

# Effekter av klotianidin på humlor under fältförhållanden

version 2013/05/09

## **Bakgrund**

Jordbruksverket genomförde en litteraturstudie om ekonomiska konsekvenser av och möjliga åtgärder mot koloniförluster av honungsbin (Pedersen 2009). Undersökningen kom fram till att bekämpningsmedel utgör en hälsorisk för honungsbin. Det finns få studier som undersöker effekten av neonicotinoider på andra pollinerande insekter än honungsbin under fältmässiga förhållanden. Scott-Dupree et al. (2009) betonade att bedömningar av effekterna av neonicotinoider på honungsbin inte direkt kan överföras till andra biarter. Ett tidigare labbexperiment på effekterna av klotianidin på humlor fann att realistiska nivåer i fält inte negativt påverkade hälsan hos humlekolonier eller deras arbetares beteende (Franklin et al. 2004). Whitehorn et al. (2012) visade dock nyligen att realistiska nivåer av imidakloprid kan ha negativa effekter på kolonitillväxten hos humlor och på drottningproduktion om de utvecklas naturligt under fältmässiga förhållanden. Skillnaden på dessa två studier kan tyda på att påverkan av neonicotinoider under labbförhållanden inte motsvarar effekter vid fältförhållanden. Även i studien av Whitehorn et al. (2012) så matas humlorna först i labb med neonicotinoider i två veckor innan fältstudien. Det är därför viktigt att bedöma konsekvenserna av neonicotinoider på humlor och andra bin under verkliga fältförhållanden.

## **Studie systemet**

Studiesystemet är detsamma som används för utvärdering av effekter av neonicotinoider på honungsbi. Undersökningarna utförs i 16 vårrapsfält, som kommer att blomma under 2013, i södra Sverige. Hälften av fälten (8 stycken) sås med rapsfrön betade med Elado (där klotianidin är den aktiva substansen) och resten av fälten (8 stycken) kommer att sås med frön utan någon betning. Fält matchas i par, där andra faktorer utom betningsmedel är så lika som möjligt inom paret.

Kommersiella humlesamhällen (*Bombus terrestris*), köpta från en certifierad importör, kommer att användas för att bedöma effekterna av clothianidin. Kolonier är s.k. Natupol N (<http://www.lindesro.se/nyttodjur.html>), med en drottning och cirka 50 arbetare. Om möjligt kommer kolonierna inom ett fältpar vara från samma drottning. Kolonierna är ungefär 10 veckor gamla och kommer att vara aktiva i ytterligare cirka 10 veckor, med aktiv pollinering i ca 4-8 veckor. Sex humlesamhällen ska användas vid varje fält och lämnas vid fältet i ca 6 veckor. Kolonierna placeras i två Tripol-behållare med tre kolonier i varje. Behållarna är 21 × 29 × 80 cm, höjd × bredd × längd och vi placerar behållaren i en extra trälåda (bild 1) för att skydda dem från väder och rovdjur.

Fig. 1. OVANIFRÅN

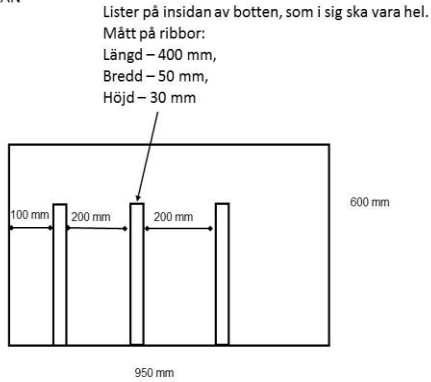


Fig. 2. KORTSIDA

Baksida, tak och botten ska vara hela de övriga tre sidorna ska vara av ribbor.

