al.* 2015) framstår humlor och solitärbin som särskilt känsliga för den

exponering som sker via pollen och nektar om användning av utsäde betat med neonicotinoider åter skulle bli aktuellt i grödor som är attraktiva för bin.

Bin i intensivt odlade jordbrukslandskap utsätts ofta för flera olika bekämpningsmedel, vilket skapar risker för kombinationseffekter (Mullin *et al.* 2010). Effekten av neonicotinoider på bin kan till exempel samverka med andra klasser av insektsmedel som pyretroider (Gill *et al.* 2012), bekämpningsmedel som används mot skadegörare i bikupan (Palmer *et al.* 2013) eller svampmedel (Iwasa *et al.* 2003, Biddinger *et al.* 2013), men relevansen av dessa interaktioner under fältförhållanden är oklar och ifrågasatt (Schmuck *et al.* 2003, Thompson *et al.* 2014). Neonicotinoiderna kan också ha samverkans effekter med patogener hos bin (Alaux *et al.* 2010, Vidau *et al.* 2011, Pettis *et al.* 2012, Di Presco *et al.* 2013, Doublet *et al.* 2014, Fauser-Misslin *et al.* 2014, Retschnig *et al.* 2014) men det är fortfarande oklart vilken relevans detta har i fält (Retschnig *et al.* 2015). Både honungsbin och vilda bin hotas av samverkande miljöfaktorer där användningen av bekämpningsmedel är en av flera faktorer (Potts *et al.* 2010, González-Varo *et al.* 2013, Vanbergen *et al.* 2013). En överväldigande utmaning för forskningen är att särskilja neonicotinoidernas roll i förhållande till andra möjliga hot, samt att fastställa omfattningen av eventuella samverkans effekter av dessa hot i fält.

Referenser

- Aizen MA, Harder LD (2009) The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Current Biology* 19: 915-918.
- Alaux C, Brunet JL, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S *et al.* (2010) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*A. mellifera*). *Environmental Microbiology* 12: 774-782.
- Alburaki M, Boutin S, Mercier PL, Loublier Y, Chagnon M *et al.* (2015) Neonicotinoid-coated *Zea mays* seeds indirectly affect honeybee performance and pathogen susceptibility in field trials. *PLoS One* 10: e0125790.
- Arena M, Sgolastra F (2014) A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology* 23: 324-334.
- Bacandritsos N, Granato A, Budge G, Papanastasiou I, Roinioti E *et al.* (2010) Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *Journal of Invertebrate Pathology* 105: 335-340.
- Banks JE, Stark JD, Vargas RI, Ackleh AS (2014) Deconstructing the surrogate species concept: a life history approach to the protection of ecosystem services. *Ecological Applications* 24: 770-778.
- Becher MA, Grimm V, Thorbek P, Horn J, Kennedy PJ *et al.* (2014) BEEHAVE: a systems model of honeybee colony dynamics and foraging to explore multifactorial causes of colony failure. *Journal of Applied Ecology* 51: 470-482.
- Biddinger DJ, Robertson JL, Mullin C, Frazier J, Ashcraft SA *et al.* (2013) Comparative toxicities and synergism of apple orchard pesticides to *Apis mellifera* (L.) and *Osmia cornifrons* (Radoszkowski). *PLoS One* 8: e72587.
- Blacquiere T, Smagghe G, Van Gestel CA, Mommaerts V (2012) Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* 21: 973-992.
- Boily M, Sarrasin B, DeBlois C, Aras P, Chagnon M (2013) Acetylcholinesterase in honey bees (*Apis mellifera* A. mellifera) exposed to neonicotinoids, atrazine and glyphosate: laboratory and field experiments. *Environmental Science and Pollution Research* 20: 5603-5614.
- Breeze TD, Bailey AP, Balcombe KG, Potts SG (2011) Pollination services in the UK: How important are honeybees? *Agriculture, Ecosystems & Environment* 142: 137-143.
- Breeze TD, Vaissière BE, Bommarco R, Petanidou T, Seraphides N *et al.* (2014) Agricultural policies exacerbate honeybee pollination service supply-demand mismatches across Europe. *PLoS One* 9: e82996.
- Brittain C, Potts SG (2011) The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic and Applied Ecology* 12: 321-331.
- Bryden J, Gill RJ, Mitton RA, Raine NE, Jansen VA (2013) Chronic sublethal stress causes bee colony failure. *Ecology Letters* 16: 1463-1469.

