

Biologiska hot mot humlor



- Odlade införda humlor ökar inte spridningen av vanliga patogener och parasiter och påverkar inte vilda humlor negativt genom konkurrens.
- Även mycket låga förekomster av nya patogener eller parasiter från införda odlade humlor kan dock utgöra en risk för smittspridning.
- Det finns idag inget ekonomiskt realistiskt alternativ till odlade humlor för pollinering i växthus- och tunnelodling. Däremot finns det kompletterande åtgärder och i vissa fall till och med realistiska alternativ när det gäller pollinering av frukt- och bär på friland och av grödor som pollineras bäst av andra insekter, såsom långtungade humlor.

Biologiska hot mot humlor är ett hot mot både livsmedelsförsörjningen och den biologiska mångfalden i Sverige.

Införda odlade samhällen av mörka jordhumlor har stor ekonomisk betydelse för pollineringen av bland annat tomater, frukt och bär. Det finns dock en risk att odlade införda humlor för med sig nya patogener och parasiter och att de konkurrerar med svenska vilda humlor.

Vi har genomfört en omfattande studie av dessa hot och redovisar resultaten i rapporten. Vi har också i projektet skapat förutsättningar för att på sikt kunna avgöra om de införda humlorna har blandat sig med svenska vilda humlor och skapat hybrider.

Denna rapport är del 2 i en rapportserie. Del 1 handlar om biologiska hot mot honungsbin.

Thorsten Rahbek Pedersen, Jordbruksverket (redaktör)
Huvudförfattare (alfabetisk och organisation):
Eva Forsgren, SLU
Jenny Henriksson, Jordbruksverket
Lina Herbertsson, LU
Ingrid Karlsson, Jordbruksverket
Joachim R. de Miranda, SLU
Ullrika Sahlin, LU
Henrik G. Smith, LU

Medförfattare till enskilda avsnitt (alfabetisk och organisation):
Malin Aiéro, Jordbruksverket ([avsnitt 7.1](#))
Sofia Blomqvist, LU ([avsnitt 5.3](#))
Rachael Dudaniec, LU ([avsnitt 7.2](#))
Fredrik Granberg, SLU ([avsnitt 4.3](#), 4.4, 4.5)
Cecilia Hjort, LU ([avsnitt 7.2](#))
Sandra Lindström, Hushållningssällskapet Skåne ([avsnitt 8.3](#))
Ola Olsson, LU ([avsnitt 8.3](#))
Peter Olsson, LU ([avsnitt 7.2](#))
Maj Rundlöf, LU ([avsnitt 8.3](#))
Christina Winter, hortonom, egen företagare ([avsnitt 2.2](#))
Johanna Yourstone, LU ([avsnitt 8.3](#))

Citering: Pedersen TR, Forsgren E, Henriksson J, Herbertsson L, Karlsson I, de Miranda JR, Sahlin U, Smith HG, Aiéro M, Blomqvist S, Dudaniec R, Granberg F, Hjort C, Lindström S, Olsson O, Olsson P, Rundlöf M, Winter C, Yourstone J (2020) Biologiska hot mot humlor. Rapport 2020:14, pp 1–140. Jordbruksverket, Sverige

Foto framsidan: En arbetare av mörk jordhumla vaktar ingången till boet och släpper bara in de humlor som hör hemma i det. Foto: Christina Winter

Sammanfattning

Det finns idag ett stort behov av humlor för pollinering i tomatodling och odling av frukt och bär i tunnlar och på friland. Kommersiellt odlade humlor har stor ekonomisk betydelse och Sverige inför idag mer än 4 500 humlesamhällen varje år. Alla införda humlor är i dagsläget mörka jordhumlor (*Bombus terrestris*). Den övervägande majoriteten av dessa humlesamhällen används i tomatodlingar i växthus. Det finns idag inga ekonomiskt realistiska alternativ till användningen av odlade humlor för pollinering i växthus- och tunnelodling medan vilda pollinerare kan fungera som alternativ eller komplement till odlade humlor i frilandsodlingar av frukt och bär och jordbruksgrödor som pollineras bäst av andra insekter, såsom långtungade humlor. Dit hör exempelvis åkerböna och rödklöverfrö.

När odlade humlor kommer ut i den svenska naturen så finns det en risk att de för med sig nya hittills okända patogener och parasiter som kan angripa svenska vilda humlor. Hur stor risken för detta är beror främst på vilka hälsoåtgärder som uppfödningens anläggningar använder mot patogener och parasiter. Detta är viktigare än anläggningens geografiska placering. Risken varierar också inom Sverige i relation till hur många humlesamhällen som förs in. I vår undersökning letade vi efter alla kända patogener och parasiter på humlor som finns hos både odlade och vilda humlor. Vi har även utfört en öppen screening för att identifiera organismer som inte är kända patogener eller parasiter idag.

Vår undersökning visar att odlade humlor generellt har lägre nivåer av kända patogener och parasiter än vilda svenska humlor. Nivåerna skiljer sig dock mellan de leverantörer som i dagsläget exporterar humlesamhällen till Sverige, och mellan individuella humlesamhällen. Denna variation och sannolikheten för att det dyker upp nya leverantörer, gör att vi bedömer att Sveriges lantbruksuniversitets (SLU) nationella referenslaboratorium för bihälsa bör få medel till en löpande övervakning av sjukdomar och skadegörare i införda humlesamhällen och vilda humlor.

Vi har utifrån vår undersökning inte sett att införda humlor leder till ökad förekomst av patogener eller parasiter hos vilda svenska humlor i närområdet. Vi bedömer dock att även mycket låga nivåer av nya patogener och parasiter i införda humlor kan utgöra en risk. Införda humlor som kommer i kontakt med vilda pollinatörer kan också medföra en ökad spridning av patogener och parasiter och därmed också en högre förekomst av redan existerande patogener och parasiter. Detta gäller speciellt i områden eller tidpunkter under säsongen där det finns få blomresurser i förhållande till antalet pollinatörer. Med minskande blomresurser minskar mängden vilda bin samtidigt som möten mellan bin ökar på kvarstående blomresurser och därmed risk för smittspridning.

Vår undersökning kunde inte påvisa att odlade införda humlor tränger undan vilda svenska humlor från det kringliggande landskapet vid nuvarande nivå på användning.

Införda mörka jordhumlor verkar ha ett annat utseende än vilda svenska mörka jordhumlor, men det är möjligt att den stora variationen i vilda populationer överlappar med de införda humlornas utseende.

Odlade mörka jordhumlor som förs in kan sprida gener i den svenska populationen om de parar sig framgångsrikt med dessa. En stor genetisk undersökning pågår och kommer

att klarlägga om införda mörka jordhumlor får avkomma med inhemska artfränder. Resultatet av undersökningen väntas publiceras under 2020.

Utifrån fältstudie och riskanalys har projektgruppens medlemmar från Jordbruksverket, SLU och Lunds universitet (LU) ett antal rekommendationer.

- Alla patogener och parasiter som detekterades i införda humlor finns redan hos svenska vilda humlor, och på minst samma nivåer. Det finns därför i dagsläget ingen anledning till att specifikt övervaka någon av dessa kända patogener eller parasiter. Däremot fanns det spår av hittills okända virusarter i införda humlor som inte detekterades i det begränsade antal svenska vilda humlor som undersöktes. Förutom för ett densovirus, finns det ingen kunskap alls om huruvida dessa virus tillhör humlorna, deras mat eller deras parasiter.
- Genom att övervaka den generella hälsonivån hos odlade humlesamhällen och vilda svenska populationer av humlor kan man erhålla värdefull information som kan ge Jordbruksverket och andra myndigheter ett beslutsunderlag för tidiga åtgärder om en ny parasit eller patogen upptäcks. Slumpmässiga inköp av införda humlesamhällen vid flera tidpunkter om året är mer effektivt jämfört med köp av flera humlesamhällen vid ett tillfälle för att fånga variabilitet i förekomst eller intensitet över tid.
- För att på en rimlig nivå detektera förändringar bör övervakningen av odlade och vilda humlor genomföras minst en gång vart femte år. Om 100 samlingsprov (25 odlade samhällen och 75 svenska vilda humlor) analyseras blir kostnaden cirka 1 000 000 per tillfälle. Patogenerna (både kända och okända) analyseras i första hand med sekvenseringsteknik och bioinformatik. Analyserna kan genomföras av SLUs nationella referenslaboratorium för bihälsa.
- För att vilda pollinerare ska fungera som alternativ till odlade humlor i frilandsodlingar av frukt och bär krävs utveckling och vetenskaplig utvärdering av hur åtgärder som gynnar vilda pollinerare påverkar pollinering av grödor. En lovande sådan åtgärd är att lägga ut halmbalar i och kring odlingen. I grödor som pollineras bäst av långtungade humlor, såsom rödklöverfrö, är pollinering med hjälp av vilda pollinatörer redan idag ett realistiskt alternativ till användning av odlade humlor.
- Det finns ingen anledning för privatpersoner att köpa odlade humlor. Genom ökad kunskap kan man istället skapa incitament för att genomföra åtgärder som gynnar vilda humlor och bin. Jordbruksverket skulle kunna genomföra en riktad informationsinsats om detta på till exempel trädgårdsmässor.

Summary

Commercially cultivated, introduced bumblebees are currently of great economic importance for the cultivation of tomato, fruits and berries in greenhouses, tunnels and outdoors.

More than 4,500 bumblebee colonies are introduced annually to Sweden. Currently only the buff-tailed bumblebees (*Bombus terrestris*) are introduced. The vast majority of these bumblebee colonies are used to pollinate tomatoes in greenhouses, but they are also used for fruit and berry cultivation in tunnels and open fields. There are no economically realistic alternatives to the use of cultivated bumblebees for greenhouse and tunnel cultivation while wild pollinators only make up supplementary alternatives for fruit and berry cultivation in open fields and in crops that are best pollinated by other insects such as long-tongued bumblebees. Examples of such crops are field beans and red clover.

As long as introduced bumblebee colonies are used in Sweden, there is a risk that they could carry new pathogens and parasites that can subsequently spread to wild Swedish bumblebees. This risk is mainly determined by the bumblebee producers' internal control measures against known and novel pathogens and parasites, rather than the geographic location of the bumblebee producing facilities. The risk varies in relation to how many bumblebee colonies are introduced, and where in Sweden they are introduced. In both imported and wild bumblebees, we screened for pathogens and parasites known to infect bumblebees elsewhere, and conducted an 'open' screening, to identify novel possible pathogens and parasites, that have previously not been before.

Our surveys show that cultivated bumblebees generally have lower levels of known pathogens and parasites than wild Swedish bumblebees. However, for the colonies screened there were a clear difference between the two suppliers that currently produce bumblebee colonies for the Swedish market and differences between individual bumblebee colonies. This variation and the likelihood of new bumblebee suppliers emerging means that we conclude that bumblebee health should be monitored regularly by screening for diseases and pests in both cultivated bumblebee colonies and wild bumblebees. The Swedish University of Agricultural Sciences should perform the screening as they are appointed as the National Reference Laboratory for Bee Health.

From our studies, we have not been able to establish that introduced cultivated bumblebees have a negative impact on the prevalence and distribution of pathogens in local wild Swedish bumblebees. However, we conclude that even very low levels of exotic pathogens and parasites in introduced bumblebee colonies can pose a risk. Introduced bumblebees that come in contact with wild Swedish bumblebees can precipitate higher transmission of pathogens and parasites to and between bumblebees and thereby stimulate a higher prevalence of already existing pathogens and parasites. This is especially true in areas and time of season when there are few flowers in relation to the number of pollinators in the landscape. With diminishing floral resources, the contact rate of bees on the remaining floral resources increases, and thus the risk of pathogen transmission.

We could not detect that the current use of cultivated bumblebees have a negative competition-mediated influence on the local populations of wild bumblebees.

We found a difference in appearance between introduced buff-tailed bumblebees and wild Swedish buff-tailed bumblebees, which may be due to their different genetic origins, but also a large variation in the appearance of wild Swedish buff-tailed bumblebees that may overlap introduced buff-tailed bumblebees.

Cultivated buff-tailed bumblebees can potentially spread their genes to Swedish buff-tailed bumblebees, if they mate successfully with them. A major genetic study is underway to determine whether introduced buff-tailed bumblebees have produced offspring with native buff-tailed bumblebees. The results of the survey are expected to be published in 2020.

Through these field studies and risk analyses, the project group participants from the Swedish Board of Agriculture, Swedish University of Agricultural Sciences and Lund University have come to the following recommendations.

- All pathogens and parasites detected in introduced, cultivated bumblebees are already present in Swedish wild bumblebees, and at similar levels. There is therefore currently no reason to specifically monitor any of these known pathogens and parasites. However, traces of hitherto unknown virus species were detected in introduced cultivated bumblebees that were not found in a limited number of wild Swedish bumblebees. Except for a densovirus, it is currently not known if these viruses come from the bumblebees themselves, their food or their parasites.
- A regular monitoring of the general health status in cultivated bumblebee colonies and wild Swedish bumblebee populations would provide valuable information and give the Swedish Board of Agriculture and other authorities solid foundations for decision making for early interventions in case a new pathogen or parasite is discovered. Random sampling of cultivated colonies throughout the year is more effective than sampling all at one time-point, in case there is variation in pathogen prevalence or intensity over time.
- To be able to reasonably well detect changes in health status, monitoring of wild and cultivated bumblebees should take place at least every fifth year. If 100 samples (25 from cultivated bumblebees and 75 from Swedish wild bumblebees) were to be analysed primarily based on screening-by-sequencing and bioinformatic analyses, the cost per occasion would be 1 000 000 kr. The analyses can be conducted by the National Reference Laboratory for Bee Health at the Swedish University of Agricultural Sciences.
- Pollination by wild pollinators is already a realistic alternative or complement to the use of cultivated bumblebees, not the least in crops that are pollinated by long-tongued bumblebees such as red clover. To make this come true, there is a need of both development and empirical evaluation of measures to benefit wild pollinators in open field cultivation of berries and fruit. One promising measure is to place straw bales in and around a crop that is to be pollinated.
- There is rarely a reason for private individuals not involved in commercial production of tomatoes, fruits or berries to use cultivated bumblebees. By increasing knowledge, it would be possible to generate incentives to implement measures that promote wild bumblebees and solitary bees. The Swedish Board of Agriculture could produce and carry out targeted information about this, for example at garden conventions.

Innehåll

1	Inledning	10
1.1	Rapportens bakgrund och mål.....	11
1.2	Projektets organisation	13
1.3	Ordlista	14
2	Införda humlor i den svenska odlingen	15
2.1	Hur många humlesamhällen införs per år och vad säger regelverket?	15
2.2	Införda humlor i den svenska odlingen av tomater, frukt och bär	18
3	Patogener och parasiter i humlor	36
3.1	Ord och koncept inom patologi	36
3.2	Översikt över patogener och parasiter hos humlor	37
3.3	Enkla mått för humlornas hälsa	44
3.4	Genetisk artbestämning	45
3.5	Existerande analyskompetens i Sverige	47
3.6	Tidigare studier av patogener och parasiter hos svenska humlor.....	48
4	Screening av parasiter och patogener i införda och vilda humlor	51
4.1	Design av screeningen	51
4.2	Provtagning och insamling av fältdata.....	52
4.3	Analyser	57
4.4	Resultat – insamlade arter och skattad förekomst av sjukdomar och skadegörare	61
4.5	Det vi inte vet! Okända skadegörare i införda humlor?	66
5	Effekter av införda humlor på vilda humlor	73
5.1	Effekt av införda humlesamhällen på förekomst av patogener eller parasiter hos vilda humlor	73
5.2	Effekt av införda humlesamhällen på vilda humlors storlek.....	82
5.3	Effekt av införda jordhumlor på förekomst av vilda humlor.....	82
6	Risk för spridning av patogener och parasiter från införda humlesamhällen till vilda svenska humlor.....	85
6.1	Införselrisk och smittspridningsrisk.....	85
6.2	Analys av risker vid införsel.....	86
6.3	Skattad införsel av humlor baserad på data från 2016–2018.....	88
6.4	Risk för introduktion av nya parasiter eller patogener via införda humlesamhällen	90
6.5	Spridning av patogener eller parasiter (simuleringsstudie)	93

7	Morfologiska och genetiska skillnader mellan införda och vilda humlor	96
7.1	Morfologiska skillnader mellan införda och svenska vilda humlor	96
7.2	Genetiska analyser av humlor	99
8	Alternativ till införda odlade humlor?	102
8.1	Syfte och metod i litteraturstudien	102
8.2	Resultat från litteraturstudien	102
8.3	Undersökning av enkla alternativ till införda humlor	116
9	Införda humlor, diskussion och rekommendationer.....	121
9.1	Cirka 4 500 humlesamhällen införs varje år	121
9.2	Parasiter och patogener i införda humlor	121
9.3	Risker vid införsel av humlor	122
9.4	Endast kompletterande realistiska alternativ till införda humlor i de flesta grödor.....	123
9.5	Våra rekommendationer	124
10	Referenser.....	125
11	Bilaga 1	144
B.1	Statistisk analys av införda och direktfrysta samhällen	144
B.2	Statistisk analys av humlor i fält	145
B.3	Beräkningsmodell för att skatta import på länsnivå	154
B.4	Teoretisk spridningsmodell	155

1 Inledning

Rapporten består av en inledning och åtta kapitel som rör risker för svenska vilda humlor på grund av användning av införda, kommersiellt odlade samhällen av jordhumlor.

