

”Utveckling av en beredskapsstruktur mot allvarliga skadegörare på bin samt inventering av risken för förgiftning av bin med växtskyddsmedel av typen neonikotinoider under svenska förhållanden”

Genomförandeplan för fältutvärderingen

version 2013-06-12

Bakgrund

Jordbruksverket genomförde 2009 utredningen ”Massdöd av bin – samhällsekonomiska konsekvenser och möjliga åtgärder” (Pedersen 2009). Utredningen visade bland annat att pesticider utgör en risk för bishälsan. Detta har aktualiserats av nya studier (t ex Henry et al. 2012, Whitehorn et al. 2012) som visar ett möjligt samband mellan mycket låga doser av en grupp av pesticider som kallas neonikotinoider och massdöd av bin. I Sverige används neonikotinoiderna bl.a. vid odling av vårrops. Vårropsutsäde betad med neonikotinoiden klotianidin importeras från bl.a. Tyskland. Medlet är inte godkänt i Sverige men det är tillåtet att importera betat utsäde. Påverkan av dessa medel på honungsbin under fältförhållanden är dåligt kända. Den kanadensiska fältstudie som utvärderar påverkan av betning i vårrops med klotianidin på honungsbin fann inga skillnader i yngelutveckling, livslängd hos arbetare, bidödlighet, samhällets viktuppgång eller mängden producerad honung mellan samhällen i behandlade jämfört med samhällen i obehandlade fält (Cutler & Scott-Dupree 2007). Klotianidinrester hittades i både pollen och nektar från samhällena i de behandlade fälten, men i koncentrationer under ”no observable adverse effects concentration” enligt en litteraturkälla i referensen (Schmuck & Keppler 2003). Fälten i studien var dock endast 1 ha stora, vilket är 7 gånger mindre än det genomsnittliga vårropsfältet i Skåne under åren 2007-2011 (7.0 ± 7.3 ha (mean \pm SD); data from the Integrated Administration and Control System). En annan svaghet i studien är att avståndet mellan behandlat och obehandlat fält kunde vara endast 295 m (Cutler & Scott-Dupree 2007). Honungsbins födosöksområde kan vara betydligt större än det avståndet (Greenleaf et al. 2007). Klotianidinrester återfanns också i en del av de nektarprov som tagits från samhällen i obehandlade kontrollfält, vilket indikerar att bin från sådana samhällen har födosökt även i de behandlade fälten (Cutler & Scott-Dupree 2007).

Syfte

Syftet med det här projektet är att utreda påverkan på honungsbin av neonikotinoiden klotianidin under fältförhållanden i Sverige.

Studiesystem och odlare

Studiesystemet består av 16 vårropsfält i södra Sverige, som kommer att blomma under 2013. Hälften av fälten (8 fält) är sådda med vårrops betad med Elado (där klotianidin är det verksamma ämnet) och resten av fälten (8 fält) är sådda med obetat utsäde. Inget av försöksfälten får sprutas med neonikotinoider, för att renodla eventuell effekt av betningsmedlet. Fälten paras, med ett fält med neonikotinoider och ett fält utan neonikotinoider inom ett par, så att fälten och landskapen inom paret skiljer sig åt så lite som möjligt. Paret fördelar sig längs en gradient i landskapheterogenitet, från slättbygd till mellanbygd.

Lämpliga rapsodlare väljs ut av Maj Rundlöf tillsammans med Albin Gunnarson. Det är att föredra om odlarna har tidigare vana av vårropsodling och gärna under flera år, dvs helst inte odlare av vårrops

pga utvintrad höstraps. I första hand väljs fält i Skåne, i andra hand i Halland och i tredje hand i Blekinge. AG tar fram en lista på potentiellt lämpliga odlare utifrån listor på tidigare vårrapsodling och skickar ut ett brev till odlare i södra Sveriges frö och oljeväxtodlare (SSFO). MR utgått från Jordbruksverkets blockdatabas och vårrapsodling åren 2007-2011 för att hitta ytterligare potentiella odlare. MR går vidare med de potentiella odlarna och matchar par (figur 1). För att buffra för eventuella bortfall av studielokaler väljs initialt 10 par ut, där vi går vidare med de 8 mest lämpade. Exkludering av fält (och par) baserar sig på en besiktning av fälten i slutet av maj, som görs av AG och MR. Anledningar till att exkludera fält kan vara att det finns annan vårraps i närheten (inom 2 km) eller att beståndet i fokalfältet är mycket dåligt.