- Byrne FJ, Visscher PK, Leimkuehler B, Fischer D, Grafton-Cardwell EE *et al.* (2014) Determination of exposure levels of honey bees foraging on flowers of mature citrus trees previously treated with imidacloprid. *Pest Management Science* 70: 470-482.
- Chauzat MP, Carpentier P, Martel AC, Bougeard S, Cougoule N *et al.* (2009) Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *Environmental Entomology* 38: 514-523.
- Chauzat MP, Martel AC, Blanchard P, Clément MC, Schurr F *et al.* (2010) A case report of a honey bee colony poisoning incident in France. *Journal of Apicultural Research* 49: 113-115.
- Chen M, Tao L, McLean J, Lu C (2014) Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 6082-6090.
- Choudhary A, Sharma DC (2008) Dynamics of pesticide residues in nectar and pollen of mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern.) grown in Himachal Pradesh (India). *Environmental Monitoring and Assessment* 144: 143-150.
- Cresswell JE (2011) A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology* 20: 149-157.
- Cresswell JE, Thompson HM (2012) Comment on “A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees”. *Science* 337: 1453-1453.
- Cresswell JE, Desneux N, vanEngelsdorp D (2012a) Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: an evaluation by Hill's epidemiological criteria. *Pest Management Science* 68: 819-827.
- Cresswell JE, Page CJ, Uygun MB, Holmbergh M, Li Y *et al.* (2012b) Differential sensitivity of honey bees and bumble bees to a dietary insecticide (imidacloprid). *Zoology* 115: 365-371.
- Cresswell JE, Robert FXL, Florance H, Smirnoff N (2014) Clearance of ingested neonicotinoid pesticide (imidacloprid) in honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*). *Pest Management Science* 70: 332-337.
- Cutler GC, Scott-Dupree CD (2007) Exposure to clothianidin seed-treated canola has no long-term impact on honey bees. *Journal of Economic Entomology* 100: 765-772.
- Cutler GC, Scott-Dupree CD (2014) A field study examining the effects of exposure to neonicotinoid seed-treated corn on commercial bumble bee colonies. *Ecotoxicology* 23: 1755-1763.
- Cutler GC, Scott-Dupree CD, Sultan M, McFarlane AD, Brewer L (2014) A large-scale field study examining effects of exposure to clothianidin seed-treated canola on honey bee colony health, development, and overwintering success. *PeerJ* 2: e652.
- Decourtye A, Armengaud C, Renou M, Devillers J, Cluzeau S *et al.* (2004a) Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*A. mellifera* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 78: 83-92.

- Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delègue MH (2004b) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57: 410-419.
- Devillers J, Decourtye A, Budzinski H, Pham-Delègue MH, Cluzeau S *et al.* (2003) Comparative toxicity and hazards of pesticides to Apis and non-Apis bees. A chemometrical study. SAR and QSAR in *Environmental Research* 14: 389-403.
- Di Prisco G, Cavaliere V, Annoscia D, Varricchio P, Caprio E *et al.* (2013) Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 110: 18466-18471.
- Dicks L (2013) Bees, lies and evidence-based policy. *Nature* 494: 283-283.
- Dively GP, Kamel A (2012) Insecticide residues in pollen and nectar of a cucurbit crop and their potential exposure to pollinators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 4449-4456.
- Doublet V, Labarussias M, Miranda JR, Moritz RF, Paxton RJ (2014) Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental Microbiology* 17: 969-983.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Statement on the findings in recent studies investigating sub-lethal effects in bees of some neonicotinoids in consideration of the uses currently authorised in Europe. *EFSA Journal* 10: 2752.
- Elbert A, Haas M, Springer B, Thielert W, Nauen R (2008) Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science* 64: 1099-1105.
- EU (2013) Regulation (EU) No 485/2013. *Official Journal of the European Union* 139: 12-26.
- Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, Fell R (2014) Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33: 719-731.
- Farooqui T (2013) A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. *Neurochemistry International* 62: 122-136.
- Faucon JP, Aurières C, Drajnudel P, Mathieu L, Ribiere M *et al.* (2005) Experimental study on the toxicity of imidacloprid given in syrup to honey bee (*A. mellifera*) colonies. *Pest Management Science* 61: 111-125.
- Fausser-Misslin A, Sadd BM, Neumann P, Sandrock C (2014) Influence of combined pesticide and parasite exposure on bumblebee colony traits in the laboratory. *Journal of Applied Ecology* 51: 450-451.
- Gallai N, Salles JM, Settele J, Vaissière BE (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68: 810-821.
- Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R *et al.* (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* 339: 1608-1611.

- Gels JA, Held DW, Potter DA (2002) Hazards of insecticides to the bumble bees *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) foraging on flowering white clover in turf. *Journal of Economic Entomology* 95: 722-728.
- Gill RJ, Ramos-Rodriguez O, Raine NE (2012) Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature* 491: 105-108.
- Girolami V, Mazzon L, Squartini A, Mori N, Marzaro M *et al.* (2009) Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *Journal of Economic Entomology* 102: 1808-1815.
- Girolami V, Marzaro M, Vivan L, Mazzon L, Giorio C *et al.* (2013) Aerial powdering of bees inside mobile cages and the extent of neonicotinoid cloud surrounding corn drillers. *Journal of Applied Entomology* 137: 35-44.
- Godfray HCJ, Blacquière T, Field LM, Hails RS, Petrokofsky G *et al.* (2014) A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society of London B* 281: 20140558.
- González-Varo JP, Biesmeijer JC, Bommarco R, Potts SG, Schweiger O *et al.* (2013) Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in Ecology and Evolution* 28: 524-530.
- Goulson D (2013a) An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* 50: 977-987.
- Goulson D (2013b) Neonicotinoids and bees: What's all the buzz? *Significance* 10: 6-11.
- Goulson D (2015) Neonicotinoids impact bumblebee colony fitness in the field; a reanalysis of the UK's Food & Environment Research Agency 2012 experiment. *PeerJ* 3: e854.
- Gross M (2013) EU ban puts spotlight on complex effects of neonicotinoids. *Current Biology* 23: R462-R464.
- Halm MP, Rortais A, Arnold G, Tasei JN, Rault S (2006) New risk assessment approach for systemic insecticides: the case of honey bees and imidacloprid (Gaucho). *Environmental Science & Technology* 40: 2448-2454.
- Henry M, Beguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF *et al.* (2012) A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336: 348-350.
- Henry M, Bertrand C, Le Féon V, Requier F, Odoux JF *et al.* (2014) Pesticide risk assessment in free-ranging bees is weather and landscape dependent. *Nature Communications* 5: 4359.
- Hoffmann EJ, Castle SJ (2012) Imidacloprid in melon guttation fluid: a potential mode of exposure for pest and beneficial organisms. *Journal of Economic Entomology* 105: 67-71.
- Hopwood J, Vaughan M, Shepherd M, Biddinger D, Mader E *et al.* (2012) Are neonicotinoids killing bees? A review of research into the effects of neonicotinoid insecticides on bees, with recommendations for action. Portland: The Xerces Society for Invertebrate Conservation. 32 p.