I inledningen beskriver vi kort bakgrund och mål för det projekt som utgör grunden för rapporten. Dessutom finns en ordlista.

I [kapitel 2](#) beskriver vi detaljerat införseln och användningen av odlade humlor i tomat-, frukt- och bärödling i Sverige.

I [kapitel 3](#) beskriver vi humlornas patogener och parasiter samt Sveriges lantbruksuniversitets förmåga att identifiera dessa. I detta kapitel presenteras också resultaten från två tidigare undersökningar av patogener och parasiter hos humlor.

I [kapitel 4](#) redovisar vi genomförandet och resultaten från den största genomförda screeningen av patogener och parasiter hos humlor någonsin!

I [kapitel 5](#) analyserar vi uppmätta effekter av införda humlor på:

- Förekomst av patogener och parasiter hos vilda humlor
- Storleken på vilda humlor
- Förekomsten av vilda humlor

I [kapitel 6](#) gör vi, utifrån resultatet av screeningen, en teoretisk riskbedömning av hur vilda humlor exponeras för patogener och parasiter från de införda humlorna.

I [kapitel 7](#) beskriver vi en studie om de morfologiska skillnaderna mellan införda och vilda jordhumlor i Sverige. Vi beskriver också upplägget på en pågående genetisk analys som kommer att kunna ge oss svaret på om de införda jordhumlorna har hybridiserat med svenska jordhumlor.

I [kapitel 8](#) fokuserar vi på eventuella alternativ till odlade humlor för pollinering i grödor, i form av en stor litteratursammanställning och enkla fältundersökningar.

Slutligen sammanfattar vi diskussionen om de eventuella riskerna vid införsel av odlade humlor i [kapitel 9](#).

I [bilaga 1](#) finns detaljerad information om de statistiska analyser som har använts i arbetet.

Denna rapport är del 2 i en rapportserie. Del 1 handlar om biologiska hot mot honungsbin (Forsgren m.fl. 2020).

1.1 Rapportens bakgrund och mål

1.1.1 Bakgrund till rapporten

Cirka en tredjedel av de globala skördarna kommer från grödor som till någon del pollineras av insekter (Klein m.fl. 2006). En bra insektspollinering har därmed stor betydelse för livsmedelsproduktionen i världen (Garibaldi m.fl. 2013). Dessutom är insekter viktiga för pollinering av vilda växter (Ollerton m.fl. 2011). Hot mot humlor och andra vilda bin är därmed indirekta hot mot både samhällets livsmedelsförsörjning och den biologiska mångfalden i allmänhet (Potts m.fl. 2016). Det är anledningen till att Myndigheten för samhällsskydd och beredskap (MSB) beviljade medel till projektet Biologiska hot mot pollinatörer som genomfördes år 2016–2018. Denna rapport bygger på resultat från projektet.

Projektet byggde vidare på två tidigare projekt som genomfördes 2007–2009 och 2012–2014:

- 2007–2009. Massdöd av bin – samhällsekonomiska konsekvenser och möjliga åtgärder (Pedersen m.fl. 2009). Utredningen beskrev de samhällsekonomiska konsekvenserna av massdöd av honungsbin. Vad händer om honungsbina dör och vad kan vi göra för att minska risken?
- 2012–2014. Utveckling av en beredskapsstruktur mot allvarliga skadegörare på honungsbin samt inventering av risken för förgiftning av bin med växtskyddsmedel av typen neonikotinoider under svenska förhållanden. I detta projekt tog vi fram beredskapsplaner mot tre exotiska skadegörare: traké-kvalster, tropilaelapskvalster och lilla kupskalbaggen som kan vara ett hot mot den svenska biodlingen. Vi tog också fram informationsmaterial om en invasiv främmande art: sammetsgetingen. Dessutom genomfördes ett unikt tvåårigt försök under realistiska fältförhållanden där neonikotinoiders effekt på honungsbin, humlor och solitära bin undersöktes (Rundlöf m.fl. 2015).

Under projektet 2012–2014 kom dåvarande projektgrupp fram till att det fanns ett tidigare inte utrett hot mot vilda svenska humlor som har att göra med en omfattande införsel av centraleuropeiska jordhumlesamhällen, som primärt används i växthusodling av tomater samt i frukt- och bärödlings. Några företag riktar sig nu också till vanliga konsumenter som vill förbättra pollineringen i sina trädgårdar.

Flera forskare och rådgivare är oroliga över att dessa införda humlor kan föra med sig patogener och parasiter som kan utgöra ett hot mot svenska vilda humlor. Norge har på grund av de potentiella riskerna infört kraftiga restriktioner för införsel av humlor vilka bara får införas och användas under perioden 15 november–15 februari varje år. Det har även införts restriktioner i Storbritannien. Jordbruksverket beslöt därför att skicka in en ansökan till MSB om ett nytt projekt Biologiska hot mot pollinatörer.

I regeringens regleringsbrev för 2020 finns följande arbetsuppgift till Jordbruksverket:

Pollinatörer

Jordbruksverket ska redovisa de insatser myndigheten har genomfört för att stärka förutsättningar för pollinatörer inom sitt verksamhetsområde. I redovisningen ska ingå en analys av omfattning och konsekvenser av utsättning av humlor och andra vilda pollinatörer.

Denna rapport kommer tillsammans med de pågående genetiska analyserna ge svaret på den del av uppdraget som rör ”en analys av omfattning och konsekvenser av utsättning av humlor och andra vilda pollinatörer.” Rapporten bidrar även till arbetet i Jordbruksverkets kampanj Mångfald på slätten där ett viktigt fokusområde är att gynna vilda pollinatörer.

1.1.2 Mål

Målet med den del av projektet Biologiska hot mot pollinatörer som beskrivs i denna rapport var att bygga upp Sveriges förmåga att hantera biologiska hot mot vilda humlor.

Vi hade följande framtida mål för humlor i vår projektansökan:

”Både trädgårdsodlare och vilda humlor ska känna sig trygga när införda humlor används till insektspollinering i växthus, frukt- och bärödlingar!”

För att uppnå målet har vi utrett om vår omfattande införsel av odlade mörka jordhumlor i svensk trädgårdsodling utgör ett hot mot svenska vilda humlor och undersökt om det finns några realistiska alternativ till införda odlade humlor inom kommersiell odling.

1.2 Projektets organisation

Rapporten har tagits fram i ett projekt med en organisation enligt Jordbruksverkets rutiner ([tabell 1.1.](#)).

Tabell 1.1. Projektets organisation. Många övriga har deltagit i projektets arbete.

Projektledare	Thorsten Rahbek Pedersen	Jordbruksverket
Styrgrupp	Catrin Molander (Ordf.)	
	Olof Johansson	Jordbruksverket
	Carin Bunnvik	
Projektgrupp	Ingrid Karlsson (stf. projektledare)	
	Christina Winter/Jenny Henriksson	Jordbruksverket
	Preben Kristiansen	
	Anders Ericson	
	Tatjana Blidovic	Länsstyrelsen Skåne
	Mikael Olsson	
	Joachim de Miranda	Sveriges lantbruksuniversitet (SLU)
	Eva Forsgren	
	Henrik Smith/Lina Herbertsson	Lunds universitet (LU)
	Lars Hellander	Sveriges Biodlares Riksförbund
	Mats Khakhar/Yngve Kihlberg	Biodlingsföretagarna

1.3 Ordlista

I rapporten anges ett antal uttryck och begrepp som kan kräva en närmare förklaring ([tabell 1.2](#)).

Tabell 1.2. Viktiga termer som används i samband med rapportens beskrivning av biologiska hot mot humlor.

Term	Definition
Angrepp	Process där parasiter börjar reproducera sig i eller på en värd.
Incidens	Sannolikheten att en individ blir infekterad under en viss period.
Infektion	Process där en patogen blir upptagen i en värd och börjar reproducera sig.
Infektionsrisk	Risk att smittan av kända eller exotiska patogener eller parasiter leder till infektion.
Infektivitet	Sannolikheten att en viss mängd av patogenen startar en infektion.
Införselrisk	Risk för införsel av en exotisk patogen eller parasit som inte redan finns i Sverige.
Kommensal	Organism som lever i kommensalism, samlevnad med en annan organism av annan art som inte påverkas av detta.
Konsekvensrisk	Risk att infektion med kända eller exotiska patogener eller parasiter leder till sjukdom.
Mikrobiom	Samtliga mikroorganismer (bakterier, virus, svampar och eukaryotiska mikroorganismer) som lever i och på en viss värdorganism, i detta fall bin. Mikrobiom omfattar samtliga mikroorganismer, deras gener och funktion som en helhet.
Mottaglighet	Värdens känslighet för infektion eller angrepp.
Parasit	Skadegörare. En organism som är helt eller delvis beroende av en värd för att livnära och reproducera sig och som kan göra skada.
Patogen	Sjukdomsalstrare. En organism som är helt beroende av en värd för att reproducera sig och som kan orsaka sjukdom.
Prevalens	Förekomst. Andel infekterade individer i en population vid ett givet tillfälle.
Resistens	När patogener eller parasiter inte kan reproducera sig i eller på värden.
Sjukdom	Patogenens eller parasitens negativa påverkan på värdens fysiologi eller beteende. Eller värdens försvarsreaktioner på angreppet
Smittspridningsrisk	Risk för ökad smittspridning av patogener eller parasiter som redan finns i Sverige
Tolerans	När värden inte blir sjuk av höga mängder av en viss patogen eller parasit.
Transmission	Överföring. När en patogen eller parasit överförs från en infekterad till en icke-infekterad individ.
Virom	Den delen av mikrobiomet som omfattar samtliga virus, deras gener och deras funktion.
Virulens	Sannolikheten att en viss mängd av en patogen orsakar sjukdom.

2 Införda humlor i den svenska odlingen

2.1 Hur många humlesamhällen införs per år och vad säger regelverket?

2.1.1 Antal införda humlor 2016–2018

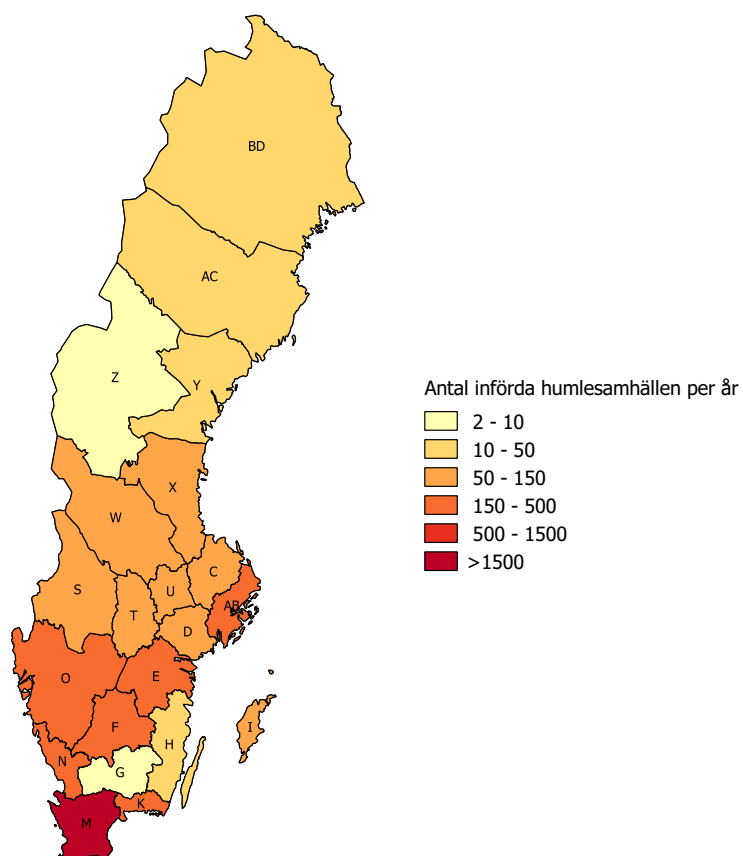
Under 2016–2018 fanns det tre registrerade företag för införsel av humlesamhällen i Sverige som tillsammans förde in cirka 4 500 samhällen per år. Humlesamhällena producerades av företag baserade i Nederländerna eller Belgien. Antalet införda samhällen extraherades från databasen Trade Control and Export System (TRACES) för de tre införselföretagen. Informationen från TRACES var inte komplett och kompletterades med information från införselföretagen.

Tabell 2.1. Antal humlesamhällen som fördes in i Sverige 2016–2018 (räknat som enkelsamhällen). Den del av Svenska Foders verksamhet där humleförsäljningen ingick köptes under 2018 av SW Horto. Alla införda humlesamhällen var mörka jordhumlor.

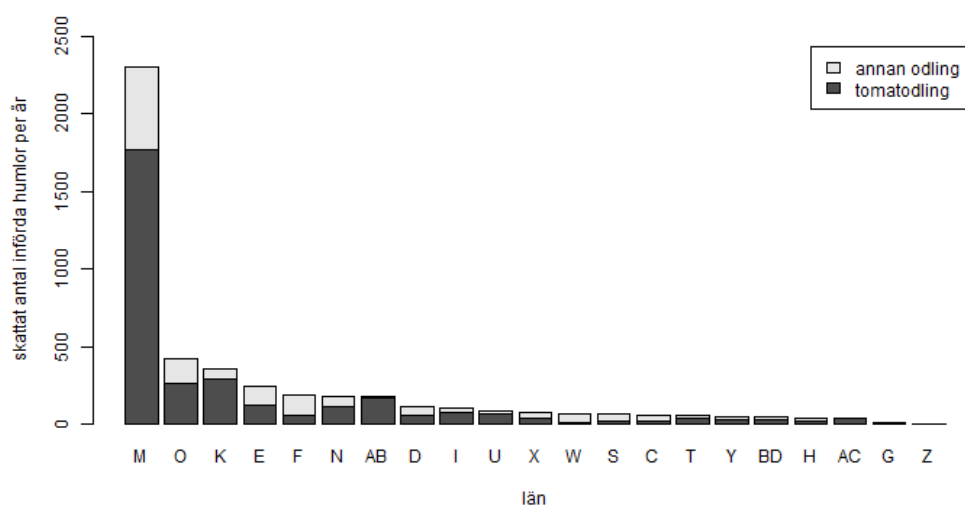
	2016	2017	2018	Totalt
Biobasiq	1 469	1 476	1 700	4 645
Lindesro	1 092	1 313	1 532	3 937
Svenska Foder	1 675	1 592	2 075	5 342
Summa	4 236	4 381	5 307	13 924

Det har dessutom införts enstaka samhällen av mörka jordhumlor till olika forskningsprojekt på Lunds universitet från en leverantör i Danmark.

Antalet samhällen varierar stort mellan län, där Skåne har högst andel ([figur 2.1](#)). Den övervägande delen (cirka 70 %) används till växthusodling av tomater ([figur 2.2](#)).