Paren har skapats utifrån geografiskt närhet och markanvändning i det omgivande landskapet, baserat på en rad olika markanvändningstyper. Eftersom fältstorleken för alla fält utom ett (27 ha, VR16) håller sig inom spannet 4-12 ha (medel 8,2 ha), har anses det vara en underordnad variabel i matchningen. De faktorer matchningen baseras på är istället:

De variabler som matchas på fältnivå är:

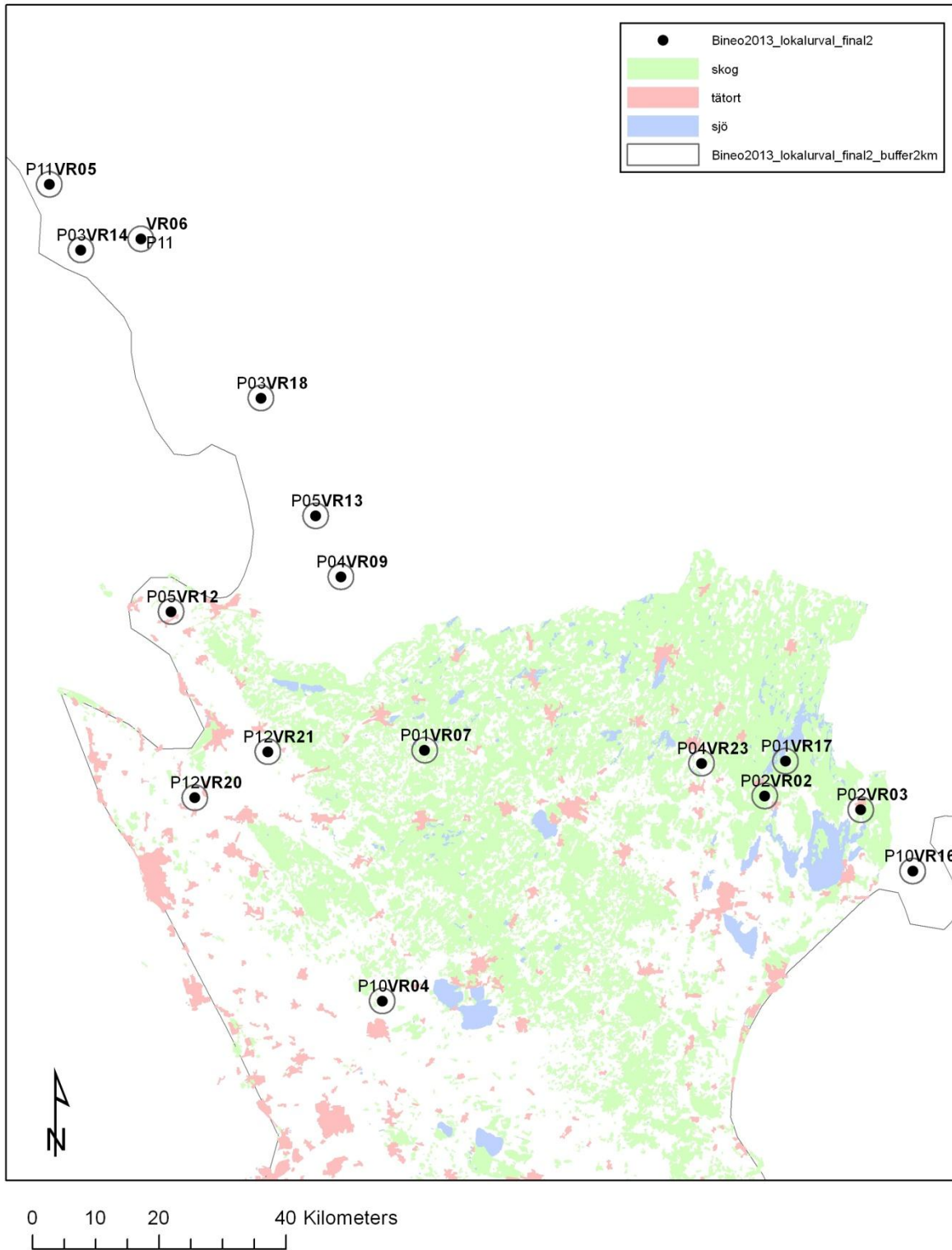
- rapssort (vilket är lätt eftersom det kommer att vara samma i alla fält)
- geografiskt avstånd (minst 4 km mellan fälten, men annars så nära som möjligt)

De variabler som matchas på landskapsnivå är:

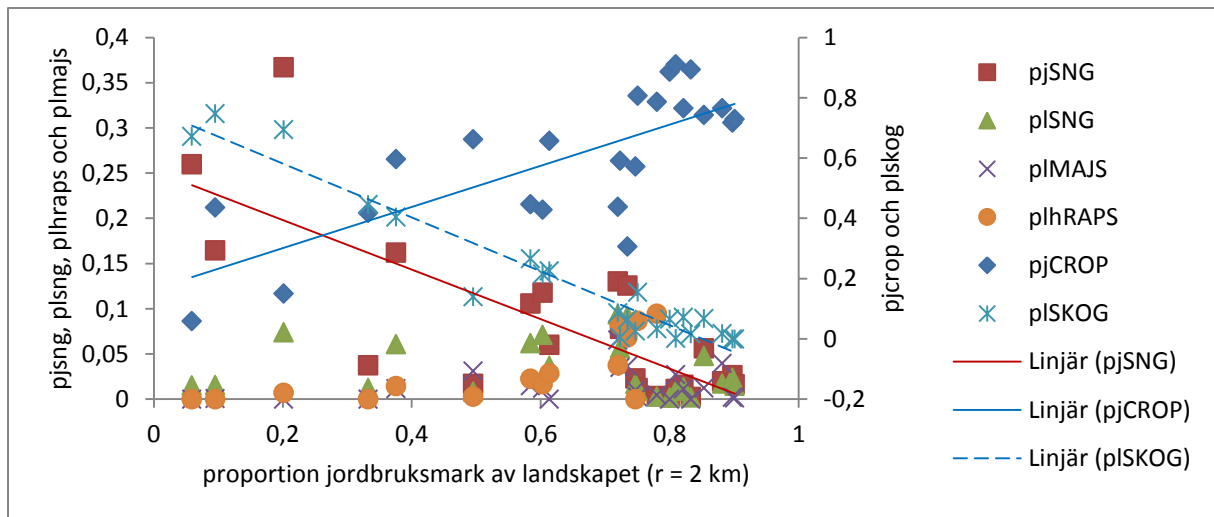
- andel av olika markanvändningstyper:
 - mängd jordbruksmark
 - andel årligen plöjd jordbruksmark
 - andel permanenta (halvnaturliga) gräsmarker
 - andel vall
- strukturmått på landskapstyp:
 - total längd kantzoner
 - andel skog
- blommande grödor:
 - andel blommande grödor
 - andel höstraps
 - andel vårraps
 - andel majs