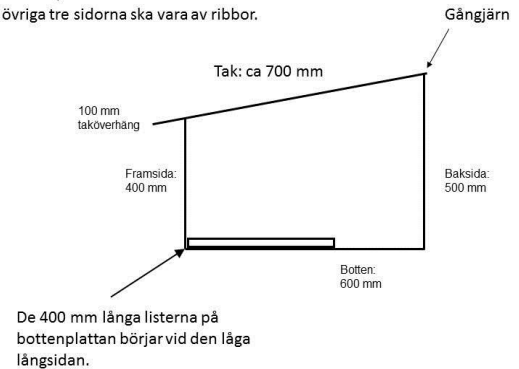


Fig. 3. LÅNGSIDA  
(Framsida, den låga sidan, 400 mm, se Fig. 2.)

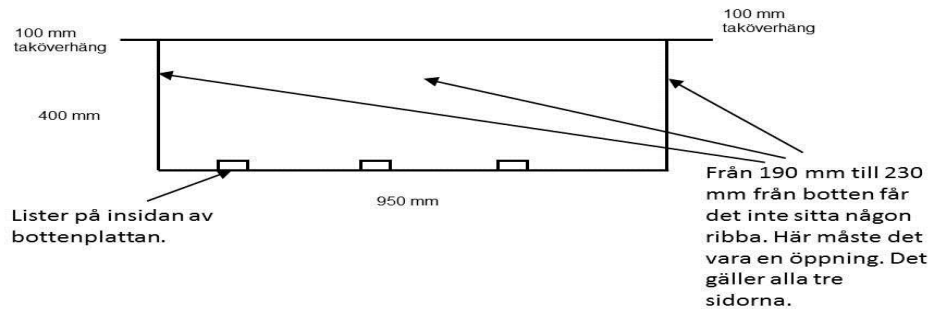


Fig. 1. Humlekolonierna placeras i en skyddande trälåda.

## Datinsamling

Kolonierna kommer att vägas och antalet arbetare räknas var 7-10 dag (se Westphal et al. 2009, Whitehorn et al. 2012). Vi mäter en första gång vid utplaceringen av kolonierna i fält i början - mitten av juni och fortsätter till 2 veckor efter att rapsen har slutat blomma (dvs. i slutet av juli). När vi väger kolonierna kommer utgången vara stängd dagen innan för att låta humlor att komma in men inte lämna kolonin. Vikten inkluderar den inre plastlådan som väger ca 300 g. Vi kommer att använda en elektronisk våg med kapacitet att mäta 3 kg och en noggrannhet på  $\pm 0,1$  gram. Alla nya drottningar och hanar som hittas vid varje besök kommer att tas bort, dödas och lagras i plaströr i frys.

När rapsen är i full blom kommer pollenprover tas från 10 återvändande humlor från två av kolonierna i de två Tripol-behållarna. En koloni från en Tripol kommer att övervakas med RFID teknik (se nedan), en koloni från den andra tripol-behållaren kommer att användas som reserv för RFID-övervakning. Pollen som samlats in av humlor kommer att användas för att bedöma hur trogna humlorna är raps och vilka alternativa blommor som de födosöker ifrån (se t.ex. Williams & Kremen

2007 Kleijn & Raemakers 2008) samt för att kontrollera att humlorna besöker experimentfälten. Ett delprov av pollenprovet kommer också att analyseras för klotianidinnehåll. Samtidigt kommer humleaktivitet att mätas i rapsfält längs transekter (se Bommarco et al. 2012). Där kommer, förutom observationer om antal och arter av humlor, vi även notera om humlor samlar pollen, nektar eller både och.

Vid slutet av rapsblomningen, i slutet av juni, kommer 10 larver och 10 nya arbetare samlas in från en av kolonierna för analyser av neonicotinoidrester och parasitära svampar, *Nosema bombi*. Vi gör detta i slutet av blomningstiden då utvecklingen från ägg till vuxen är cirka 22 dagar.