Figur 2.1. Uppskattat antal införda humlesamhällen per år baserat på statistik från åren 2016–2018.



Figur 2.2. Uppskattat antal införda samhällen per år fördelat mellan tomatodling och annan odling i olika län.

2.1.2 Regelverk för införsel av humlesamhällen

För att få föra in djur och avelsprodukter (ägg, sperma och embryo) i Sverige måste personen eller företaget vara registrerad för införsel hos Jordbruksverket.

Vid införsel av humlor gäller enligt Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 1996:24) om införsel av djur, sperma, ägg och embryo att:

- Humlorna ska komma från en i avsändarlandet registrerad exportör
- Humlorna ska uppfylla vissa hälsokrav och åtföljas av ett veterinärintyg
- Humlorna ska komma från områden som inte omfattas av restriktioner på grund av lilla kupskalbaggen (*Aethina tumida*) eller tropilaelapskvalster (*Tropilaelaps spp.*)
- Införseln ska hanteras i datasystemet TRACES

Veterinärintyget ska vara utfärdat av en officiell veterinär i avsändarlandet. Det ska vara skrivet innan humlorna lämnar exportören. Veterinären intygar att humlorna och det material de skickas i är visuellt undersökta och att veterinären inte sett lilla kupskalbaggen eller tropilaelapskvalster. Veterinären lägger in uppgifterna i TRACES.

Reglerna säger att du inte får föra in bin från ett område där det nyligen har varit utbrott av amerikansk yngelröta. Först när alla bisamhällen inom 3 km från utbrottet är kontrollerade och konstaterat friska och det har gått minst 30 dagar sedan det senaste registrerade fallet får bin föras ut från området. Det gäller även humlor, om de inte kommer från en anläggning som är isolerad från omgivande miljö. Anläggningen ska då stå under den behöriga myndighetens kontroll. Omedelbart innan humlorna skickas till Sverige ska en veterinär undersöka dem.

Humlorna får inte heller komma från ett område där det misstänks eller är bekräftat att lilla kupskalbaggen eller tropilaelapskvalster finns. Raden runt ett konstaterat fall ska vara minst 100 km. Det pågår ett utbrott av lilla kupskalbaggen i Kalabrien i Italien (Forsgren, m.fl. 2020). Samtliga uppfödare som har levererat humlor till Sverige 2016–2018 ligger utanför den raden.

Det finns även speciella regler för import av humlor från länder utanför Norden och EU, men eftersom samtliga humlesamhällen tillsvidare kommer från leverantörer inom EU beskriver vi inte detta regelverk i denna rapport.

Det finns inga regler om varifrån det pollen som humlorna utfodras med ska komma ifrån. Däremot ska pollenet frysas innan det används som foder.

2.2 Införda humlor i den svenska odlingen av tomater, frukt och bär

Detta avsnitt beskriver hur kommersiellt producerade humlesamhällen användes i yrkesmässig trädgårdsodling i Sverige under 2018. Uppgifterna i texten bygger på intervjuer med de svenska återförsäljarna, en representant från humleuppfödaren BioBest, en växthusrådgivare, en bärådgivare samt tre odlare med produktion av tomater, jordgubbar respektive frukt. Intervjuaren Christina Winter har dessutom kompletterat med egna erfarenheter från utvecklingsarbete och rådgivning samt samtal med andra odlare.

2.2.1 Leverans och produkter

Det finns olika typer av kommersiella odlade humlesamhällen som skiljer sig något åt både beträffande innehåll och ytterhölje. Ett humlebo av standardmodell består av en äggläggande humledrottning (vars huvudsakliga uppgift är att anlägga boet och lägga ägg) och hennes avkomma. Vid leverans har samhället 60–80 arbetare (honor vars huvudsakliga uppgift är att ta hand om boet) samt ägg och larver under tillväxt. Samhället är då 10–12 veckor gammalt, men drottningen är äldre eftersom hon har genomgått en vintervila.

Samhället är aktivt i 8–10 veckor efter leverans, dock med sviktande pollineringskapacitet redan efter 4–6 veckor. Mot slutet av samhällets levnadstid föds även drottningar och hanar, precis som i naturen. Eftersom drottningar är kostsamma att föda upp för samhället produceras de främst av välmående samhällen. Hanar kan produceras både av välmående och mindre välmående samhällen.

Det finns en naturlig variation i drottningarnas förmåga att starta samhället. Vid en given ålder innehåller vissa samhällen därför fler arbetare än andra. Sådana extra starka samhällen kan innehålla 80–100 arbetare och säljs som en särskild produkt med större kapacitet att pollinera.

Humlesamhället levereras i ett ytterhölje av wellpapp. Själva vaxkakan, eller snarare klumpen eftersom humlor bygger oformligt, vilar i en korg av plast. Under korgen ligger en behållare med sockerlösning som räcker under samhällets livstid. Tidigt på säsongen kan även pollen följa med i en separat förpackning. Stödutfodring när det är ont om blommor lugnar humlorna och hjälper dem att hålla igång larvproduktionen.

Kartongen har två utgångshål. Det ena hålet tillåter humlorna att passera både in och ut, medan det andra bara tillåter inpassage. Humlorna kan därför stängas in i kartongen tillfälligt, till exempel vid kemisk bekämpning av de grödor de pollinerar.



Figur 2.3. En arbetare vaktar ingången till boet och släpper bara in de humlor som hör hemma i humlesamhället. Foto: Christina Winter

Särskilt för odling utomhus och i tunnlar marknadsförs samhällen i frigolitlådor, så kallade trippelbon. Det är tre standardsamhällen, inklusive wellpappkartongerna, som levereras tillsammans i ett ytterhölje av plast. Skivor av frigolit isolerar och hjälper humlorna att hålla värmen.

Utöver detta finns specialprodukter för fröodling, dessa innehåller ett fåtal hanar, ingen drottning och inga arbetare. Dessa speciella samhällen används i växtförädlingen (stamutsäde) medan vanliga trippelsamhällen används i klöverfröodlingen (bruksutsäde).

2.2.2 Grödor där humlorna används

I Sverige använder trädgårdsodlare humlorna för pollinering av tomat i växthus samt bär i växthus, tunnlar och på friland. Även fruktodlare använder inköpta humlesamhällen, men inte i samma utsträckning. Humlorna används dock i flera andra grödor ([tabell 2.2](#)).

Tabell 2.2. Sammanställning av användning av odlade humlor i Sverige, enligt uppgifter från de tre företag som för in humlor i Sverige (Lindesro, Svenska Foder och Biobasiq), samt information om grödornas pollineringsbehov. Eftersom odlarna inte behöver redovisa hur humlorna används är det möjligt att fler grödor omfattas.

Användningsområde	Pollinerar-beroende	Insekter som pollinerar grödan på friland	Referens
Grödpollinering			
Amerikanska blåbär	90	Honungsbin, solitärbin och humlor ¹	Free 1993
Björnbär		Humlor, honungsbin och blomflugor	Free 1993
Chili	70	Honungsbin, solitärbin och flugor	Yousef & Al-Abbadi 2009
Gurka	0 ² /90	Främst honungsbin, men även solitärbin ¹	Free 1993
Hallon	30-40	Humlor, solitärbin och honungsbin	Free 1993
Jordgubbe	20-50	Honungsbin, solitärbin, humlor och flugor	Free 1993
Melon	50	Främst honungsbin, men andra insekter besöker blommorna	Free 1993
Paprika	70	Honungsbin, humlor, solitärbin och andra insekter ¹	Yousef & AL-Abbadi 2009
Plommon	50-80	Honungsbin, solitärbin, humlor, blomflugor och andra insekter	Frève et al. 2001
Pumpa och squash	80 ³	Solitärbin, honungsbin, övriga steklar och skalbaggar ¹	Free 1993
Päron	70	Honungsbin, solitärbin, humlor, blomflugor och andra insekter	Delaplane m.fl. 2000
Saskatoon/Häggmispel		Grävbin, grävsteklar, m.fl. ¹	Olson 1984
Surkörsbär	90	Honungsbin, solitärbin, humlor, blomflugor och andra insekter	Free 1993
Sötkörsbär	100	Honungsbin, solitärbin, humlor, blomflugor och andra insekter	Holzschuh m.fl. 2012
Tomat	70	Humlor och solitärbin, i viss mån honungsbin ¹	Free 1993
Vinbär	60-100	Honungsbin, humlor och solitärbin	Free 1993
Åkerböna	0-30	Humlor (främst långtungade) och honungsbin	Free 1993
Äpple	100	Honungsbin, solitärbin, humlor, blomflugor och andra insekter	Delaplane m.fl. 2000
Utsäde			
Gräslök		Släktet pollineras av honungsbin, solitärbin, flugor, m.fl.	Free 1993
Rödklöver	100	Humlor (främst långtungade) och honungsbin	Free 1993
Vitklöver	100	Honungsbin, humlor, solitärbin	Free 1993
Övrigt			
Bevarande av gamla kultursorter			
Forskning			
Sortförädling			

¹ Enligt utomeuropeiska studier

² Det finns vissa partenokarpa (utvecklar frölös frukt utan pollinering) som inte behöver och inte heller bör pollineras, eftersom detta skänker grödans kvalitet.

³ Pollineringsbehovet är liknande för olika arter i släktet, men presenterad effekt på vikt baseras på squash

Insektspollineringsens betydelse för skörden i [tabell 2.2](#), har beräknats utifrån effekten på skördemängden. Vi har räknat ut den andel som de pollinerande insekterna står för genom att använda uppgifter om effekt på avkastning i vikt per planta eller grupp av plantor och i första hand använt sådana studier som antingen presenterar effekten på den totala vikten, eller där både effekt på antal frukter och frukternas storlek presenterats. För de flesta grödor presenterades sådana uppgifter i Free (1993) och då använde vi dessa. För grödor där information saknades sökte vi upp artiklar från faktagranskade tidskrifter. När inte heller detta var möjligt använde vi uppgifter om olika grödors insektsberoende i Delaplane m.fl. (2000). Eftersom det saknas uppgifter om hur dessa siffror togs fram minimerade vi användandet av Delaplane m.fl. (2000). För tomat, paprika och chili kommer uppgifterna om pollinerarberoende från växthusstudier. Behovet av insektspollinering är lägre hos frilandsodlad tomat (Greenleaf & Kremen 2006), men värdet för växthusodlad tomat är mer relevant för Sverige.

2.2.2.1 Tomat

I Sverige sker all kommersiell odling av tomater i växthus. Tomatblommorna är självfertila och ursprungligen vindpollinerade. De producerar ingen nektar. Blommor som inte har pollinerats bildar inget fruktämne utan faller av. Vid bristfällig pollinering utvecklas frukterna dåligt och kan bli små och ihåliga. I princip alla kommersiella tomatodlingar använder humlor för pollinering. En erfaren rådgivare kände till exempel inte till någon odling utan humlor. Det finns dock enstaka mindre tomatodlingar, med diversifierad produktion i enklare växthus, som inte köper in humlor.



Figur 2.4. Flera humlesamhällen av olika ålder säkrar en jämn pollinering. Foto: Christina Winter

Sedan början av 1990-talet har inköpta humlor använts i svenska tomatodlingar. Tidigare försökte odlarna främja pollineringen med olika åtgärder, som att vibrera enskilda blomklasar med en batteridrivna stav, sprinkla vatten på plantorna eller slå med bambukäppar på trådarna. Allt med syfte att ruska om blommorna så att pollenet lossnade. Humlor kan vibrera blomman genom att röra snabbt på kroppen. Honungsbin saknar denna förmåga och passar därför inte som pollinering till tomat.

2.2.2.2 Jordgubbar i tunnel

Storskalig produktion av jordgubbar sker idag med en kontinuerlig blomning och bärmognad. Tidiga kulturer i tunnel följs av frilandsproduktion först under väv, senare utan väv. Under sensommar och höst sker en viss produktion med tunnlar som väderskydd. Skördeperioden förlängs också med olika sorter, kyllda plantor samt sorter som blommar mer eller mindre kontinuerligt (remonterande sorter). Därför behövs pollinering (med inköpta eller vilda insekter) från mitten av april ända till sensommaren.



Figur 2.5. Odling i tunnel tidigarelägger blomningen så mycket att inköpta pollinerare behövs.
Foto: Christina Winter

Jordgubbar är självfertila och kan delvis pollineras av vind. De producerar måttligt med nektar. Korspollinering med insekter ger fler, större och mer välformade bär samt bättre hållbarhet efter skörd.

Tunnelodlingen började i Sverige ungefär i mitten av 1990-talet, först bara på prov, men under 2000-talet växte arealen med tunnlar, även utanför Skåne. Då användes odlade humlor för pollinering i både tunnlar och på friland. Det förekom också att de odlade humlorna användes för att sprida ett biologiskt bekämpningsmedel baserat på *Trichoderma*.

Till den tidigaste blomningen i tunnlar (april–maj) köper i princip alla odlare in humlor. Erfarenheten är att pollineringen annars blir för dålig. Vid denna tid är tunnlarna stängda nattetid och även dagtid vid dåligt väder. Humlor används även till senare blomning i tunnlar (maj–juni) samt i viss utsträckning till sen blomning på remonterande sorter i augusti–september. Däremot är det numera inte lika vanligt att använda odlade humlor vid frilandsodling, även om det förekommer. Där används även honungsbin i samarbete med biodlare. Varken jordgubbar eller hallon kräver att blommorna vibreras. På friland pollineras jordgubbar ofta av solitärbin, blomflugor och honungsbin.

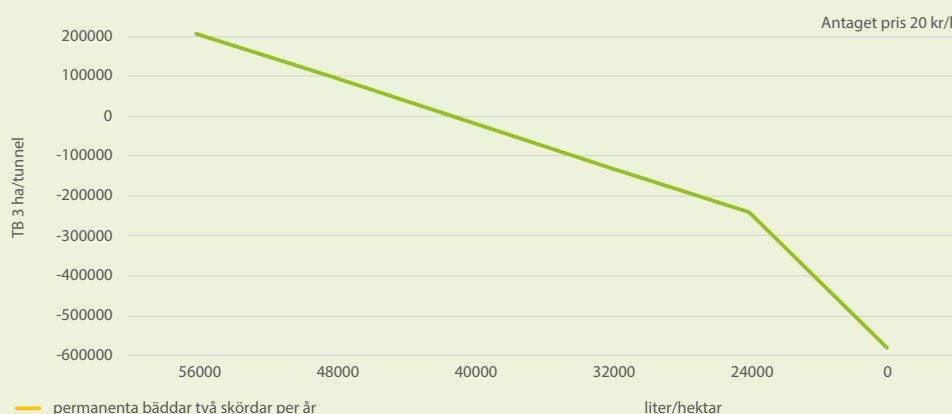


Figur 2.6. Ett standardbo har placerats i varje tunnel. När plasten är uppdragen har humlorna möjlighet att röra sig mellan tunnlarna och även ut i det fria. Foto: Christina Winter

Försöksresultat visar på vinsten av insektspollinering i jordgubbar

Försök från Tyskland (Klatt m.fl. 2013; Klatt m.fl. 2014; Ellis m.fl. 2017) där insektspollinering jämfördes med självpollinering samt självpollinering och vindpollinering visade på:

- Signifikant större bär och större andel bär av förstaklass med jämnare utseende. Utan möjlighet till insektspollinering sjönk andelen förstaklass bär med 50 % (Ellis m.fl. 2017).
- Insektspollinering ökade värdet av skördade bär med 54,3 % i jämförelse med endast självpollinering och 38,6% jämfört med självpollinering och vindpollinering. Utifrån detta kan odlingens netto räknas ut i form av täckningsbidrag (TB). TB3 = intäkt-samlade kostnader (inklusive arrende och gårdsstöd). Om literpriset för jordgubbar antas vara 20 kr/liter ger en förväntad skörd på 48 000 l/ha ett förväntat TB3 per hektar (ha) på 95 000 kr/ha. Utan insektspollinering skulle samma fält hypotetiskt avkasta 31 000 l/ha och ge ett TB3 på -143 000 kr.