Landskapsradie 2km har använts för den huvudsakliga matchningen, men även radierna 1 och 3 km har undersökts. Landskapen fördelar sig längs en gradient i landskapstyp (figur 2), med andel jordbruksmark i landskapet inom spannet 6-90%. De andra landskapsvariablerna samvarierar ofta med andel jordbruksmark, där andelen årligen plöjd mark är positivt relaterat och andelen permanenta gräsmarker och skog är negativt relaterade (figur 2).

BINEO lokaler 2013



Figur 1. Karta över identifierade vårrapsfält (VR02-VR23) och matchning av fälten i par (P01-P12).
Cirkclar visar landskap med radien 2 km.



Figur 2. Andel jordbruksmark i landskapen ($r = 2$ km) som omger vårrapsfälten i relation till andel permanenta gräsmarker av jordbruksmarken (pjsng) och av landskapet (plsng), andel årligen plöjd mark av jordbruksmarken (pjcrop) och andel majsodling (plmajs), höstraps (plhraps) och skog (plskog) av landskapsytan.

För att undersöka hur väl landskapsparen För fördelar sig längs med landskapstypsgradienten och variationen mellan landskapen inom ett par har de olika landskapsvariablerna plottats mot parnummer. Fälten delades sedan in i grupper, så att ena fältet inom paret ingår i den ena gruppen och det andra fältet i den andra gruppen. Uppdelningen har gjorts systematiskt genom att sortera på par och andelen jordbruksmark i det omgivande landskapet ($r = 2$ km) och fördela grupp 0 och 1 till första paret, 1 och 0 för det andra paret, 0 och 1 för det tredje paret och sedan på samma sätt för alla 10 lokalpar. Därefter har skillnaden i fältstorlek och alla landskapsmått listade i tabell 1 testats mellan grupperna. För grupp 0 blev fältstorleken över lag något större än i grupp 1 (även om $P = 0.30$), så jag kastade om grupperna mellan fälten i par 8 som innehöll ett av de minsta fälten (4 ha) och ett relativt stort fält (12 ha). Par 8 valdes även för att fälten på lokalerna VR21 och VR22 ligger relativt nära varandra (ca 5 km mellan fältens mittpunkter). Vid nya test av skillnaden i fältstorlek och alla landskapsmått listade i tabell 1 mellan grupperna visade alla $P > 0,50$. Slutligen slumpades behandlingarna ut över de två grupperna genom att singla slant.

Tabell 1. Fältstorlek på det fokala rapsfältet (size) och markanvändning i det omgivande landskapet (r = 2 km) för de två grupperna av vårrapsfält, baserad på markanvändningsdata från 2011. Size = fältstorlek (ha), pl = proportion av hela landskapsytan, pj = proportion av jordbruksmarken, JBB = jordbruksblock, CROP = årligen plöjd jordbruksmark, LEY = slåtter- och betesvall, SNG = halvnaturliga gräsmarker som hagmarker och ängar, perim = b,lockkanternas längd, vRAPS = vårraps, hRAPS = höstraps.

----- gJBB=0 -----

The MEANS Procedure

Variable	N	Mean	Median	Minimum	Maximum
Size	10	9.3000000	7.2500000	4.0000000	27.0000000
plJBB	10	0.6173058	0.6802687	0.0953124	0.9007782
plSKOG	10	0.2251142	0.1035499	0	0.7477778
pjCROP	10	0.6048285	0.6596389	0.1500055	0.8865583
pjLEY	10	0.2784035	0.2605065	0.0307001	0.4802703
pjSNG	10	0.0832235	0.0395151	0.0022436	0.3670658
plSNG	10	0.0295845	0.0172558	0.0017952	0.0739600
plMAJS	10	0.0109866	0.0057161	0	0.0394944
perim	10	145896.56	164621.03	34819.58	184962.67
plvRAPS	10	0.0086417	0	0	0.0570404
plhRAPS	10	0.0202639	0.0042418	0	0.0944593
plSTAD	10	0.0248032	0.0151694	0	0.0858440