- Iwasa T, Motoyama N, Ambrose JT, Roe RM (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* 2: 371-378.
- Jeschke P, Nauen R (2008) Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science* 64: 1084-1098.
- Jeschke P, Nauen R, Schindler M, Elbert A (2011) Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 2897-2908.
- Jordbruksverket (2009) Massdöd av bin – samhällsekonomiska konsekvenser och möjliga åtgärder. Rahbek Pedersen, T (red). Rapport 2009:24. Jordbruksverket, Jönköping.
- Jordbruksverket (2012) Värdet av honungsbins pollinering av grödor i Sverige. Rahbek Pedersen T, Jordbruksverket, Jönköping.
- Kemi (2015). Bekämpningsmedelsregistret. webapps.kemi.se/BkmRegistret/Kemi.Spider.Web.External/. Kemikalieinspektionen, Sundbyberg.
- Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London B* 274: 303-313.
- Krupke CH, Hunt GJ, Eitzer BD, Andino G, Given K (2012) Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLoS One* 7: e29268.
- Köhler HR, Triebkorn R (2013) Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? *Science* 341: 759-765.
- Larson JL, Redmond CT, Potter DA (2013) Assessing insecticide hazard to bumble bees foraging on flowering weeds in treated lawns. *PLoS One* 8: e66375.
- Larson JL, Redmond CT, Potter DA (2014) Impacts of a neonicotinoid, neonicotinoid–pyrethroid premix, and anthranilic diamide insecticide on four species of turf-inhabiting beneficial insects. *Ecotoxicology* 23: 252-259.
- Larson JL, Redmond CT, Potter DA (2015) Mowing mitigates bioactivity of neonicotinoid insecticides in nectar of flowering lawn weeds and turfgrass guttation. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34: 127-132.
- Lautenbach S, Seppelt R, Liebscher J, Dormann CF (2012) Spatial and temporal trends of global pollination benefit. *PLoS One* 7: e35954.
- Linkowski WI, Cederberg B, Nilsson LA (2004) Vildbin och fragmentering - kunskapssammanställning om situationen för de viktigaste pollinatörerna i det svenska jordbrukslandskapet. ArtDatabanken, SLU och Avdelningen för Växtekologi, Uppsala universitet.
- Lu C, Warchol, KM, Callahan RA (2014) Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder. *Bulletin of Insectology* 67: 125-130.

- Lundin O, Rundlöf M, Smith HG, Fries I, Bommarco R (2015) Neonicotinoid insecticides and their impacts on bees: a systematic review of research approaches and identification of knowledge gaps. *PLoS One* 10: e0136928.
- Macfadyen S, Banks JE, Stark JD, Davies AP (2014) Using semifield studies to examine the effects of pesticides on mobile terrestrial invertebrates. *Annual Review of Entomology* 59: 383-404.
- Maini S, Medrzycki P, Porrini C (2010) The puzzle of honey bee losses: a brief review. *Bulletin of Insectology* 63: 153-160.
- Moffat C, Pacheco JG, Sharp S, Samson AJ, Bollan KA *et al.* (2015) Chronic exposure to neonicotinoids increases neuronal vulnerability to mitochondrial dysfunction in the bumblebee (*Bombus terrestris*). *FASEB Journal* 29: 2112–2119.
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R *et al.* (2010) High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS One* 5: e9754.
- Nguyen BK, Saegerman C, Pirard C, Mignon J, Widart J *et al.* (2009) Does imidacloprid seed-treated maize have an impact on honey bee mortality? *Journal of Economic Entomology* 102: 616-623.
- Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120: 321-326.
- Ondo Zue Abaga N, Alibert P, Dousset S, Savadogo PW, Savadogo M *et al.* (2011) Insecticide residues in cotton soils of Burkina Faso and effects of insecticides on fluctuating asymmetry in honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Chemosphere* 83: 585-592.
- Palmer MJ, Moffat C, Saranzewa N, Harvey J, Wright GA *et al.* (2013) Cholinergic pesticides cause mushroom body neuronal inactivation in honeybees. *Nature Communications* 4: 1634.
- Pareja L, Colazzo M, Pérez-Parada A, Niell S, Carrasco-Letelier L *et al.* (2011) Detection of pesticides in active and depopulated beehives in Uruguay. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 3844-3858.
- Pettersson MW, Cederberg B, Nilsson LA (2004) Grödor och vildbin i Sverige - kunskapssammanställning för hållbar utveckling av insektspollinerad matproduktion och biologisk mångfald i odlingslandskapet. ArtDatabanken, SLU och Avdelningen för Växtekologi, Uppsala universitet.
- Pettis JS, Johnson J, Dively G (2012) Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften* 99: 153-158.
- Pilling E, Campbell P, Coulson M, Ruddle N, Tornier I (2013) A four-year field program investigating long-term effects of repeated exposure of honey bee colonies to flowering crops treated with thiamethoxam. *PLoS One* 8: e77193.
- Pirk CW, de Miranda JR, Kramer M, Murray TE, Nazzi F *et al.* (2013) Statistical guidelines for *A. mellifera* research. *Journal of Apicultural Research*: 52. doi:10.3896/IBRA.1.52.4.13.