Teoretiskt beräknat skördevärde (TB3) för substratodlade jordgubbar i tunnlar. **Självpollinering innebär att skördevärdet minskar med 54 % jämfört med insektspollinering.** Thilda Håkansson, HIR Skåne.

2.2.2.3 Hallon i tunnel

Även hallon för försäljning produceras idag i tunnlar med kyllda plantor, så kallade "long cane", och blomningsperioden har tidigare lagts till maj-juni. Till denna tidiga blomning köper odlare in odlade humlor för pollinering.

Hallon är självfertil, men behöver pollineras av insekter för att ge hög skörd och bra kvalitet eftersom alla delfrukter måste befruktas. Hallonblomman producerar rikligt med nektar och kan locka till sig honungsbin, även in i tunnlar.

2.2.2.4 Bärödling i växthus

Det finns en mindre kommersiell produktion i växthus av hallon, jordgubbar och blåbär som är beroende av inköpta odlade humlor.

2.2.2.5 Trädgårdsblåbär

Trädgårdsblåbär är fortfarande en liten gröda i Sverige, även om odlingen ökat de senaste 10–15 åren. Blåbären odlas i tunnlar och på friland, ofta som ett komplement till annan bärödling. Trädgårdsblåbär är inte självfertila och de behöver insektspollinering. Insektspollinering ökar bärvikten. Blommorna producerar nektar och är attraktiva för insekter.

Blåbär blommar tidigt och odlarna köper ofta odlade humlor för att försäkra sig om en god pollinering. Humlorna pollinerar även i kyligt väder och när blåbär blommar har vilda humlor inte hunnit bilda några samhällen.

2.2.2.6 Fruktdödling

I fruktdödling används inköpta odlade humlesamhällen i mindre omfattning och ibland med kortare planeringshorisont. Fruktdödlare har ofta egna honungsbin eller samarbetar med biodlare.

Äpple, körsbär och andra fruktslag är normalt inte självfertila. De behöver insektspollinering och är attraktiva för honungsbin och vilda bin eftersom de producerar gott om nektar och pollen.

Blommor på ett fruktträd slår ut under en betydligt kortare tid än på jordgubbar, hallon och blåbär. När det är varmt som 2018 tar äppelblomningen bara en vecka. Då förkortas också odlingens totala blomningsperiod eftersom de olika fruktslagen och olika sorter blommar delvis samtidigt. Mängden blommor varierar också mellan åren. Därför kan en fruktdödling behöva ett stort antal pollinerare under kort tid.

En del fruktdödlare har planerat insättning av odlade humlor för körsbär, plommon, päron och äpple. Andra köper humlor, mer eller mindre spontant, om väderprognosen tyder på kallt väder och nederbörd samtidigt som träden blommar. Möjligheten att göra detta bygger på att leverantörerna har fått extra humlesamhällen levererade till Sverige, eller kan omfördela. Annars är det ungefär en veckas leveranstid från beställning. Enligt en fruktdödlare brukar leverantörerna kunna ”skaka fram” samhällen med kort varsel.

Fruktdödlare är kanske de som enklast kan finna alternativ till inköpta humlor. En fruktdödlare hade tidigare själv arbetat med biodling och han menar att det är humlornas förmåga att flyga i sämre väder som gör att fruktsättningen blir jämnare. Han har även noterat att humlorna flyger tidiga morgnar och även på kvällen.

2.2.3 Exempel från tomatodling i Skåne

De första tomatplantorna placeras ut i växthuset i januari. Efter en vecka börjar plantorna blomma och i samband med det placeras de första humlesamhällena ut i växthuset. Ett samhälle placeras i varje avdelning, storleken varierar mellan 1 100–2 000 kvadratmeter. I takt med att allt fler klasar börjar blomma fyller leverantören på med ytterligare samhällen efter 1–3 veckor.

Tomatodlaren är noga med att placera boets öppningar åt öster, han menar att humlorna flyger mot soluppgången. Därför placeras boet också längre åt väster än vad som är växthusets mittpunkt så att pollineringen ska bli jämn i huset.

Odlaren beställer humlor. Leverantören gör upp en plan för utsättningen och levererar enligt planen. En avdelning på till exempel 2 000 kvm ska ha 3 aktiva samhällen samtidigt. Med 9 veckors beräknad pollineringsaktivitet och utsättning av ett nytt samhälle var tredje vecka innebär det 3 aktiva samhällen i olika åldrar. Detta säkrar att det hela tiden finns humlor i tillräcklig mängd. När ett samhälle går ned i aktivitet så kan de två andra kompensera.

2.2.3.1 Över- och underpollinering i tomat

Odlaren följer upp pollineringsresultatet noga. När humlorna besöker tomatblomman biter de i ståndarkonen och vibrerar med kroppen. Det blir då ett mörkfärgat märke på ståndarkonen som går att se med blotta ögat (se [figur 2.7](#)). Det är det första tecknet på att blomman är pollinerad.



Figur 2.7. Bitmärkena avslöjar att de två övre blommorna har besökts av humlor.
Foto: Christina Winter

För vanliga runda tomater bör ungefär en blomma per klase slå ut per dag. I början av säsongen när ljuset är dåligt går det långsammare. Om humlorna flyger för intensivt på de få blommor som är öppna blir de förstörda. Detta justerar odlaren genom att stänga in humlorna i boet, först varannan dag och sedan under natten. Senare på säsongen när nya blommor slår ut kontinuerligt är överpollinering inget problem och humlorna får flyga runt i odlingen efter egen instinkt. Om någon avdelning har för få humlor kan odlaren flytta ett bo för att jämna ut pollineringen.

Pollineringsresultatet följs också upp av rådgivarna genom att de tittar på blommorna, på kartsättningen och även på tomaternas slutliga storlek och form. Eventuella problem med pollineringen ska åtgärdas direkt. Varje blomma är mottaglig för pollinering under en kort tid och nya blommor öppnas hela tiden. Så kallade småtomater (cocktailtomater, körsbärstomater, med flera) har längre klasar med flera blommor utslagna samtidigt. I småtomater sätter leverantören normalt in samma typ av samhälle men med tätare intervall så att flera samhällen överlappar varandra.

2.2.4 Exempel från jordgubbsodling i tunnel (cirka 1,5 hektar) och friland, Skåne

Odlaren använder inköpta odlade humlesamhällen i tunnarna. På friland blir det tillräcklig pollinering ändå, är hans bedömning. I denna odling används inga kemiska växtskyddsmedel.

Eftersom jordgubbar normalt blommar koncentrerat under 3–4 veckor sätter odlaren ut alla humlesamhällen vid samma tidpunkt. Humlorna placeras ut när det finns öppna blommor i odlingen, men det kan vara ganska få blommor. Odlaren beställer humlor och håller sedan kontakt med leverantören om ett exakt leveransdatum. Kartongen hålls stängd under leveransdagen och öppnas påföljande dag. Sedan står den öppen dag och natt.

Tunnarna står intill varandra, men de hänger inte ihop i ett block. De ventileras genom att plasten skjuts uppåt längs långsidorna. Odlaren väljer att sätta ut ett standardsamhälle i varje tunnel istället för att placera ett isolerat trippelbo utanför tunnarna. Just här är det blåsigt och plasten som lyfts upp faller lätt ner igen. Med ett samhälle i varje tunnel minskar risken för att humlorna blir ute-stängda och inte kan flyga fram och tillbaka till boet som de vill.

Tunnarna är cirka 200 meter långa. Boet är placerat mitt i tunneln längs den norra långsidan med öppningen åt väster. Det står på två tegelstenar. Odlaren har inte sett någon skillnad på pollineringen i tunnelns längdriktning. Tidigare odlade han en remonterande sort på friland med väv över. Då var pollineringen bättre nära boet. Det var säkert svårt för humlorna att flyga längre sträckor under väven som ligger direkt på plantorna.

2.2.4.1 Över- och underpollinering i jordgubbar

En rådgivare påpekar att det är svårt att bedöma pollineringen medan den pågår. De följer leverantörernas rekommendationer. Pistillen mörknar och skruppnar oavsett om fröämnet är befruktat eller inte. Det går att se på karten om några fröämnen inte blivit befruktade, men eftersom antalet blommor och antalet fröämnen per blomma är stort så finns det inget enkelt sätt att bedöma detta och relatera detta till humlornas aktivitet. Små och missformade jordgubbar kan

bero på flera andra orsaker än dålig pollinering, till exempel frost under blomningen och angrepp av stinkflyn.

Odlare och rådgivare får förlita sig på mer generell kunskap kring pollinering och korsbefruktnings hos jordgubbar. Det finns flera undersökningar som visar att korsbefruktnings, som är beroende av insektspollinering, ökar skörden, ger högre andel klass I-bär och längre hållbarhet (Klatt m.fl. 2014; Albano m.fl. 2009; Tuohimetsä m.fl. 2014).

Odlaren som intervjuades har inte sett problem som han kan associera med att humlorna skulle pollinera för mycket i början eller för lite på slutet. När väl de första blommorna slagit ut så ökar antalet blommor mycket på bara några dagar. Här börjar mittenraden i mittersta tunneln blomma först, där är det varmest (2018 kring den 20 april). Blomningen pågår 3–4 veckor, men blommor kan finnas ända in i juni. Skörden i tunneln börjar normalt den 15–20 maj och pågår i cirka en månad.

2.2.5 Exempel från fruktodling, (cirka 6 hektar), Skåne

Fruktodlingen består i huvudsak av äpple, med en mindre del plommon och päron. I företaget finns även växthus med gurka samt lite tomat och paprika. Fruktodlingen är anlagd med början 1987 och en del av de äldsta träden finns ännu kvar. Äppelsorterna är huvudsakligen Discovery och Aroma med ytterligare några sorter samt prydnadsäpple som pollenleverantörer.

Odlaren började köpa in odlade humlor för 5 år sedan. Det var ett år med dåligt väder i blomningen och skörden blev låg. Nu köper han humlor varje år som en försäkring och han tycker att fruktsättningen varierar mindre nu, både inom odlingen och mellan åren. Det har alltid funnits honungsbin i odlingen, de kommer självmant från en biodlare cirka en kilometer bort.

Odlaren köper 5 trippelbon. Rekommendationen är ett trippelbo per hektar. Men eftersom han flyttar ett av bona från plommon till senare blommande äpplen, så räcker 5 bon till 6 hektar. Odlingen består av olika delar med lähäckar mellan. Ett trippelbo placeras mitt i varje sådan avdelning. Boet står på en träpall som är placerad i trädraden precis norr om ett träd. Det ger maximal skugga från grenverket. Ovanpå ligger några takpannor som tyngd, annars kan kartongen välta i blåsten.



Figur 2.8. Trippelboet har placerats på en pall för att inte vila direkt på marken.
Foto: Christina Winter

Humblebona placeras ut precis innan blomningen börjar. Bona öppnas nästa dag och får sedan stå öppna dag och natt. Humlorna får leva på de maskrosor som då blommar i gräsbanorna mellan äppelraderna och på vändtegarna.

2018 levererades bona den 2 maj, då plommon och maskrosor redan blommade. Efter 4–5 dagar började äppelträden blomma och odlaren började samtidigt klippa gräset för att tvinga upp humlor och honungsbin i träden. I varmt väder är äppelblomningen över på en vecka. Det finns ingen möjlighet att följa upp pollineringen medan den pågår, resultatet visar sig när blomningen är över. Blommor som inte pollinerats faller då av med skaft och fruktämne.

2.2.6 Skötsel av humlesamhället

Normalt kräver humlesamhället ingen skötsel, humlorna sköter sig själva. Behållaren med sockerlösning har en transportsäkring som odlaren tar av efter leverans. Leverantörerna rekommenderar att boet placeras på 0,2–1 meters höjd. Bärådgivare poängterar i sitt nyhetsbrev att kartongen ska stå plant så att sockerlösningen inte rinner ut. De föreslår att boet placeras på en pall eller några tegelstenar så att kartongen inte står på marken. Leverantörerna rekommenderar skydd mot sol och vattendropp, samt när bon står utomhus även mot regn.

Den tomatodling som beskrivs i [kapitel 2.2.3](#) hade bona inne i tomatraden på en dryg meters höjd. Då skuggar plantorna kartongen och det poängterades också av växthusrådgivaren. Vid för hög värme stannar humlorna i boet för att kyla larverna i stället för att flyga ut i odlingen och pollinera tomatplantorna.

I jordgubbstunneln fanns inget solskydd, men odlaren har inte upplevt problem med humlorna vid varmt väder. Tunnelarna luftas så fort det blir varmt (cirka 25

grader). I praktiken går det till så att de som arbetar i tunneln börjar lufta när de själva blir varma och det verkar fungera för både människor, humlor och jordgubbsplantor.

2.2.7 Hantering av uttjänta samhällen

I tomatodling tar odlarna normalt inte bort uttjänta bon. De nya kartongerna placeras ovanpå eller intill äldre kartonger. Bona står alltså kvar i växthus till dess att samhället är helt dött och ofta även tills att tomatodlingen röjs ut på hösten. Odlaren som beskrivs i [kapitel 2.2.3](#) brukade städa bort gamla bon några gånger per säsong. Då bränner han dem i den egna flispannan.

Leverantörerna rekommenderar att bona tas bort från odlingen efter 10–12 veckor. Samhället är då dött och kartongen attraherar myror och getingar. I de skriftliga instruktionerna på webben står inget om vad odlaren ska göra med boet. En av leverantörerna rekommenderar muntligt att ställa kartongerna i frysen, och sedan kasta dem i soporna, eller bränna dem.

Eftersom jordgubbsblomningen pågår 3–4 veckor är humlesamhället fortfarande aktiv när blomningen är avslutad. Enligt rådgivaren händer det då att odlarna flyttar bon till en annan tunnel eller till hallon.

Den jordgubbsodlare som har beskrivits ovan låter bona stå kvar tills att skörden är avslutad och humlesamhällena är helt döda.

Även i fruktodlingen står humlebona kvar i odlingen ända tills säsongen är slut. Därefter kastas de som avfall.

2.2.8 Ut- och inflygning i tunnlar och växthus

Samtliga intervjuade har fått frågan om humlorna lämnar växthus och tunnlar samt om vilda humlor och solitärbin flyger in. Ingen av de intervjuade har undersökt detta på ett systematiskt sätt, några har reflekterat över frågan tidigare, andra inte. De svarar utifrån egen erfarenhet och kunskap om vilda bin, men de har alla spenderat mycket tid med skarp blick ute i odlingarna.

2.2.8.1 Växthus

Det är en allmän uppfattning att enstaka humlor lämnar tomatodlingen, eftersom de kan ses flyga runt ventilationsluckorna i taket. Någon nämner att det kan hända om till exempel raps blommor utanför. Ingen har varit med om, eller hört talas om, något tillfälle där ett större antal humlor skulle ha lämnat växthuset.

Humlearbetarna har tillgång till både sockerlösning och pollen (från tomatblomman) inne i växthuset. Eftersom antalet humlor hålls i nivå med antalet blommor kan humlorna följa sin instinkt som är att samla in pollen och återvända till boet för att föda upp larverna. Att lämna växthuset för gott eller för

att samla pollen, skulle enligt odlaren inte ge dem några fördelar, varken för att överleva eller föröka sig. Tvärtom skulle de ödsla energi på längre flygsträckor.

Mot slutet av samhällets liv föds fertila honor och hanar. Deras instinkt är att para sig, de samlar inte pollen. Om det är en fördel för dem kan de säkert lämna växthuset. Då är samhällets aktivitet redan på nedåtgående och antalet humlor förhållandevis litet. Det skulle inte uppmärksammas på samma sätt som om ett stort antal arbetare plötsligt flög ut.

Ingen av de intervjuade har noterat vilda humlor eller solitärbin i växthuset, men de har inte heller tittat efter det. Det är sannolikt inte vanligt. Från tidigare projekt vet vi att humlor och även solitärbin söker sig in i tunnlar om där finns särskilt nektarrika växter som honungsört eller gurkört.

2.2.8.2 Tunnlar med jordgubbar och hallon

Ingen har heller upplevt, eller hört talas om, att ett stort antal insatta humlor skulle ha lämnat bäroddlingar i tunnel. Humlorna stannar i närheten av samhället så länge grödan ger pollen. Hallon ger mycket nektar och är därför extra attraktiv för humlor.