----- gJBB=1 -----

Variable	N	Mean	Median	Minimum	Maximum
Size	10	8.5500000	10.0000000	4.0000000	12.0000000
plJBB	10	0.5998309	0.7215047	0.0590411	0.8326977
plSKOG	10	0.2105068	0.1205347	0.0052720	0.6716323
pjCROP	10	0.5784777	0.5938731	0.0591764	0.8941074
pjLEY	10	0.3262168	0.2718319	0.0603306	0.6810182
pjSNG	10	0.0819498	0.0577682	0.0023174	0.2598054
plSNG	10	0.0336836	0.0141432	0.0019297	0.0937543
plMAJS	10	0.0142556	0.0079113	0	0.0654199
perim	10	148122.82	149677.11	32040.87	256883.80
plvRAPS	10	0.0093349	0.0054245	0	0.0404339
plhRAPS	10	0.0156206	0.0037004	0	0.0817778
plSTAD	10	0.0333876	0.0313336	0	0.0895244

AG tar en första kontakt med de utvalda lantbrukarna. AG har gjort en växtskydds- och odlingsplan för de involverade lantbrukarna, som skickas ut tillsammans med utsädet. De behandlade fälten är sådda med vårraps betad med Elado (där klotianidin är det verksamma ämnet) + fungiciden TMTD och kontrollerna kommer att sås med utsäde betad med endast TMTD. Betningsdosen är 25 ml Elado per kg frö, vilket är den normala dosen (Albin Gunnarsson, muntligen). Elado innehåller 400 g/l Clothianidin + 80 g/l Beta-Cyfluthrin. TMTD (Tiram/Thiram) bekämpar utsädesburen Alternaria och jordburen smitta av Alternaria och Rhizoctonia. Utsädesburen svamp är vanligt på oljeväxter och kan orsaka ganska kraftiga etableringsproblem så består genom hela växtsäsongen (exempelvis ojämn blomning) (Albin Gunnarsson, muntligen). Rapsorten är hybriden Majong. Utsädet levereras till odlarna av Lantmännen, Svalöv med Schenker/DHL. Alla odlare ska ha fått utsädet senast 11 april. Utsädesmängden som ska sås är 150 plantor per kvadratmeter vilket är vad som rekommenderas för en vårrapshybrid. Det motsvarar 7,5 kg/ha för TMTD och 7,7 kg/ha för Elado+TMTD. Lantbrukarna uppmanas att "så i varm jord" så att inte rapsen börjar blomma för tidigt och för att uppnå någorlunda synkroniserad blomningstidpunkt mellan försöksfälten. Växtskyddsstrategi: I samtliga försöksfält är det endast tillåtet att använda någon av följande tre produkter; Avaunt, Plenum eller

Mavrik. All användning av växtskyddsmedel registreras av lantbrukaren och informationen kommer att inhämtas av AG efter odlingssäsongens slut.

De utvalda fältplatserna kontrolleras med Tatjana Blidovic på Länsstyrelsen Skåne och Kajsa Lycke på Länsstyrelsen Västra Götaland/Halland för flyttförbud av bisamhällen pga amerikansk yngelröta. Detta görs av MR innan utplacering vid fälten.

Underökningen kan komma att i någon form upprepas 2014. Metoderna modifieras eventuellt utifrån erfarenheterna från 2013.

Produktion, uppställning och skötsel av bisamhällen

Vid varje fält ska det placeras 6 bisamhällen, vilket betyder att totalt 96 bisamhällen placeras ut varje år. Ytterligare 16 bisamhällen (ett per fält) tas fram för oförutsedda händelser. För att bisamhällena ska bli så lika varandra i styrka som möjligt produceras alla avläggarna av samma biodlare och av 1- eller 2-åriga drottningar, med systerdrottningar av samma ålder inom lokalparen. Avläggarna produceras under våren 2013 och bisamhällena ska vara redo för utplacering just innan vårrapsen börjar blomma (vilket brukar vara under första veckan i juni i Skåne och 55 dagar efter sådd). Samhällena placeras så att de står i lä och med tillräckligt med mat för att undvika svält.

Bengt Andréasson har tagit på sig uppdraget att producera avläggarna (1000 kr/avläggare + drottning). Avläggarna görs ca 2 veckor före vårrapsen börjar blomma, dvs i mitten av maj. De planerade avläggarna bör ge en normal balans mellan yngel och vuxna bin vid försökets start. Avläggarna etableras med 2 foderramar, 2 yngelramar (med i huvudsak täckt yngel), drottning (från det samhälle avläggaren tas), bin från 2 ramar (som skakas ner i avläggaren), 1 utbyggd ram samt 5 ramar med mellanväggar. Ramstorlek är hel Langstroth, med en yta på 880 cm² per ramsida och uppskattningsvis 1,25 bi per cm² när en ramsida är fullbesatt (totalt 1100 bin per full sida) (Imdorf & Gerig 2001). De 2 foderramarna placeras i ena sidan, därefter 1 utbyggd ram, de två yngelramarna och de 5 ramarna med mellanväggar. Vi varje besök inspekterar fältassistenten att drottningen har möjlighet att fortsätta lägga ägg och att det finns tomma ramar kvar.

Avläggarna ska vara tillräckligt starka för att överleva den kommande vinter, men växer inte ur sin låda. En plan förbereds tillsammans med BA för hur samhällena hanteras som mot förmodan växer ur sin låda. Fältassistenten rapporterar vid registreringarna om något samhälle ser ut att riskera växa ur lådan. Om risken finns tas fulla foderramar bort och ersätts av tomma. Både de tomma och fulla ramarna vägs och vikterna noteras tillsammans med kupnummer och datum.