- Pisa L, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin J-M, Downs C *et al.* (2015) Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 68-102.
- Pohorecka K, Skubida P, Miszczak A, Semkiw P, Sikorski P *et al.* (2012). Residues of neonicotinoid insecticides in bee collected plant materials from oilseed rape crops and their effect on bee colonies. *Journal of Apicultural Science* 56: 115-134.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O *et al.* (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 345-353.
- Reetz JE, Zühlke S, Spittler M, Wallner K (2011) Neonicotinoid insecticides translocated in guttated droplets of seed-treated maize and wheat: a threat to honeybees? *Apidologie* 42: 596-606.
- Retschnig G, Neumann P, Williams GR (2014) Thiacloprid- *Nosema ceranae* interactions in honey bees: host survivorship but not parasite reproduction is dependent on pesticide dose. *Journal of Invertebrate Pathology* 118: 18-19.
- Retschnig G, Williams GR, Odemer R, Boltin J, Di Poto C *et al.* (2015) Effects, but no interactions, of ubiquitous pesticide and parasite stressors on honey bee (*Apis mellifera*) lifespan and behaviour in a colony environment. *Environmental Microbiology*. In press.
- Rondeau G, Sánchez-Bayo F, Tennekes HA, Decourtye A, Ramírez-Romero R *et al.* (2014). Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. *Scientific Reports* 4: 5566.
- Rortais A, Arnold G, Halm MP, Touffet-Briens F (2005) Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie* 36: 71-83.
- Roulston TAH, Goodell K (2011) The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual Review of Entomology* 56: 293-312.
- Rundlöf M, Lundin O, Bommarco R (2012) Växtskyddsmedlens påverkan på biologisk mångfald i jordbrukslandskapet. Kompetenscentrum för Kemiska Bekämpningsmedel. CKB rapport 2012:2.
- Rundlöf M, Andersson GK, Bommarco R, Fries I, Hederström V *et al.* (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* 521: 77-80.
- Sanchez-Bayo F, Goka K (2014) Pesticide residues and bees – a risk assessment. *PLoS One* 9: e94482.
- Sandrock C, Tanadini M, Tanadini LG, Fauser-Misslin A, Potts, SG *et al.* (2014) Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. *PLoS One* 9: e103592.
- Schmid-Hempel P, Heeb D (1991) Worker mortality and colony development in bumblebees, *Bombus lucorum* (L.)(Hymenoptera, Apidae). *Mitteilungen der Schweizerischen entomologischen Gesellschaft* 64: 93-108.
- Schmuck R, Schöning R, Stork A, Schramel O (2001) Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. *Pest Management Science* 57: 225-238.