Till skillnad från tomat så har jordgubbarna en koncentrerad blomningsperiod och samhället kan fortfarande vara aktivt vid avslutad blomning. Då får humlorna en fördel av att söka pollen utanför tunneln även om energitågängen för att flyga mellan föda och bo ökar. Om boet står kvar och producerar fertila honor och hanar är det sannolikt att dessa lämnar tunnarna.

Hanar och fertila honor från de tidigaste utsättningarna kan inte para sig med vilda humlor. Det finns inga vilda humlor som är redo för parning vid den tidpunkten. För senare utsättningar är det däremot möjligt med parning eftersom vilda humlehanar finns från och med juli i södra Sverige.

I tunnlar är det också vanligare med observationer av inflygande vilda humlor. En har noterat ”dubbelt så stora” jordhumlor, det vill säga drottningar, och säger att han vet att de kommer från omgivningen. Från det inköpta samhället flyger enbart mindre arbetare. Han säger även att han vet hur solitärbin ser ut, men att han inte har sett dem i tunnarna. En rådgivare har noterat solitärbin och vilda humlor i tunnarna, bland annat ”bruna” humlor som sannolikt är åkerhumla eller hushumla.

Från tidigare projekt och observationer i odlingar vet vi att hallon lockar in vilda humlor och honungsbin i tunnlar och växthus.

2.2.8.3 Fruktoodling

Till skillnad från i växthus och tunnlar är det uppenbart att de inköpta odlade humlorna lämnar äppelodlingen och att de även besöker samma blommor som vilda humlor. Särskilt de år då fruktblomningen bara varar en eller ett par

veckor. Humleboet kommer sannolikt att producera hanar och fertila honor tidigare än vilda samhällen eftersom boet är minst 10 veckor när det levereras i början av maj, samma tid som vilda humledrottningar flyger.

Vilda humledrottningar fanns i odlingen när intervjun genomfördes, men mycket få. Även vilda solitärbin (gyllensandbi, trädgårdssandbi, sobersandbi, med flera) flög i odlingen, men bara enstaka exemplar och de flög framförallt på de maskrosor som ännu inte klippts av. Ett gyllensandbi besökte även äppelblommorna. Det fanns också gott om honungsbin i odlingen.



Figur 2.9. Sobersandbi är en potentiell pollinerare på äpple, just här valde den dock maskrosorna under träden. Foto: Christina Winter

2.2.9 Växtskyddsåtgärder

Trädgårdsbranschen menar att nyttodjurens närvaro i odlingarna styr mot en minskad användning av växtskyddsmedel. Humlorna har blivit en positiv symbol för en naturligare odling och användningen av humlor används i marknadsföringen.

När insekter och spindeldjur används för biologisk bekämpning och humlor för pollinering minskar behovet av kemisk bekämpning ofta. Men också möjligheterna att bekämpa kemiskt blir snävare, det påpekar odlare, rådgivare och leverantörer. Till exempel kan en kemisk behandling mot kvalster i tomat störa den biologiska bekämpningen för flera veckor framöver och odlarna avstår från bekämpningen om det är möjligt. Numera används sparsamt med kemisk bekämpning även i konventionell tomatodling.

I bärodling kan det vara aktuellt att bekämpa kemiskt samtidigt som humlor finns i odlingen. Tunnelodlingen har ökat behovet av inköpta odlade humlor, men möjligheterna till biologisk bekämpning ökar också. Några skadegörare minskar av sig själva tack vare odlingsmetoden.

Humleleverantörerna har listor (digitala verktyg) över sidoeffekter av olika kemiska preparat. Där framgår vilken åtgärd odlaren ska vidta vid en eventuell bekämpning. Beroende på aktiv substans varierar åtgärderna:

- Humlorna hålls instängda i kartongen i ett eller flera dygn beroende på preparatets persistens (leverantörerna rekommenderar då att kartongen täcks över).
- Humlorna hålls instängda i kartongen och den lyfts ut ur växthuset eller tunneln.

Redan under 1990-talet provade odlare att sprida biologiska bekämpningsmedel med humlorna. Tekniken har utvärderats i forskning på flera håll. En användning är att sprida svampar som motverkar gråmögel i jordgubbsblommor. Metoden används normalt inte i Sverige.

2.2.10 Problem eller olämplig hantering

Som avslutning fick alla intervjuade frågan om problem med inköpta humlesamhällen samt om de sett någon olämplig hantering. Frågan var helt öppet ställd för att få fram speciella erfarenheter från varje person.

Ibland händer det att humlesamhällena visar låg eller ingen aktivitet, påpekade rådgivarna. Samhället kan ha låg aktivitet redan när det kommer, men det kan också bero på att kartongen placerats för varmt. Det är viktigt att odlaren reagerar snabbt på detta så att samhället kan bytas ut. En odlare berättade om motsatsen, ett bo som var extra aktivt. Han kunde räkna till cirka hundra humlor som flög ut ur kartongen.

På kartongen från en av leverantörerna finns en tabell för att bedöma flygaktiviteten. Det går ut på att räkna hur många humlor som flyger in i kartongen under en viss tid.

Bärodlare flyttar ibland kartongen till en ny tunnel efter 4 veckors blomning. Då är samhällets mest aktiva period redan över och bärådgivare rekommenderar att istället sätta in ett nytt bo. Rådgivaren menar också att bona bör skyddas mot vilda djur som förstör kartongen för att komma åt sockerlösningen. Humlorna lämnar då antagligen vaxkakan, särskilt om den också är förstörd. En av de intervjuade odlarna har upplevt att vilda djur vält något enstaka bo. När samhället har dött kan kråkor hacka på det för att komma åt innehållet. Även myror går in i bona för att ta sockerlösning.

Oerfarna odlare kan tolka bristande fruktsättning i tomat som att humlorna inte är aktiva, när det i själva verket beror på andra växtfysiologiska orsaker. Då kan ytterligare insättning av humlor göra mer skada än nytta.

Bärrådgivaren påpekade också att det är svårt att riktigt bedöma om antalet humlor som flyger är tillräckligt och om pollineringen är tillräcklig. Här behövs ett utvecklingsarbete med att ta fram nyckeltal. Med dagens teknik skulle humlorna kunna räknas automatiskt när de flyger ut och in i kartongen.

Hallon och blåbär producerar naturligt mycket nektar och nektarproduktionen ökar med stigande temperatur och god vattentillgång. Om humlorna inte klarar att äta upp all nektar kan svampar börja växa mellan foderblad och bär. Odlarna skulle kunna prova att stänga av humlornas tillgång till sockerlösningen i boet för att minska problemet.

3 Patogener och parasiter i humlor

3.1 Ord och koncept inom patologi

Inom forskningen om sjukdomar – ”patologi” (*pathos* = lidande, *logia* = studie) – används många ord och koncept som behöver tydliggöras för att undvika misstolkningar ([tabell 1.2](#)).

En patogen är vanligtvis en mikroorganism, som kan orsaka sjukdom hos en annan organism (värd). Biologiska patogener är helt beroende av värdens för att reproducera sig, och ofta också för att sprida sig till nya värdar. När en patogen börjar reproducera sig är värdens infekterad. Om en infektion också leder till sjukdom är beroende av många faktorer, såsom värdens mottaglighet eller resistens för infektion, värdens tolerans för infektionens fysiologiska konsekvenser, patogenens virulens (förmåga att orsaka sjukdom) och inte minst mängden av patogen. Sjukdom är resultatet av kroppens fysiologiska reaktion mot patogenen. De flesta processer i patogenens livscykel är direkt relaterade till mängden av patogen, snarare än till om den förekommer eller inte. Prevalens (förekomst) är andelen individer i en population som är infekterade vid en given tidpunkt, medan incidens är sannolikheten att en värd blir infekterad av sjukdomen under en viss tidsperiod. När det gäller parasiter talar man om angrepp istället för infektion.

Det finns olika analysmetoder för att upptäcka patogener eller parasiter i en värd. Dessa analysmetoder har olika känslighet och därmed olika tröskelvärden för när man alls kan detektera patogener och parasiter. Känsligare analysmetoder med lägre tröskelvärde innebär en högre sannolikhet att en patogen blir upptäckt. Prevalensmätningar är därför starkt beroende av vilken analysmetod och vilket tröskelvärde som används och vilken relation det finns mellan tröskelvärde för upptäckt och tröskelvärde för sjukdom eller skada. De analysmetoder som används i denna undersökning är samtliga baserade på PCR (”*Polymerase Chain Reaction*”), som är den känsligaste typen av analysmetod.

En viktig aspekt av en patogens livscykel är överföring mellan värdar. Om en patogen inte överförs, dör den när värdens dör. Denna enkla regel styr mycket av patogenens förhållande till sin värd, inklusive sjukdom, som bara är till patogenens fördel om den ökar sannolikheten för överföring. Därför är sjukdomssymptom ofta knutna till överföring. För att säkerställa överlevnad har många patogener flera organismer som potentiella värdar, och ibland olika värdar för olika delar av sin livscykel. En annan strategi för överlevnad är ett alltmer integrerat liv med sin värd, som innebär minskad virulens, högre tolerans och en mer tillförlitlig överföringsstrategi.

Det finns många olika överföringsmöjligheter eller smittvägar. Några som är aktuella för humlor är oral-fekal, sexuell, vertikal (från drottning eller drönare till avkomma), kontaktöverföring och överföring via luft. Oral infektion är en vanlig

förekommande smittväg för de flesta patogener (se [tabell 3.1](#)), även om det ofta krävs stora mängder smitta för att orsaka sjukdom (Meeus m.fl. 2014a). De flesta bi-patogener ackumuleras också i binas avföring, varifrån de släpps ut i miljön (för sociala bin också inne i boet) där de kan blir upptagna av andra, oinfekterade bin.

Blommor är en gemensam mötesplats där det finns möjlighet för utbyte av patogener eller parasiter mellan bin (Graystock m.fl. 2015, Adler m.fl. 2018, Figueroa m.fl. 2019, Otterstatter & Thomson 2008), särskilt när många bin konkurrerar om få blomresurser (Adler m.fl. 2018, Piot m.fl. 2019, Conroy m.fl. 2016, Durrer & Schmid-Hempel 1994). Överföring sker via avföring som bina lämnar på blommor. Avföringen blir sedan upptagen av andra bin (Figueroa m.fl. 2019). Smittans överlevnad på blommytor, som ibland är begränsad till några timmar (Figueroa m.fl. 2019), är därmed en viktig faktor i huruvida blomnätverk står för smittspridning mellan bin eller inte. På så sätt kan landskapsfaktorer som påverkar binas konkurrens om blommor också påverka smittspridningen (Piot m.fl. 2019). Tillgången till blommor och pollenets näringsprofil har också stor betydelse för binas tillväxt, generella hälsa och motståndskraft mot sjukdom (Manson m.fl. 2010, Giacomini m.fl. 2018), och är därmed en viktig faktor i binas patologi (Richardson m.fl. 2015, Manson m.fl. 2010).

Båda dessa betydelsefulla faktorer (konkurrens och smittspridning) är viktiga anledningar till att vi valt att inkludera blomresurser (art, omfattning och distribution) i detta projekt.

3.2 Översikt över patogener och parasiter hos humlor

Vi har utfört en riktad litteraturstudie om de viktigaste patogenerna och parasiterna hos humlor och vilka analyser som idag finns tillgängliga för att upptäcka och kvantifiera dessa. En bra generell översikt över de olika organismer som infekterar, angriper, parasiterar och på annat sätt lever på humlor eller i deras bon finns i Goulson (2013) och en mer detaljerad, vetenskaplig översikt i Schmid-Hempel (1998). Båda författarna påpekar att det finns stora glapp i kunskapen om de flesta organismer som associeras med humlor.

Patogener och parasiter delas upp i olika kategorier ([tabell 3.1](#)): virus, bakterier, protozoer, svampar, nematoder och kvalster. Samtliga kan angripa i princip alla arter av humlor, även om mottaglighet och förekomst av sjukdomar och skadegörare kan variera mellan olika arter (McMahon m.fl. 2015). De flesta virus i tabellen infekterar också honungsbin, getingar, vilda solitärbin, blomflugor och andra pollinerande insekter. Vilken betydelse denna delade virusförekomst har för smittspridning, populationsutveckling och ekologiska förhållande mellan olika sorters pollinatörer är mestadels okänt. Övriga patogener och parasiter som nämns i [tabell 3.1](#) är mycket mer värdtrogna än virus, det vill säga att de är specifika för just humlor. Honungsbin och solitära bin har sina egna specifika arter av dessa patogener.

För patogener och parasiter är det både förekomst och mängd hos humlor som vi undersöker i denna utredning. När det gäller virus har vi, för att undvika felaktiga tolkningar och slutsatser i vår riskanalys, även tagit hänsyn till honungsbin och biodling som en potentiell stor smittkälla som starkt kan påverka virusförekomsten bland humlor (Fürost m.fl. 2014).

Sjukdomar och skadegörare hos bin och andra pollinatörer är ett mycket aktivt forskningsområde och det kommer hela tiden mycket ny information. Nya molekylära DNA-sekvenseringsmetoder har gett oss stor möjlighet att upptäcka nya patogener och parasiter. Huruvida dessa orsakar sjukdomar eller på annat sätt påverkar humlors liv, reproduktion eller överlevnad vet vi ännu inte. [Tabell 3.1](#) är därför begränsad till de sjukdomar och skadegörare som vi har tillräckligt bra kunskap om när det gäller deras allmänna förekomst eller deras förmåga att påverka humlor negativt.

Tabell 3.1. Bakgrundsinformation om sjukdomar och skadegörare hos humlor och diagnostisk kompetens på SLU.

Klass	Skadegörare	Smittväg	Livsfas påvisad	Sjukdom	Symptom	Prevalens	Relevans	Diagnos	SLUs kompetens	Analysmetod	Ingår i screening
Virus	<i>Deformed wing virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	ja	deformerade vingar	medel	hög	RT-PCR	ja	ja	ja
	<i>Acute bee paralysis virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	ja	paralys	medel	hög	RT-PCR	ja	ja	ja
	<i>Slow bee paralysis virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	ja	minskad livslängd	medel	hög	RT-PCR	ja	ja	ja
	<i>Black queen cell virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	okänd	okänd	medel	låg	RT-PCR	ja	ja	ja
	<i>Sacbrood virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	okänd	okänd	medel	låg	RT-PCR	ja	ja	ja
	<i>Chronic bee paralysis virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	okänd	okänd	låg	låg	RT-PCR	ja	ja	nej
Bakterier	<i>Lake Sinai virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	okänd	okänd	låg	låg	RT-PCR	ja	ja	nej
	<i>Bee macula-like virus</i>	oral-fekal	vuxen, larv	okänd	okänd	låg	låg	RT-PCR	ja	ja	nej
	<i>Apis mellifera filamentous virus</i>	okänd	vuxen	okänd	okänd	hög	låg	PCR	ja	ja	nej
	<i>Paenibacillus larvae</i>	oral-fekal	larv	nej	nej	låg	låg	PCR, odling	ja	ja	nej
Svamp	<i>Melissococcus pluton</i>	oral-fekal	larv	nej	nej	låg	låg	PCR, odling	ja	ja	nej
	<i>Ascosphaera apis</i>	oral-fekal	larv	nej	nej	låg	låg	PCR, odling	ja	nej	nej
	<i>Candida</i>	oral-fekal	drottning	ja	tidig kläckning	medel	medel	odling	(teoretisk)	nej	nej
	<i>Acrostagmus</i>	oral-fekal	drottning	ja	tidig kläckning	medel	medel	odling	(teoretisk)	nej	nej
Protozoer	<i>Crithidia bombi</i>	oral-fekal	vuxen	ja	minskad livslängd	hög	hög	PCR	ja	ja	ja
	<i>Apicystis bombi</i>	oral-fekal	vuxen	ja	minskad livslängd	hög	hög	PCR	ja	ja	ja
	<i>Nosema bombi</i>	oral-fekal	vuxen	ja	minskad livslängd	medel	hög	PCR	ja	ja	ja
	<i>Nosema ceranae</i>	oral-fekal	vuxen	kanske	okänd	låg	låg	PCR	ja	ja	nej
	<i>Nosema apis</i>	oral-fekal	vuxen	okänd	okänd	låg	låg	PCR	ja	ja	nej
Nematod	<i>Sphaerularia bombi</i>	mark-fekal	drottning	ja	äggstocksutveckling	medel	hög	PCR	ja	nej	ja
Kvalster	<i>Parasitellus</i>	kontakt	vuxen/drottning	nej	ingen	hög	låg	mikroskopi, ID	nej	nej	nej
	<i>Locustacarus buchneri</i>	kontakt	vuxen	sannolikt	okänd	medel	medel	PCR	ja	nej	ja

3.2.1 Virus

Virus är en biologisk enhet som består av genetiskt material inneslutet i en proteinpartikel. Virus har ingen egen ämnesomsättning utan är helt beroende av levande celler för att replikera sig. Virus kan inte förflytta sig av egen kraft utan är helt beroende av en fysisk (vatten, luft, mark) eller biologisk (värd, parasit eller skadegörare) vektor för överföring. Sjukdom är inte en automatisk följd av en infektion (se [avsnitt 3.1](#)). Av de virus vi känner till är det få som orsakar sjukdom. Faktum är att de allra flesta virus i världen lever i sin eller sina värdar utan att medföra negativa konsekvenser för dessa.