Modersamhällena ställs i ett höstrapsfält under våren 2013. De skapade avläggarna ställs vid samma fält och modersamhällena flyttas iväg vid avläggarbildningen. Avläggarna skapades 27-31 maj 2013. Vid etableringen, i mitten av maj, är höstrapsen i slutet av sin blomning i Skåne vilket ger en bra start för den lilla avläggaren. Avläggarna står ca 2 veckor vid höstrapsen. BA har identifierat potentiellt lämpliga uppställningsplatser vid ekologiska höstrapsfält, för att i så hög grad som möjligt undvika att avläggarna födosöker från neonicotinoidbehandlad raps. Modersamhällena, och senare avläggarna, placerades i ekologiskt odlad höstraps på Bolleröds gård i Löberöd. Samhällena står dels i norra delen av fältet, dels ca 150 m in i fältet från den norra kanten där rapsen utvintrat. Det ekologiska höstrapsfältet finns mellan bisamhällena och omgivande, konventionellt odlade, höstrapsfält vilket ger bästa möjliga förutsättningarna för att undvika påverkan av neonicotinoider i det här skedet.

Drottningarna i avläggarna är friparade och kommer från 3 olika mödrar och består av 4 olika grupper (det finns två åldersgrupper från en moder), se tabell 2.

Tabell 2. Härstamning och ålder på bidrottningarna i avläggarna.

moder (kläckt år)	BAN-09-023(-12)	BAN-09-932(-12)	BAN-09-932(-11)	BAN-09-006(-11)
antal försöksbigårdar	8	4	2	2
antal försökssamhällen	48	24	12	12
reservsamhällen	8	4	2	2

Varje bisamhälles kupa märks med ett individuellt ID-nummer, och detta nummer används vid all datainsamling. Märkningen sker med permanent markeringspenna och baserar sig på löpnummer 001-116. Detta görs av TC i samband med en första bedömning av bistryka innan vårrapsen börjar blomma och när avläggarna fortfarande står kvar vid höstrapsfältet. Eventuella obalanser i bistryka korrigeras innan utsättning vid vårrapsfälten. Utjämning gjordes av Bengt den 4 juni och baserades på antal ramar besatta med bin. Innan utplacering vid fälten togs en av foderramarna bort. Om drottningen börjat lägga ägg i foderramarna togs den ram med minst utvecklade yngel bort och en notering gjordes i anteckningsboken.

Vilka avläggare som ställs vid vilket vårrapsfält beslutas av MR och ska resultera i en så jämn fördelning av härstamningen över alla fält med en perfekt jämförbar härstamning mellan fält inom ett par. Efter den första bistrykebedömningen sorterades för starka (4 st) eller för svaga (3 st) samhällen bort, samt samhällen med riktig förekomst av säckyngel (1 st). De resterande avläggarna slumpades ihop till kuppar inom drottninggrupp. Kupparen fördelades över fältparen för att uppnå jämt fördelad härstamning över fältparen.

Uppställningsplatsen för kuporna vid vårrapsfälten bestäms av MR i samråd med markägaren, och godkänns av BA. Platsen bör ligga i lä och vara lättillgänglig för bil med släp. Samtliga uppställningsplatser identifierades av Albin och Maj vid inspektion av vårrapsfälten 27-28/5. Kuporna placeras 2 st per pall med ganska kort avstånd mellan pallarna. Pallarna ställs så att bina får något olika flygriktning. Bengt kommer att kunna ta med sig max 24 samhällen per tur och dag och kommer att utföra transporten på morgonen.

Skulle samhällena svälta rapporteras detta av fältassistenten och då matas samtliga 12 samhällen inom fältparet. Samhällena står kvar vid försöksfälten fram tills invintringen i första veckan av augusti. Eftersom samhällena står kvar vid fälten är det viktigt att kontrollera för senare dragväxter (inklusive majs) i det omgivande landskapet och ser till att det inte finns betydande skillnader i mängden dragväxter inom paren. Uppstår ändå problem med obalans i mängden sena dragväxter inom paret flyttas bisamhällena från dessa fält till invintringsplatsen. Vid två fält (VR06 och VR21) förekommer det annan vårraps på ca 1 km avstånd från binas uppställningsplats. Dessa samhällen och tillhörande parkamrats samhällen flyttas till övervintringsplatsen så snart vårrapsen i vårt fokalfält har blommat över.

BA och Preben Kristiansen har kommit överens om en lämplig strategi för att kontrollera skadegörare och för invintring av samhällena. Eftersom det finns problem med resistens mot Apistan och därför

kan samhällen från olika ställen svara väldigt olika på en sådan behandling, så används alternativa bekämpningsstrategier. Ingen behandling utförs på våren, då samhällena förväntas vara så små att varroakvalstren inte kan tillväxa så snabbt att de gör skada. Vid invintringen gör Bengt en behandling mot varroakvalster med wettex-metoden och myrsyra (<http://www.biodlarna.se/website1/1.0.1.0/1007/1/>). Vid behov görs sedan ytterligare en behandling med oxalsyra i november, när samhällena är yngelfria.