- Schmuck R, Stadler T, Schmidt HW (2003) Field relevance of a synergistic effect observed in the laboratory between an EBI fungicide and a chloronicotiny insecticide in the honeybee (*Apis mellifera* L, Hymenoptera). *Pest Management Science* 59: 279-286.
- Schneider CW, Tautz J, Grünewald B, Fuchs S (2012) RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *A. mellifera*. *PLoS One* 7: e30023.
- Schreinemachers P, Tipraqsa P (2012) Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. *Food Policy* 37: 616-626.
- Sechser B, Freuler J (2003) The impact of thiamethoxam on bumble bee broods (*Bombus terrestris* L.) following drip application in covered tomato crops. *Journal of Pest Science* 76: 74-77.
- Simon-Delso N, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin J-M, Chagnon M *et al.* (2015) Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 5-34.
- Skerl MIS, Bolta SV, Cesnik HB, Gregorc A (2009) Residues of pesticides in honeybee (*Apis mellifera carnica*) bee bread and in pollen loads from treated apple orchards. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 83: 374-377.
- Stark JD, Jepson PC, Mayer DF (1995) Limitation to the use of topical toxicity data for prediction of pesticide side-effect in the field. *Journal of Economic Entomology* 88: 1081-1088.
- Steffan-Dewenter I, Kuhn A (2003) Honeybee foraging in differentially structured landscapes. *Proceedings of the Royal Society B* 270: 569-575.
- Stewart SD, Lorenz GM, Catchot AL, Gore J, Cook D *et al.* (2014) Potential exposure of pollinators to neonicotinoid insecticides from the use of insecticide seed treatments in the mid-southern United States. *Environmental Science & Technology* 48: 9762-9769.
- Stoner KA, Eitzer BD (2012) Movement of soil-applied imidacloprid and thiamethoxam into nectar and pollen of squash (*Cucurbita pepo*). *PLoS One* 7: e39114.
- Tasei JN, Ripault G, Rivault E (2001) Hazards of imidacloprid seed coating to *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) when applied to sunflower. *Journal of Economic Entomology* 94: 623-627.
- Thompson HM, Hunt LV (1999) Extrapolating from honeybees to bumblebees in pesticide risk assessment. *Ecotoxicology* 8: 147-166.
- Thompson HM, Fryday SL, Harkin S, Milner S (2014) Potential impacts of synergism in honeybees (*A. mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. *Apidologie* 45: 545-553.
- Tomizawa M, Yamamoto I (1992) Binding of nicotinoids and the related compounds to the insect nicotinic acetylcholine receptor. *Journal of Pesticide Science* 17: 231-236.
- Vaikkinen A, Schmidt HS, Kiiski I, Rämö S, Hakala K *et al.* (2015) Analysis of neonicotinoids from plant material by desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 29: 424-430.

van der Sluijs JP, Simon-Delso N, Goulson D, Maxim L, Bonmatin JM *et al.* (2013) Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 5: 293-305.

Vanbergen AJ, the Insect Pollinators Initiative (2013) Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment* 11: 251-259.

Vidau C, Diogon M, Aufauvre J, Fontbonne R, Viguès B *et al.* (2011) Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS One* 6: e21550.

Walther-Hellwig K, Frankl R (2000) Foraging habitats and foraging distances of bumblebees, *Bombus* spp. (Hym., Apidae), in an agricultural landscape. *Journal of Applied Entomology* 124: 299-306.

Whitehorn PR, O'Connor S, Wackers FL, Goulson D (2012) Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 336: 351-352.

Williams NM, Crone EE, Minckley RL, Packer L, Potts SG (2010) Ecological and life-history traits predict bee species responses to environmental disturbances. *Biological Conservation* 143: 2280-2291.

Yang EC, Chang HC, Wu WY, Chen YW (2012) Impaired olfactory associative behavior of honeybee workers due to contamination of imidacloprid in the larval stage. *PLoS One* 7: e49472.