Relation mellan en patogen och dess värd kan förändras. Ett exempel på ett sådant virus är DWV ("*deformed wing virus*"), som var nästan obemärkt i honungsbin tills varroakvalstret (*Varroa destructor*) började att aktivt överföra DWV. Samspelet mellan varroakvalstret och DWV gjorde att DWV snart blev biodlingens mest fruktade virus, även om det naturliga förhållandet mellan bin och DWV var och är mestadels icke-virulent (de Miranda & Genersch 2010, Martin & Brettell 2019). DWV ökar och minskar helt i takt med förekomsten av varroakvalster (Mondet m.fl. 2014, Martin m.fl. 2010), och återgår till sin naturliga, oskadliga nivå om varroakvalstret tas bort från honungsbisamhällena (Locke m.fl. 2012, Martin m.fl. 2010). DWVs förekomst hos humlor är därför starkt förknippad med honungsbin och biodling i närområdet (Furst m.fl. 2014).

Ett annat virus som överförs mycket effektivt av varroakvalstret och påverkar honungsbin starkt är ABPV ("*acute bee paralysis virus*") och dess nära släktingar KBV ("*Kashmir bee virus*") och IAPV ("*Israeli acute bee paralysis virus*") (de Miranda m.fl. 2010a). ABPV:s förekomst hos humlor är mindre beroende av biodling i omgivningen än förekomsten av DWV (Schoonvaere m.fl. 2016, Ravoet et al. 2014). SBPV ("*slow bee paralysis virus*") är ganska sällsynt hos honungsbin (de Miranda m.fl. 2010b) men är mycket vanligare hos humlor, främst trädgårdshumla (*Bombus hortorum*) (McMahon m.fl. 2015). SBPV misstänkts därför främst vara ett virus hos humlor, som ibland överförs till honungsbin.

DWV, ABPV och SBPV har bekräftats infektera jordhumlor i experiment (Genersch m.fl. 2006, Manley m.fl. 2015, Meeus m.fl. 2014b). Infektionen sker med ungefär samma infektivitet, virulens och sjukdomssymptom som hos honungsbin (Genersch m.fl. 2006, Manley m.fl. 2015, Meeus m.fl. 2014b). SBV ("*sacbrood virus*") och BQCV ("*black queen cell virus*") är ytterliga två virus som är mycket vanligt förekommande hos både honungsbin och humlor (Ravoet m.fl. 2014). SBV och BQCV har välbeskrivna symptom hos honungsbin (de Miranda m.fl. 2012), där de orsakar sjukdom i larver och puppor, samt har effekter på födosök och rollfördelning bland vuxna bin.

Dessa fem virus (DWV, ABPV, SBPV, SBV, BQCV) är de som är vanligast förekommande och mest välbeskrivna hos honungsbin och humlor. Övriga virus i [tabell 3.1](#) förekommer ibland hos humlor, men i mindre utsträckning, och det finns färre vetenskapliga studier om dessa. Samtliga virus i [tabell 3.1](#) identifierades först hos honungsbin men har upptäckts upprepade gånger hos humlor

i fältstudier i olika länder (Schoonvaere m.fl. 2016, Ravoet m.fl. 2014, McMahon m.fl. 2015, Evison m.fl. 2012).

3.2.2 Bakterier

De två bäst studerade bakteriella sjukdomarna hos honungsbin är amerikansk yngelröta orsakad av *Paenibacillus larvae* (Genersch 2010) och europeisk yngelröta orsakad av *Melissococcus plutonius* (Forsgren 2010). Beteckningarna "amerikansk" och "europeisk" har ingenting med bakteriernas ursprung att göra (båda finns varsomhelst i världen där det finns honungsbin) utan hänvisar till den kontinent där man först började forska om bakterierna i början av 1900-talet. Båda bakterierna orsakar fruktade sjukdomar i honungsbilarver och är i många länder reglerade genom lagstiftning.

Sporer av *P. larvae* gror och förökar sig i tarmen på unga larver, varefter de bryter igenom tarmbarriären och infekterar och bryter ned larvens vävnad. Därefter bildar dessa bakterier extremt motståndskraftiga endosporer som överlever i miljön och behåller sin infektivitet i decennier. Smittspridning inom bisamhällen sker genom att larver matas med kontaminerat foder och genom återinfektion av nya larver i kontaminerade celler. Spridning mellan bisamhällen sker mestadels via flytt av smittade bisamhällen eller via smittade bin eller ramar.

M. plutonius förökar sig också i larvens tarm, men bryter inte igenom tarmepitelet. Sannolikt konkurrerar bakterierna om näringen i tarmen. Larven dör och blir därefter mat för en rad saprofytiska (nedbrytande) mikrober som förökar sig i död vävnad. Det blir ofta svårt att få en tydlig bild av sjukdomen på grund av de nedbrytande saprofyterna. *M. plutonius* bildar inte sporer men kan överleva något år på vax och annat biodlingsrelaterat material och sprids huvudsakligen på samma sätt som *P. larvae*.

Både *P. larvae* och *M. plutonius* har upptäckts i kommersiellt odlade humlesamhällen (Graystock m.fl. 2013b), dit de sannolikt kommit via pollen insamlat av honungsbin som används i uppfödningen av humlorna. Det finns dock inget bevis för att bakterierna är infektiösa hos humlor och risken som beskrivs är mestadels för honungsbin och biodlingen snarare än för humlor.

3.2.3 Svamp

En rad allmänna saprofytiska (lever på dött organiskt material) och patogena svampar har beskrivits för humlor i England (Goulson 2003), såsom:

- *Cordyceps*, ett stort släkte bestående av mer än 400 arter opportunistiska svamppatogener, som infekterar många insektsfamiljer (Sung m.fl. 2007)
- *Paecilomyces*, ett vanligt förekommande släkte av mestadels saprofytiska svampar, relaterad till *Penicillium*, oftast associerad med ruttnande plantor och matvaror men ibland som opportunistisk patogen på djur och människor (Houbraken m.fl. 2010)

- *Beauveria*, ett utbrett släkte insektspatogena svampar och en välkänd biologisk insekticid (Rehner m.fl. 2011).

Flera andra svampar har också upptäckts sporadiskt i humlor, så som *Aspergillus candidus*, *Cephalosporium spp.*, *Hirsutella spp.*, *Paecilomyces farinosus* och *Verticillium lecanii* (Schmid-Hempel 1998), men ingen av dessa verkar orsaka några sjukdomar av betydelse eller leda till dödlighet hos humlor (Goulson 2003).

Ascosphaera är en viktig patogen hos många solitära och sociala bin och orsakar yngelsjukdom (kalkyngel) hos bin som övervintrar i yngelstadiet. Ungefär 30 olika arter av *Ascosphaera* infekterar olika sorters bin. *Ascosphaera apis* är specifik för honungsbin och förekommer i samband med kyla och i små samhällen som har svårt att hålla värmen. Sjukdomen syns därför oftast tidigt eller sent under säsongen när det är kallt. *Ascosphaera aggregata* har blivit ett stort problem för odlade buksamslarbin (*Megachile rotunda*) i USA, där buksamslarbin används för pollinering av blåusern (James 2011). Kalkyngel är inte ett känt problem för humlor, troligen för att humlesamhället förutom nya drottningar dör ut under sensommaren.

Candida och *Acrostalagmus* är två jästsvampar med ganska utbredd förekomst hos humlor. I en studie såg man att de fick drottningen att vakna för tidigt från invintringen (Skou m.fl. 1963) och kan vara en faktor i vinterdödlighet (Schmid-Hempel 1998).

3.2.4 Protozoer

Protozoer är encelliga eukaryotiska organismer. Många protozoer lever av andra mikroorganismer (till exempel bakterier eller jäst), andra på dött organiskt material (saprofyter) och några som patogener på andra djur (till exempel malaria). De tre viktigaste protozoerna som infekterar humlor är *Nosema bombi*, *Crithidia bombi* och *Apicystis bombi*. Samtliga är vanligt förekommande hos humlor världen över (Schmid-Hempel 1998) och Sverige är inget undantag.

Det finns 81 beskrivna arter av *Nosema* som infekterar många olika insekter (Kirk m.fl. 2008). De mest kända är *N. apis* och *N. ceranae*, som orsakar sjukdom hos honungsbin (*Apis mellifera* och *A. cerana*). *N. ceranae* har också påträffats hos vilda humlor i Storbritannien och har genom experiment bekräftats vara infektiös på humlor, med tydlig effekt på humlornas beteende och överlevnad (Graystock m.fl. 2013a).

Humlornas egen *Nosema*-art är *N. bombi*. Den är förknippad med mindre samhällen, kortare livslängd och mycket färre nya drottningar (Otti & Schmid-Hempel, 2007, Rutrecht & Brown 2008). Effekten av *N. bombi* är värre om samhällena samtidigt är infekterade med *C. bombi*, trots att *C. bombi* inte är speciellt virulent i sig (Goulson 2003; Rutrecht & Brown 2009). *N. apis*, *N. ceranae* och *N. bombi* förekommer alla i Sverige.

3.2.5 Nematoder

Nematoder (rundmaskar) är enkla och ofta mikroskopiska djur som finns i många olika miljöer, däribland som parasiter hos andra djur. Nematoden *Sphaerularia bombi* är en välkänd humleparasit som endast påverkar humlornas drottningar. *S. bombi* infekterar humledrottningar när de övervintrar i marken. De förökar sig i hemolymfan (humlor och andra bins motsvarighet till blod), och efter att drottningen vaknat på våren sprids parasitens avkomma med avföringen. De nya rundmaskarna parar sig i marken för att fullfölja cykeln. Äggstockarna hos infekterade drottningar utvecklas inte, och dessa drottningar ger därför inte upphov till några nya humlebon. *S. bombi* finns dock kvar i övervintringsplatser som sedan används av årets nya, icke-infekterade drottningar (Goulson 2003).

3.2.6 Kvalster

Minst 15 olika arter av kvalster är relaterade till humlor och deras bon. De flesta livnär sig av pollen och dött organiskt material i humlebon. De använder humlor för transport mellan humlebon och påverkar inte märkbart humlornas utveckling, även om det kan finnas många kvalster.

Det finns dock ett välkänt parasitiskt kvalster i Sverige, *Locustacarus buchneri*, som livnär och förökar sig i humlornas trakéer (andningsorgan), liknande trakékvalster (*Acarapis woodi*) i honungsbin, vilket starkt påverkar humlornas funktionalitet och hälsa (Goulson 2003).

3.2.7 Parasitoider

Parasitoider är insekter, vanligtvis flugor eller steklar, vilkas larver parasiterar andra insekter. Både humlor och bin angrips av parasitoider. Det finns fyra typer av parasitoider i humlor (Goulson 2003):

- *Conopidae* – flugor i genera *Conops*, *Myopa*, *Physocephala* och *Sicus* som lägger sina ägg i vuxna bin (arbetare eller drönare) när de besöker blommor. Oavsett hur många ägg som läggs i varje bi, kläcks endast en ny parasitoid från varje värdbi (Goulson 2003).
- *Sarcophagidae* – flugor, flera släkten, som tar sig in i boet och föder levande larver direkt på humlelarver. De äter värden utifrån.
- *Braconidae* – steklar som lägger flera ägg i flygande bin när de födosöker på blommor.
- *Mutillidae* – vinglösa steklar som tar sig in i boet och lägger ägg i humlornas puppor.

3.2.8 Skalbaggar,flugor,fjärilar,myror och bålgetingar

Det finns många olika sorters gäster i humlebon (kvalster, skalbaggar, flugor, myror och vaxmott) som livnär sig av själva boet och dess döda organiska material snarare än av humlorna själva. Vanligtvis påverkar de inte humlornas funktionalitet eller reproduktion under säsongen utan växer till när säsongen tagit slut (Goulson 2003). Lilla kupskalbaggen (*Aethina tumida*) kan förstöra humlebon under säsongen och utgör därmed ett hot mot humlor precis som mot honungsbin. Sammetsgetingen (*Vespa velutina*), som har bin, humlor och getingar som främsta byte, är också ett potentiellt hot mot svenska vilda humlor. Vare sig lilla kupskalbaggen eller sammetsgetingen har påträffats i Sverige men kan på sikt etablera sig åtminstone i södra Sverige (Forsgren m.fl. 2020)

3.2.9 Biologiska växtskyddsmedel mot insekter

Det finns flera olika typer av biologiska växtskyddsmedel mot skadeinsekter som bland annat används i det ekologiska jordbruket, däribland virus, bakterier (till exempel *Bacillus thuringiensis*), svampar (till exempel *Beauveria spp.*) och rundmaskar (till exempel *Heterorhabditis indica*, *Steinernema kraussei*) (Hokkanen m.fl. (2015)). Några biopesticider är ganska specifika för sin målorganism (till exempel *Bacillus thuringiensis*) medan andra påverkar ett brett spektrum av organismer. Användning måste därför ske med hänsyn för att minimera oönskade konsekvenser för icke-målorganismer, precis som med kemiska pesticider. Somliga bioinsekticider är starkt virulenta hos humlor och andra bin (Dutka m.fl. 2015; Toledo-Hernandez m.fl. 2016) eller påverkar deras funktionalitet (Cappa m.fl. 2019; Akkoç m.fl. 2019; Karise m.fl. 2016; Menzler-Hokkanen 2015).

Samtidigt används kommersiella odlade pollinatörer också för att förmedla biopesticider till grödor, inklusive bioinsekticider (Hokkanen m.fl. 2015). Biopesticider säljs också av humleproducenterna, även om produktionen inte sker i samma anläggningar. Dessa bioinsekticider kan också infektera de vilda pollinatörerna i odlingen och sprida sig utanför användningsområdet, precis som humlornas naturliga fiender. Odlade humlor används normalt inte för spridning av biologiska växtskyddsmedel i Sverige (se [kapitel 2.2.9](#)).

3.3 Enkla mått för humlornas hälsa

Med undantag av några få patogener (till exempel *Nosema bombi*, *Crithidia bombi*, ABPV) är kunskapen om hur olika patogener påverkar humlor mycket begränsad. Dessutom kommer den kunskap vi har nästan helt från experiment med jordhumlor. Det vi vet om patogener hos andra humlearter gäller mest förekomst av smittämnen, sällan om det också innebär infektion, och ännu mindre om hur stor konsekvens dessa infektioner har för humlornas hälsa.

För att uppskatta effekten av patogener på humlor måste man därför skaffa sig en uppfattning om samhällenas och individernas hälsa och funktionalitet. För att göra detta använder man sig av så kallade "proxys", som är indirekta mått på hälsa och funktionalitet. I denna studie använder vi oss av enskilda bins vikt och storlek som proxy på individnivå.