Bisamhällena övervintras av BA i samma bigård (RT90-koordinater: 6181553, 1357267). Invintringstidpunkten ska vara den normala för Skåne. Invintringen startar i början av augusti. Samhällena drivfodras med 20 kg torrt socker i 55-60% lösning i lådor ovanpå kuporna. Fodergivan fördelas på 3 tillfällen med 8-10 dagars mellanrum. Utfodringen är klar runt mitten av september.

I mars 2014 går BA igenom samhällena efter vintern, ser om det finns foder kvar och städar kuporna. Han noterar då om han gör några åtgärder (t ex tillsätter en extra foderram för att förhindra svält), tillsammans med kupnummer. I slutet på april 2014, när BA sätter på skattlådorna, följer TC med och bedömer bisamhällenas styrka.

BA håller med allt material som normalt ingår i en bikupa (frigolitkuper med ramar av storleken hel Langstroth, pollenfällor ingår ej) samt pallar för uppställning, transporterar samhällena till och från försöksfälten under förutsättning att fälten ligger i Skåne, samt övervintrar samhällena. Efter försöket återgår samhällena och material till BA. BA har ansvaret för att anmäla uppställningsplatserna av bisamhällena till länsstyrelsen enligt gällande regelverk, efter att han fått information om uppställningsplatsernas fastighetsbeteckning, församling kommun, fastighetsägaren namn och adress, samt geografiska koordinater.

Registrering av bisamhällenas utveckling

Bisamhällena kommer att vara små och inte innehålla många bin när vårrapsen blommar, vilket kommer att vara en fördel i samband med registreringarna och för att mäta samhällstillväxten.

Antalet bin och yngel (arbetare och drönare separat) i bisamhällena bedöms med "Liebefeld-metoden" (Imdorf et al. 1987), av en observatör och en notarie, mellan kl 10 och 17-18 under dagar med tillfredsställande väder med avseende på temperatur, vind och sol (Delaplane et al. 2013). Samtidigt gör noteringar om kalkyngel och säckyngel (på en skala 1-3, där 1 = enstaka, 2 = relativt frekvent och 3 = rikligt förekommande), samt ev drottningbyte. Väderdata (temperatur, vindstyrka enligt Beaufortskalan och % sol under observationstiden) noteras vid varje registrering. Målsättningen är att bisamhällena vid fält inom ett par ska registreras under samma för- eller eftermiddag, dvs det ska vara så litet tidsmässigt avstånd som möjligt mellan registreringarna vid fälten inom ett par. En lokal besöks alltid på ungefär samma tidpunkt på dagen. MR lägger upp en observationsordning för lokalerna, som följer rapsens fenologi och växlar mellan de två behandlingarna. Ett protokoll, baserat på det som finns längst bak i Imdorf & Gerig (2001), har tagits fram.

Honungsproduktionen mäts genom att väga samhällena just innan utsättning vid vårrapsfälten och igen innan invintring. Vågen som används vid utsättning är en METTLER TOLEDO Bänkvåg som kan väga upp till 30 kg med 0,1 g noggrannhet. Vågen som används innan invintring (METTLER TOLEDO

Bänkvåg ICS425d-35LA/f) är driven av ett uppladdningsbart batteri (13 timmars kontinuerlig drift) och kan väga upp till 32 kg med 1 g noggrannhet.

En utbildad fältassistent med bivana genomför registreringarna i undersökningen, tillsammans med ytterligare en person. Tomas Carling har accepterat uppdraget som fältassistent. Albin Andersson, som är utbildad biologi vid Lunds universitet, kommer att assistera Tomas. TC är biodlare och arbetar som bitillsyningsman för Länsstyrelsen. Utbildning görs i Liebefeld-metoden och dissekering av honungsblåsan. Utbildningen görs av Ingemar Fries, vid två tillfällen:

1. I Uppsala i mitten-slutet av maj 2013. Ingemar och Tomas har preliminärboktat 21 maj.
2. I Skåne vid första registreringen av bisamhällsstyrka innan rapsen börjar blomma, dvs i månadsskiftet maj-juni 2013. Datum bestäms när vi närmar oss och vet ungefärlig uppskattad blomstart. Ingemar har meddelat att han kan vara flexibel i skiftet maj-juni.

I samband med vårundersökningen i slutet av april 2014 registreras övervintringsresultat och uppskattning av samhällsstyrka (med Liebefeld-metoden) görs i samtliga samhällen.

Provtagning och analys

Tre samhällen vid varje fält förses med pollenfälla. Pollenfällorna monteras på kuporna i samband med andra bistyrkebedömningen (den första under vårrapsens blomning) av fällorna och lämnas i öppet läge. Fällorna fästs på kupans fluster med spikar och silvertejp. Fällorna aktiveras (genom att öppnas och fästas med silvertejp) på morgonen vid den tredje registreringen av bistyrka (dvs den andra under rapsens blomningstid). På kvällen samma dag samlas ett sammelprov från de tre fällorna in. Pollenproverna förvaras i 50 ml Falconrör i frysen. Pollen från fällorna kan användas framförallt för att verifiera att bina födosöker i vårrapsen, men även för att undersöka vilka andra växter bina drar på. Lunds universitet tar på sig uppdraget att analysera pollenproverna.