Radio Frequency Identification- teknik (RFID-teknik) kommer att användas för att övervaka arbetarnas överlevnad och födosökseffektivitet (humlor: Stelzer et al 2010, Gill et al 2012, honungsbin: Henry et al 2012, Schneider et al 2012 ). Övervakning kommer att ske vid en koloni på varje fält vid två tillfällen. Registrering kommer att ske vid det behandlade fältet och kontrollfältet under samma dag. Utrustning består av 2 dataloggrar, 4 avläsare, 2 bilbatterier, kablar och en dator. Två RFID-chipläsare kommer att monteras vid ingången av den övervakade kolonin för att kunna avläsa om humlorna går ut eller in. RFID-taggar limmas med superlim och en härdande katalysator TAB2000 (Kerr Nordic) på mellankroppen av 30 humlor per koloni dagen innan övervakningen. Vid märkningen av humlorna kommer vi mäta vikt och eventuellt även storlek (t.ex. ITD bland-tegular avstånd, indikerar rörlighet och potentiella flygning utbud av bina (Greenleaf et al. 2007)). De insamlade uppgifterna kommer att användas för att jämföra längd på och frekvens av födosöksturerna mellan behandlade fält och kontrollfält. Informationen kommer också att användas för att uppskatta dödligheten av humlorna, andelen humlor som inte återvänder över tid. Flygriktning från kolonin kommer att observeras i två timmar vid varje besök.

Samtidigt som RFID-övervakningen kommer vi placera en väderstation vid en av kolonierna i paret. Vi kommer med den mäta temperaturen i och utanför kolonin, vindhastighet och vindriktning, luftfuktighet, regn, tryck och ljusintensitet. Detta kommer att användas för att bättre förstå hur miljöfaktorer påverkar när humlor börjar födosöka på morgonen, varaktigheten av ett födosök, flygriktningar och födosöksaktivitet.

Kolonier som dör under försöket kommer att samlas in och frysas ner till -20 ° C. Alla kolonier som inte dött av sig själva vid slutet av experimentet kommer att avdödas genom nerfrysning. Ett randomiserat urval av kolonierna kommer att dissekeras för att räkna antalet nya drottningar och hanar, och möjligen också antalet avelsceller. Vi kommer också registrera snylthumlor och vaxmott. Vi kommer också väga bomaterialet för att jämföra vikten av detta med viktökning av kolonin.

## ***Insamlingen***

Tid	Uppgift
Början av blomning (andra veckan i juni)	Placering kolonier på fälten.  Första kontroll av vikt, räkna arbetare, födosöksövervakning
Tredje veckan i juni	vikt, räkna arbetare, födosöksövervakning, pollensamling, RFID-mätning

Fjärde veckan i juni	vikt, räkna arbetare, födosöksövervakning
Första veckan i juli	vikt, räkna arbetare, födosöksövervakning, RFID-mätning
Andra veckan i juli (slutet av blomning)	vikt, räkna arbetare, födosöksövervakning
Tredje veckan i juli	vikt, räkna arbetare, insamling av kolonier och infrysning
Slutet av juli-augusti	dissekering av kolonier

---

### ***Mätningar som vi kommer att göra.***

- Vikt på koloni (kolonitillväxt) vid varje besökstillfälle.
- Räkna arbetare vid varje besökstillfälle.
- Fotografera boet vid varje besökstillfälle för att uppskatta antal celler.
- Födosöksövervakning
  - beteende vid rapsblommor i fält
  - tid spenderad på varje blomma
  - flygriktning från kolonin
- RFID-undersökning
  - tidigaste och senaste födosök (morgon och kväll)
  - antalet födosöksturer per dygn
  - varaktighet av varje födosöksrunda
  - uppskattad dödlighet av humlorna
- Vikten av enskilda bin
- Storlek på enskilda bin
- Neonikotinoidrester
- Antal nya drottningar/hanar
- Antal yngelceller
- Vikt av bomaterialet
- Förekomst av snylthumlor

- Förekomst av parasiter, *Nosema bombi*,
- Förekomst av vaxmott
- Väderdata