3.3.1 Enskilda bins vikt och storlek

Till skillnad från honungsbin och de flesta solitärbin kan individuella humlor av samma art och bo variera enormt i storlek: upp till 10 gånger mellan de minsta och de största (Alford 1975, Goulson m.fl. 2002). Vuxna humlors storlek är beroende av hur mycket pollen de fick under uppväxten, vilket i sin tur påverkas av samhällenas tillgång till pollen och samhällenas demografi och hälsa (Sutcliffe & Plowright 1988; Rotheray m.fl. 2017). Kemiska ämnen, patogener och parasiter kan påverka humlornas individuella storlek både genom att direkt påverka deras uppväxt och indirekt genom effekter på samhällenas funktionalitet eller demografi (Wintermantel m.fl. 2018).

3.3.2 Kön

Humlesamhällen producerar drönare (mindre samhällen och tidigt på säsongen) eller drottningar (stora samhällen och senare på säsongen) men sällan både och. Den gamla drottningen styr om det blir drönar- eller drottningproduktion. Valet kan också påverkas av externa faktorer som miljö eller sjukdom. Drottningar, arbetare och drönare har olika beteende både inuti och utanför humlebona och kan flyga olika långt (Goulson 2003). Drönare och arbetare är möjligen också olika mottagliga för sjukdomar (Baer & Schmid-Hempel 2003; Ruiz-Gonzales & Brown 2006; Retschnig m.fl. 2014). Samtliga faktorer kan påverka både risken för exponering och dess konsekvenser (Baer & Schmid-Hempel 1999; 2001).

3.4 Genetisk artbestämning

3.4.1 Olika humlor, olika risker

I Sverige finns cirka 40 humlearter (Artdatabanken 2018, Mossberg & Cederberg 2012). De olika humlearterna skiljer sig åt när det handlar om var i landet de förekommer och i vilka habitat de är vanligast, och under vilken del av säsongen de är aktiva. Det påverkar sannolikheten att de direkt eller indirekt träffar på varandra. Prevalens och incidens av olika patogener skiljer sig också mellan humlearterna (McMahon m.fl. 2015) även om det fortfarande är oklart varför. Humlornas känslighet för patogener och sjukdom påverkas av humlornas mikrobiom (Möckler m.fl. 2018), som i sin tur påverkas starkt av pollenets ursprung,

mängd, näringsinnehåll och kemiska sammansättning (Adler m.fl. 2018). Olika humlearter skiljer sig därför åt både när det gäller risk för exponering (kontakt) och dess möjliga konsekvenser (sjukdom).

3.4.2 Artbestämning i fält och laboratorium

De flesta svenska humlor går bra att skilja åt i fält genom deras färgmönster på bak- och mellankropp, men för vissa arter är mönstren mer varierade och det finns en överlappning mellan vissa arter som gör det svårt att säkert artbestämma dessa (Goulson 2013). Den mest problematiska gruppen är jordhumlor och andra arter med vit spets och gula ränder ([tabell 3.2](#)), men det finns också risk för otydlig artbestämning mellan andra humlor på grund av mellanism, variation och överlapp i färgmönster, naturligt slitage och smuts.

En del tveksamma fall kan lösas genom att undersöka ytterligare fysiska kännetecken och könsorgan med hjälp av mikroskop (Goulson 2013), men detta är ganska arbetskrävande. De senaste decenniernas utveckling av molekylär teknologi har dock förenklat artbestämningen vid insamlingsprojekt. I dagsläget är molekylär streckkodsanalys ("barcode analysis") det enklaste, säkraste, snabbaste och billigaste sättet att artbestämma organismer. Denna analys görs genom att sekvensera mitokondriernas gen för cytochrom oxidas 1 (CO1).

Tabell 3.2. Svenska humlor och snylthumlor som ser ganska lika ut och är svåra att skilja i fält, samt deras förekomst i Sverige. Sista kolumnen visar andelen felaktiga artbestämningar för dessa humlor i fält vid en pilotinsamling nära Uppsala under 2017 ([avsnitt 4.2.1](#)). Korrekt artbestämning gjordes med streckkodsanalys.

Svenskt namn	Latinskt namn	Förekomst	Geografi	Fel
Mörk jordhumla	<i>B. terrestris</i>	Vanlig	Hela Sverige	2/41
Ljus jordhumla	<i>B. lucorum</i>	Vanlig	Hela Sverige	2/8
Blåklockshumla	<i>B. soroeensis</i>	Vanlig	Hela Sverige	23/34
Trädgårdshumla	<i>B. hortorum</i>	Vanlig	Hela Sverige	3/7
Jordsnylthumla	<i>B. bohemicus</i>	Vanlig	Hela Sverige	3/7
Hussnylthumla	<i>B. norvegicus</i>	Vanlig	Hela Sverige	1/1
Ljunghumla*	<i>B. jonellus</i>	Vanlig	Hela Sverige	0/0
Skogsjordhumla*	<i>B. cryptarum</i>	Vanlig	Hela Sverige	0/0
Kragjordhumla*	<i>B. magnus</i>	Måttlig	Syd- och mellan Sverige	0/0
Rallarjordhumla*	<i>B. sporadicus</i>	Måttlig	Mellan-Norra Sverige	0/0
Trädgårds-snylthumla*	<i>B. barbutellus</i>	Måttlig	Syd- och mellan Sverige	0/0

*Ljunghumla, skogsjordhumla, kragjordhumla, rallarjordhumla och trädgårdssnylthumla påträffades inte under insamlingen 2017.

3.5 Existerande analyskompetens i Sverige

SLU har status som nationellt referenslaboratorium (NRL) för honungsbihälsa och är en del av det europeiska nätverket av NRLs. SLU deltar årligen i möten och workshops anordnade av det europeiska referenslaboratoriet för bihälsa (EURL). EURL tillhandahåller protokoll och metoder för diagnos av sjukdomar, parasiter och skadegörare i bisamhällen och erbjuder NRLs att delta i ett flertal ILPT ("Inter Laboratory Proficiency Tests").

Det finns olika typer av analysmetoder och kompetenser för att diagnostisera sjukdomar och skadegörare hos bin, bland annat dissekering, mikroskopi, odling av bakterier och svamp samt immunologiska och molekylärbiologiska metoder.

NRL och SLUs forskningsgrupp innehar i princip alla dessa diagnostiska verktyg och analytiska kompetenser. Det som mest används i nuläget är diagnostisering på DNA- eller RNA-nivå, alltså utifrån sjukdomens eller skadegörarens genetiska arvsmassa. Den typen av diagnostisering är mycket specifik, känslig och robust och ger möjlighet till en precis kvantifiering på en mycket bred skala. Detta är viktigt för att göra en infektionsriskkalkyl och smittspridningsmodellering. PCR-baserade metoder utgår också ifrån extraherat DNA och RNA, vilket har den stora fördelen att proverna kan sparas och återanvändas i framtiden för diagnos av ytterligare sjukdomar och skadegörare. Proverna och så kallade sekvenseringsdata som har samlats i detta projekt och i tidigare undersökningar som beskrivs i [avsnitt 3.6](#) blir därmed en tidskapsel. Vi kan jämföra framtida prov med dessa historiska prov.

Validerade PCR-baserade analysmetoder för de allra flesta sjukdomar och skadegörare finns på NRL och används regelbundet för att analysera honungsbiprov.



Figur 3.1. Det nationella referenslaboratoriet för bihälsa vid Institutionen för ekologi, SLU, spelar en nyckelroll i samband med identifikation och övervakning av skadegörare i humlor. På bilden forskarna Eva Forsgren och Joachim de Miranda.

3.6 Tidigare studier av patogener och parasiter hos svenska humlor

3.6.1 Införda humlor: fältexperiment under 2013 med fokus på neonikotinoider i Skåne

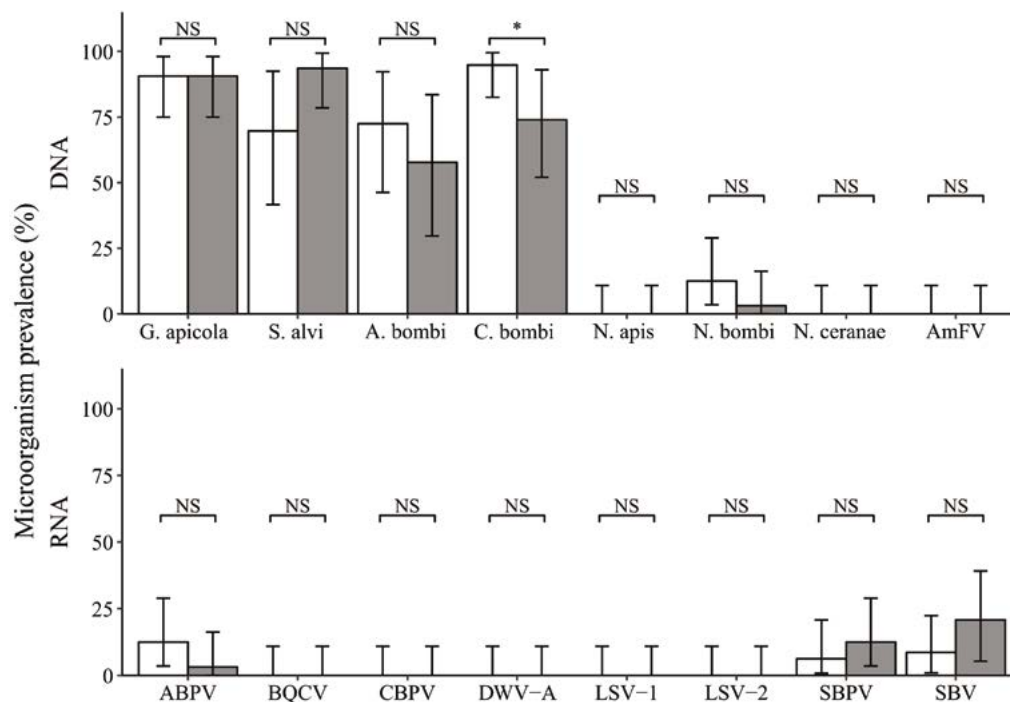
I ett projekt som genomfördes 2012–2014 (se kap. 1.1.1) infördes 96 jordhumle-samhällen för ett fältförsök där man undersökte risken för att svenska pollinatörer exponeras för insekticider av typen neonikotinoider i vårrapsodlingen.

Samtliga humlebon frystes in efter experimentets slut för senare analys. Under 2015 analyserade SLU samlade prov av yngel och vuxna arbetarhumlor från 64 av dessa samhällen för totalt 16 mikrober:

- Nio virus (ABPV, BQCV, CBPV, DWV, LSV-1, LSV-2, SBPV, SBV och AmFV)
- Två symbiotiska bakterier (*Gilliamella apicola* och *Snodgrassella alvi*)
- Tre mikrosporidier (*Nosema bombi*, *N. apis*, *N. ceranae*) och
- Två protozoer (*Apicystis bombi*, *Crithidia bombi*).

Vuxna bin analyserades för samtliga mikrober medan yngel analyserades endast för de nio virusen.

Endast tre av de nio virusarterna påträffades hos de vuxna humlorna (ABPV, SBPV och SBV), samtliga med låg (mindre än 20 %) förekomst ([Figur 3.2](#)), och bara en art (ABPV) hos ynglen, i två av de 64 samhällena. Det var också låg förekomst av mikrosporidier med ingen förekomst av *N. apis* eller *N. ceranae* och knappt sju procents förekomst av *N. bombi*. Däremot var båda protozoerna *A. bombi* och *C. bombi* mycket vanliga och de symbiotiska bakterierna *S. alvi* och *G. apicola* var nästan universellt förekommande, vilket är i enlighet med dessa bakteriers betydelsefulla roll i humlornas mikrobiom och matsmältning (Wintermantel m.fl. 2018).



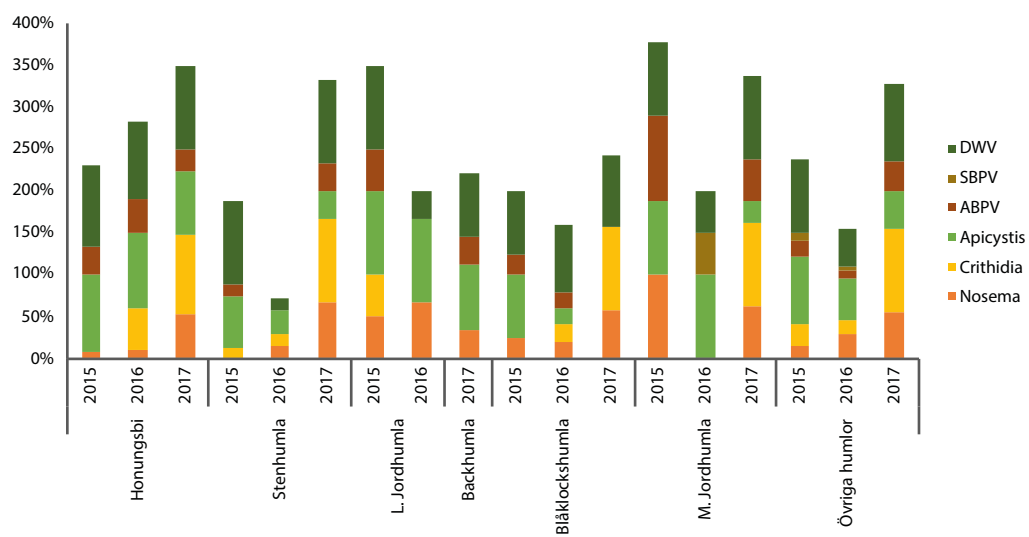
Figur 3.2. Förekomst av olika sjukdomar och skadegörare i 64 införda humlesamhällen från 2013. Staplarna visar resultatet för humlor från humlesamhällen placerade vid rapsfält med obehandlat (vit) eller klotianidinbehandlat (grå) rapsutsäde. Från Wintermantel m.fl. 2018.

3.6.2 Vilda svenska humlor: studie på Ultuna 2015–2017

I ett pågående projekt inom projektet "EU COST-action Super-B" om smittspridning från honungsbin till vilda pollinatörer samlades honungsbin, vilda humlor och solitärbin in i SLUs kunskapsträdgård i Ultuna vid slutet av juli åren 2015, 2016 och 2017.

Dessa bin analyserades individuellt för förekomst och mängd av *Apicystis*, *Crithidia*, *Nosema*, ABPV, DWV och SBPV. De mycket noggranna protokoll som utvecklades för insamling, provhantering och patogenanalys av enskilda bin är grunden till de protokoll som användes i den stora screeningen i Skåne och Blekinge 2018 (se [kapitel 4.2.2](#)). Skillnaden är att införda humlor är den så kallade drivande faktorn för smittspridningen istället för honungsbin. Samtliga patogener påträffades i samlingen, med olika förekomst för olika humlearter och olika år ([figur 3.3](#)). Den största skillnaden jämfört med resultaten från neonikotinoidexperimentet ovan var den höga förekomsten av DWV hos samtliga pollinatörer i Super-B studien.

Detta var inte oväntat eftersom det fanns många *Varroa*- och DWV-infekterade honungsbisamhällen i närheten. Det är också ett mycket begränsat utbud av blommor på centrala Ultuna i slutet av juli vilket ökar sannolikheten för smittspridning på blommor. *Nosema* förekom också i mycket högre utsträckning och mängd än i neonikotinoidexperimentet.



Figur 3.3. Förekomst av olika patogener hos honungsbin och vilda humlor vid SLU den 24 juli åren 2015, 2016 & 2017. Förekomsten av samtliga patogener staplas på varandra.