För analys av neonicotinoider tas samlingsprov, med ett prov per försökslokal. Prov tas från varje försöksfält på:

- 50 flygbin på flustret i samtliga samhällen. Eftersom flustret täpps till blir det bin som återvänder till kupan. Ev pollenklumpar pillas av från bina.
- Pollen från 5 bin som flyger i försöksfältet. Bina fångas med håv, förs över till en cylinder med nät i ena änden och pollenklumparna pillas av.
- Honungsblåsan från 5 bin som flyger i försöksfältet för att undersöka nektarn. Honungsblåsan dissekeras ut med hjälp av fjädrande pincett och liten sax. Resten av bikropparna sparas i ett separat provrör.
- (Samt eventuellt honung för framtida analys.)

Totalt samlas alltså $3 \cdot 16 = 48$ samlingsprover in för vidare analys av neonicotinoidrester (klotianidin, acetamiprid, imidaklopid, tiaklopid och tiametoxam). Proverna förvaras i plaströr. Flygbin i 50 ml Falconrör. Pollen, honungsblåsor och resten av bikropparna i separata, förvägda och uppmärkta provrör (4.5 ml polypropenrör från Nunc) som skickas ner av Ove Jonsson. Proverna förvaras i fält i kylväskor med kylelement och sedan i frys (-20°C) innan de skickas till Uppsala. Prov på betat och obetat utsäde kommer att analyseras för att verifiera klotianidinnehållet. Provet tas av Anders Ericsson på Hushållningssällskapet i Västerås och skickas vidare för analys. Pesticidanalyserna kommer göras av Jenny Kreuger och Ove Jonsson på Mark Vatten Miljöcentrum, SLU Uppsala.

Analyserna kommer att kosta 2800 kr/prov. När prov skickas meddelas labbet på den labbgemensamma telefonen (018-67 30 34) och per sms till Ove (073-529 55 60). Proverna packas i frigolitlådor eller lådor med tidningspapper och fryselement och skickas med Posten som Företagspaket. Leveransadressen är:

Inst. för vatten och miljö, OMK-labbet
SLU
Gerda Nilssons väg 5
756 51 Uppsala

Utifrån den sparsamma litteratur som finns så ligger LD50 för honungsbin och klotianidin på 0,01-0,001 µg/bi (dvs ca 0,1 µg/g) (REFs). Kvantifieringsgränsen (LOQ) för klotianidin i bin ligger under den nivån, med ett LOQ på ca 1 ng/g (dvs 0,001 µg/g). Detektionsgränsen (LOD) ligger normalt ca 2-5 ggr lägre än LOQ vilket gör att man skulle kunna se spårvärden lägre än 1 ng/g om det skulle behövas (men med en osäkrare halt). Vilken nivå LOQ ligger på i pollen är inte helt klart ännu, men resultaten av utprovningarna verkar lovande och därmed kan man få ett LOQ även för pollen som ligger ng/g-nivå. Provstorlek: Metoden för bin är baserad på 4 bin (0,43 g) och för pollen på 0,25 g pollen per prov.

Vid utsättning och innan invintring tas 100 flygbin från varje samhälle, för vidare undersökning av sjukdomar och parasiter (Nosema, varroakvalster, yngelsjukdomar (ffa kalkyngel)). Totalt tas $2 \cdot 96 = 192$ prov, ett prov per samhälle och provtagningstidpunkt, in för analys av Nosema och varroakvalster. För analys av virusjukdomar tas samlingsprov, med ett prov per försökslokal och provtagningstidpunkt, **alltså $2 \cdot 16 = 32$ prov.** Samtliga prover läggs i pappersförpackning och förvaras fryst. SLU kommer att beställa lämpliga förpackningar efter råd av Preben Kristiansen. Tomas har förpackningarna. Ingemar Fries kommer att göra analyserna.

I samband med registreringarna noterar fältassistenten om det finns andra blommande dragväxter (t ex vårraps/rybs, klöverfröodling, åkerböna, majs) i närheten av försöksfältet. Finns senare blommande dragväxter i omedelbar närhet till försöksfälten efter att vårrapsen blommat över flyttas bisamhällena tidigare till övervintringsplatsen.

Registrerings- och provtagningstidpunkter:

1. 1 registrering innan rapsen börjar blomma (början av juni) + vägning + prov på 100 flygbin. Tidsåtgång: ca **2 arbetsdagar**, eftersom ingen restid finns.
2. 3 registreringar under vårrapsens blomningstid (juni-juli), med 7-10 dagars mellanrum, vid den andra registreringen tas prov på flygbin, pollen och honungsblåsor från bin. Tidsåtgång: första och tredje registreringarna beräknas ta 4 + 4 arbetsdagar fördelade över 1 vecka vardera och andra registreringen beräknas ta 8 arbetsdagar fördelat över 2 veckor, dvs totalt **16 arbetsdagar** fördelade över 4-5 veckor.
3. 1 registrering efter att vårrapsen blommat över, men innan invintringen (mitten-slutet av juli). Registrering av fält med sena dragväxter och majs i närheten av försöksfältet. Tidsåtgång: **4 arbetsdagar** fördelade över 1 vecka.
4. 1 registrering i samband med invintringen på invintringsplatsen (första veckan i augusti) + vägning + prov på 100 flygbin. Tidsåtgång: ca **2 arbetsdagar**, eftersom ingen restid finns.

5. 1 registrering i slutet på april efterföljande år för att mäta vinteröverlevnad. Tidsåtgång: ca **2 arbetsdagar**, eftersom ingen restid finns.

Beräkning av tidsåtgång:

En registreringsomgång med Liebefeld-metoden i de 6 samhällen som står vid ett fält beräknas för en person ta ca 1 timme (10 min för registrering och noteringar/samhälle). Restiden till ett lokalpar uppskattas till i genomsnitt ca 1 timme enkel resa. Det betyder att under en dag kan 2 lokalpar besökas om endast registrering med Liebefeld-metoden ska göras. Vid vägning, prov på flygbin, pollen och honungsblåsor/nektar beräknas en dag per lokalpar. Ska registrering och provtagning göras i någorlunda väder beräknas hälften av dagarna vara lämpliga.

Material

- våg (METTLER TOLEDO Bänkvåg ICS425d-35LA/f) med uppladdningsbart batteri (13 timmars kontinuerlig drift)
- pollenfällor, 50 st
- fjädrande pincett
- liten sax
- 40 falconrör
- 48 märkta 4.5 ml polypropenrör från Nunc
- 50 plastpåsar
- permanent markeringspenna
- frystejp
- skrivplatta, penna och fältprotokoll
- rökpust, bränsle och vatten
- 200 kartonger, små kartonger, pizzakartonger
- kylväska och kylelement
- skyddskläder Sheriff heldräkt och läderhandskar, 2 uppsättningar

Databearbetning

...

Tidsplan

<i>Tidpunkt</i>	<i>Uppgift</i>	<i>Ansvarig(a)</i>
okt 2012	urval av lantbrukare och matchning av par	MR
nov 2012	kontakt med utvalda odlare (fråga om planerad areal vårraps, fröodling (ffa klöverfrö), lämplig uppställningsplats för bisamhällen)	AG
dec 2012?	beställning av obetat och betat utsäde	AG
april 2013	sådd av vårrapsen	odlarna + AG
22 maj 2013	utbildningstillfälle 1 för fältassistent (i Uppsala)	IF + TC
slutet av maj 2013	produktion av avläggare	BA
6-7 juni 2013	utbildningstillfälle 2 för fältassistent (i Skåne) + första registrering innan vårrapsen börjar blomma	IF + TC
början av juni 2013	utplacering av bisamhällen vid vårrapsfälten	BA
juni-juli 2013	3 registreringar under rapsens blomningstid	TC
juli 2013	1 registrering efter rapsen blommat över	TC
första veckan i augusti 2013	flytt av bisamhällen till övervintringsplats	BA
första veckan i augusti 2013	1 registrering i samband med invintring av samhällena	TC
slutet på april 2014	1 registrering av vinteröverlevnad och samhällsstyrka	TC

Involverade personer och kontaktuppgifter:

Albin Andersson (AA), biolog, 070-888 36 44, albinivik@hotmail.com

Bengt Andreasson (BA), biodlare i Skåne, 0706-67 73 97, bengt.andreasson@veberod.com

Tomas Carling (TC), biodlare och bitillsyningsman, 070-730 65 11, tomas.carling@hotmail.com

Ingemar Fries (IF), SLU Uppsala, 018-67 20 73, ingemar.fries@slu.se

Albin Gunnarson (AG), Svensk Raps AB, 070-568 60 27, albin@svenskraps.se

Preben Kristiansen (PK), bihälsokonsulent, 070-8901732, preben.kristiansen@biodlarna.se

Maj Rundlöf (MR), Lunds universitet, 070-92 98 524, maj.rundlof@biol.lu.se

Referenser

Cutler, G.C. & Scott-Dupree, C.D. (2007) Exposure to clothianidin seed-treated canola has no long-term impact on honey bees. *Journal of Economic Entomology* 100: 765-772.

Delaplane, K.S., van der Steen, J. & Guzman-Novoa, E. (2013) Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research* 52: <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.03>

Gill, R.J., Ramos-Rodriguez, O. & Raine, N.E. (2012) Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature* 491: 105-109.

Greenleaf, S.S., Williams, N.M., Winfree, R. & Kremen, C. (2007) Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* 153: 589-596.

Henry, M., Beguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J.-F., Aupinel, P., Aptel, J., Tchamitchian, S. & Decourtye, A. (2012) A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336: 348-350.

Imdorf, A., Bühlmann, G., Gerig, L., Kilchenmann, V. & Wille, H. (1987) Überprüfung der Schätzmethode zur Ermittlung der Brutfläche und der Anzahl Arbeiterinnen in freifliegenden Bienenvölkern, *Apidologie* 18: 137-146.

Imdorf, A. & Gerig, L. (2001) Course in determination of colony strength. Swiss Federal Dairy Research Institute, Liebefeld CH-3003 Bern Switzerland.

Pedersen, T.R. (ed) (2009) Massdöd av bin – samhällsekonomiska konsekvenser och möjliga åtgärder. Swedish Board of Agriculture, Jönköping.

Schmuck, R., and J. Keppler. 2003. Clothianidin: ecotoxicological profile and risk assessment. *Pflanzenschutz.-Nachr. Bayer* 56: 26-58.

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