4 Screening av parasiter och patogener i införda och vilda humlor

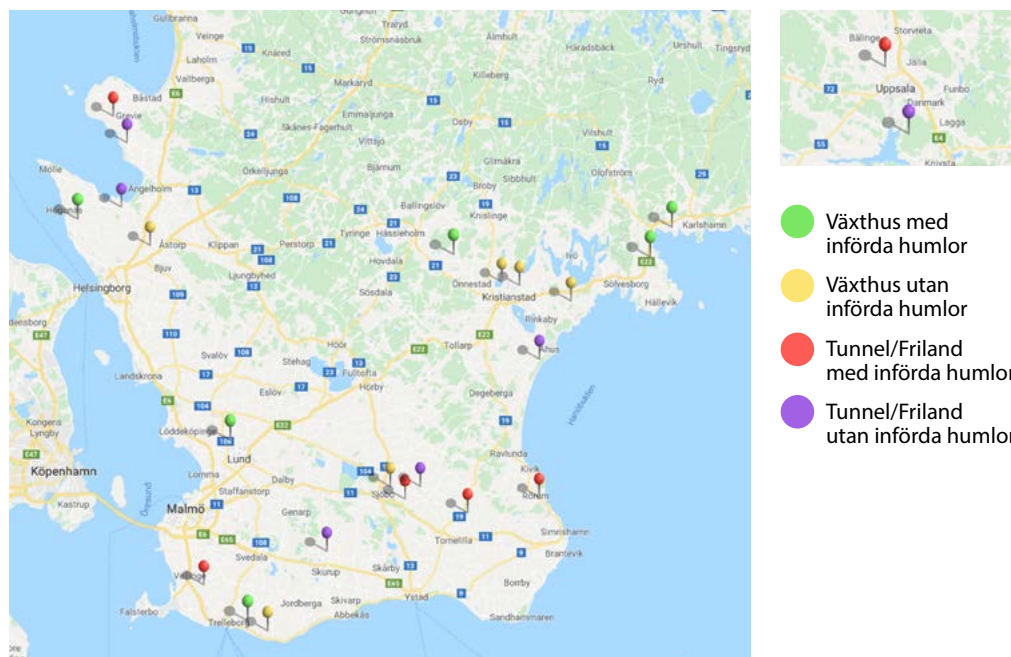
4.1 Design av screeningen

Under 2017 genomförde SLU en oreplikerad (ett område med och ett område utan införda humlor) pilotstudie i Uppsala, där humlor samlades in i en bäroddling som använde införda odlade humlesamhällen för pollinering och i en bäroddling som inte använde införda humlesamhällen ([avsnitt 4.2.1](#)). Pilotstudien genomfördes för att testa insamlings- och analysmetodiken.

Under 2018 genomförde SLU och LU en större replikerad fältstudie i Skåne och Blekinge ([avsnitt 4.2.2](#)). I denna studie fokuserade vi på användningen av införda humlor för pollinering i växthus- och tunnelodlingar, ett vanligt användningsområde för införda humlor.

Inför den större replikerade fältstudien 2018 identifierade vi växthus- och tunnelodlingar där införda humlor hade använts för pollinering under flera år, oftast minst 12 år, men i tre fall kortare tid (6, 5 respektive 3 år). För ett antal utvalda växthus- och tunnelodlingar som uppfyllde våra kriterier, valde vi sedan ut matchande landskap där det inte användes införda humlor. Landskapen matchades på andra karaktärer som vi ansåg skulle kunna påverka förekomsten av patogener och parasiter hos humlor, så att de var så lika som möjligt. I de slutgiltigt valda landskapen skattade vi sedan tätheten av vilda humlor på olika avstånd från en vald mittpunkt och samlade in humlor för artbestämning, analys av patogener och parasiter samt förekomst av gener från införda humlor.

Det innebär att vi dels kunde jämföra landskap med och utan införda humlor, dels jämföra olika avstånd från utsättningen av införda humlor.

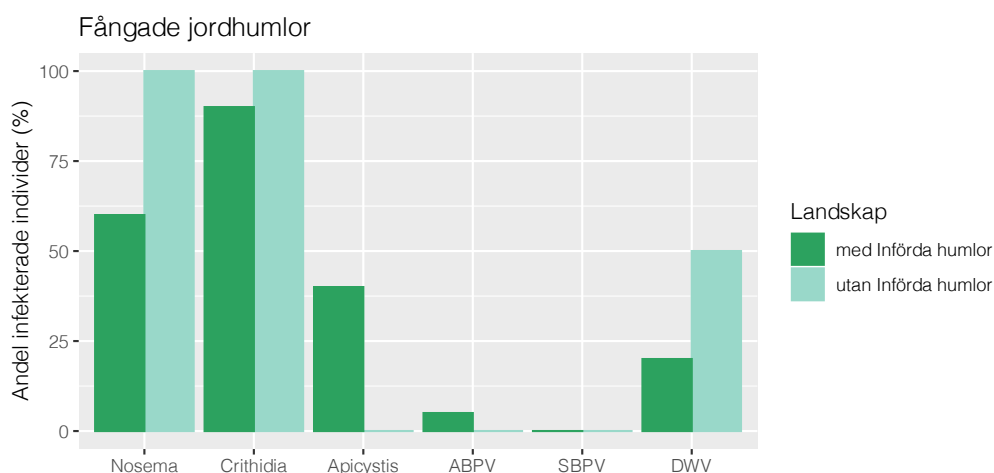


Figur 4.1. Geografisk placering av de landskap som ingick i studierna; a) växthus- och tunnel/frilandsodlingar med användning av införda humlor och matchade kontrollandskap utan införda humlor som ingick 2018 (Skåne/Blekinge), b) bärodling med och utan införda humlor 2017 (Uppland).

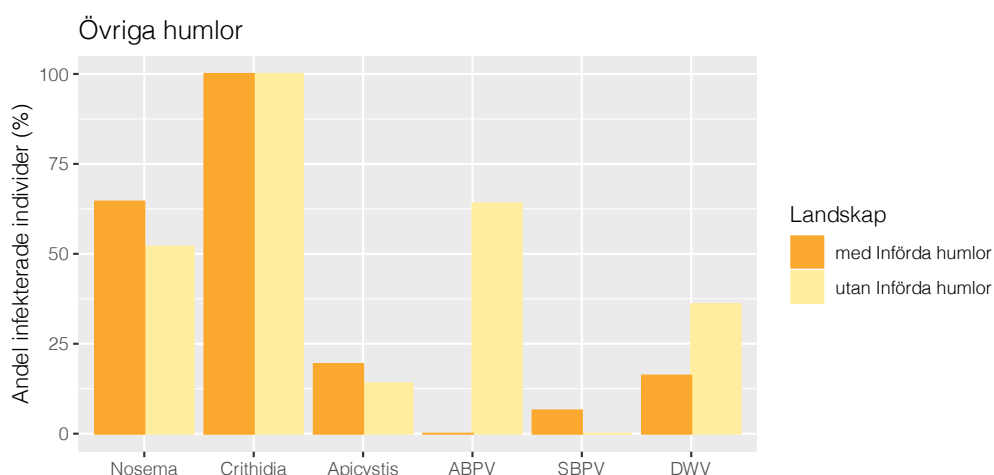
4.2 Provtagning och insamling av fältdata

4.2.1 Pilotstudie – Uppland 2017

I SLUs pilotstudie i Uppland sommaren 2017 testades och anpassades Super B-protokoll (se [avsnitt 3.6.2](#)) för senare användning vid den stora humleinsamlingen i Skåne-Blekinge i 2018. I pilotstudien samlades humlor in från två kommersiella bärodlingar på friland i Uppland: en odling som hade använt införda humlesamhällen för pollinering under många år och en odling som aldrig hade använt införda humlor ([figur 4.1](#)). Femtio humlor samlades in från varje odling i soligt väder på eftermiddagarna den 27 och 28 juni 2017. I odlingen med införda humlesamhällen samlades 20 jordhumlor in, varefter endast andra arter än jordhumlor samlades in. Vid fångsten noterades vid vilken tid och på vilken blomma humlan fångades. Insamlade humlor analyserades för förekomst och mängd av sex patogener: *Apicystis*, *Crithidia*, *Nosema*, ABPV, DWV och SBPV ([figur 4.2a](#) och [figur 4.2b](#)). Analyserna beskrivs närmare i [avsnitt 4.3](#).



Figur 4.2a. Resultat från pilotstudien i Uppland 2017. Förekomst av patogener i fångade jordhumlor i bäroddlingar med och utan införda humlesamhällen i Uppland.



Figur 4.2b. Resultat från pilotstudien i Uppland 2017. Förekomst av patogener i fångade övriga humlor (andra arter än jordhumlor) i bäroddlingar med och utan införda humlesamhällen i Uppland.

4.2.2 Stor insamling – Skåne och Blekinge 2018

I den stora replikerade studien i Skåne och västra Blekinge sommaren 2018 samlades humlor in i 22 studielandskap ([figur 4.1](#)). Hälften av dessa landskap hade minst en odling där man använde införda humlor (landskap med införda humlor). Odlingarna bestod av sex tomatodlingar i växthus och fem frukt- och bäroddlingar i tunnlar eller på friland. Antalet införda humlesamhällen varierade från knappt 10 till 300–350 samhällen per år (odlare, personlig kommentar). Enligt uppgift från odlarna hade de använt införda humlor under flera år (se [avsnitt 4.1](#)), i vissa fall så länge som under 15–25 år.

Den andra hälften av landskapen bestod av ett urval av landskap utan användning av införda humlesamhällen (kontrollandskap). Vi använde oss av en parad försöksdesign, vilket innebär att vi för varje landskap med införda humlor

matchade med ett landskap utan känd förekomst av införda humlor. För att undvika att kontrollandskapen hamnade i närheten av områden där det tidigare använts införda humlor använde vi oss av ett kartsikt med de postnummer dit det har sålts humlor enligt de tre företag som distribuerar humlesamhällen till svenska odlare. Möjliga kontrollandskap hade sin mittpunkt minst 3 km från dessa postnummers ytterkant. Matchningen mellan humlelandskap och kontrollandskap gjordes också med avseende på förekomst av sådan markanvändning som kan ha betydelse för humleförekomsten i landskapet (permanenta gräsmarker, raps, ekologisk odling och fruktodling) och förekomst av honungsbisamhällen.

För att ta fram data på markanvändningen i landskap som potentiellt kunde ingå i studien extraherade vi data för ett cirkelformat landskap med 1 km radie från odlingen/kontrollandskapets mittpunkt. En kilometer användes eftersom denna skala motsvarar flera humlearters flygradie från boet (se till exempel Walther-Hellwig & Frankl 2000). Data extraherades från Jordbruksverkets blockdatabas, en årligen uppdaterad databas med information om grödor på olika fält, och Naturvårdsverkets nationella marktäckedata som innehåller information om vegetation och marktäcke. Eftersom vissa typer av markanvändning (till exempel rapsodling) varierar mellan år, använde vi oss av ett genomsnittsvärde för åren 2014–2016. Tätheten av honungsbisamhällen inom 1 och 2 km skattades med information från länsstyrelsen i Skåne.

Trots att vi kontrollerade för känd förekomst av införda humlor visade det sig senare att en odlare strax utanför ett av kontrollandskapen hade använt lådhumlor vid ett tillfälle för flera år sedan. Vi behöll detta kontrollandskap, eftersom det rörde sig om en engångsföreteelse och för att humlorna inte hade använts innanför kontrollandskapets ytterkant. Däremot undvek vi att samla in humlor i den del av studielandskapet som låg närmast odlingen, vilket medförde att för alla insamlade humlor så var avståndet alltid minst 1 km till platsen där införda humlor använts. I ett annat fall, där visade det sig att en odlare precis intill mittpunkten i ett kontrollandskap hade använt lådhumlor för 6–7 år sedan, bytte vi detta mot ett nytt kontrollandskap.

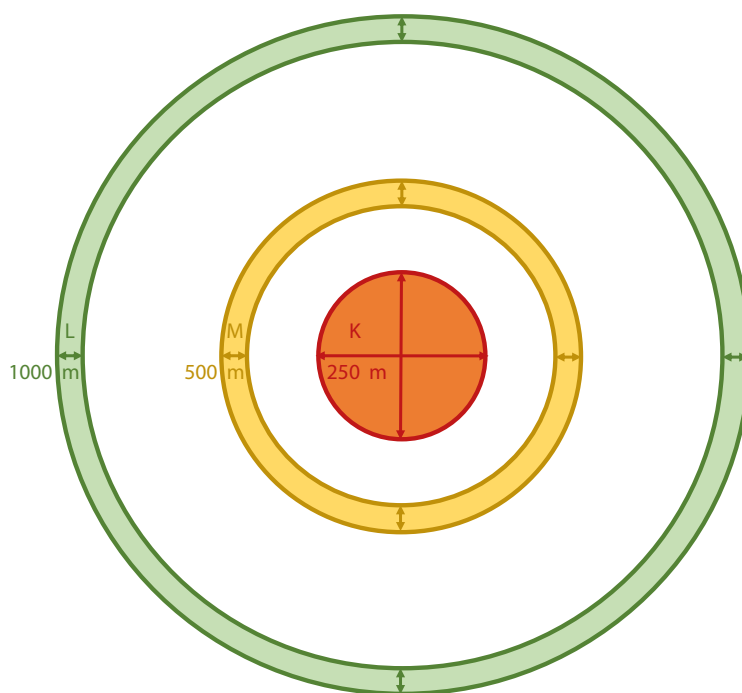
Varje studielandskap inventerades en gång i början av juni och en gång i början av juli. Inventeringarna genomfördes mellan kl. 09.00–18.00 i soligt väder med lätt eller ingen vind. I varje studielandskap samlade vi humlor på tre avstånd från mittpunkten/humlesamhällena: inom 250 m från mittpunkten, cirka 500 m från mittpunkten och cirka 1 000 m från mittpunkten ([figur 4.3](#)). Vid vart och ett av dessa avstånd samlades humlor in under 60 minuter. Humlorna samlades in i alla typer av miljöer, såsom vägkanter, trädgårdar och kantzoner. Målet var att samla in fem individer av varje art som förekom på platsen. För jordhumlor, vars arbetare inte kan särskiljas med hjälp av morfologiska karaktärer (Goulson 2013), var målet istället 10 individer från denna grupp. I några fall uppnådde vi inte målet under 60 minuter, utan vi fick komplettera insamlingen. Humlorna fångades med håv och stoppades in i Falconrör som märktes med provnummer. Humlorna förvarades svalt och stoppades i en frys (-20 °C) vid dagens slut. Honungsbin påträffades i alla landskap och provtogs, förvarades och analyserades

likadant som humlorna. Detta på grund av honungsbinas sannolikt stora inflytande på patogenförekomsten bland humlor och andra bin (Fürst m.fl. 2014; Evison m.fl. 2012, Singh m.fl. 2010). Det varierade mycket hur stort antal av humlor och bin som kunde samlas in under en timme.

Tabell 4.1. Totalt insamlade humlor och bin 2018

Insamling	Omgång-1 (juni 2018)	Omgång-2 (juli 2018)	Extraprov (juli 2018)
Humlor	624	600	394
Honungsbin	111	74	33

Endast humlor från införselsföretagen och humlor insamlade i juni ingår i den patogen- och parasitanalys som redovisas i denna rapport. Humlorna som samlades in i juli kommer att analyseras i SLUs löpande arbete och kan ge oss viktig information om hur patogener och parasiter utvecklar sig under säsongen.



Figur 4.3. Insamlingsavstånd i relation till odlingens mittpunkt: Kort (K; 0–250 m), Mellan (M; cirka 500 m från mittpunkten) och Lång (L; cirka 1000 m från mittpunkten).



Figur 4.4. Insamling av humlor i fält. Foto: Kenneth Rouna, LU

Vi styrde ordningen på vilka landskap som besöktes, för att så långt som möjligt besöka lika många landskap med införda humlor och kontrollandskap varje dag. Parade landskap besöktes samma dag i den mån detta var praktiskt möjligt, annars så snart efter varandra som möjligt. Vi strävade även efter att växla mellan olika typer av landskap med införda humlor (tomatväxthus eller tunnel/friland) och mellan studielandskap från olika delar av regionen.

4.2.3 Insamling av införda humlor

I vart och ett av 10 av de 11 landskapen där det användes införda humlor samlade vi in ett av de införda samhällena. Samhällena var inköpta av odlarna själva från sina vanliga leverantörer. Dessa samhällen samlades in när de hade stått ute i odlingen under cirka 4–5 veckor och avlivades genom att de placerades i en frysa (-20°C). De frysta samhällena fördes till SLU på torris för senare dissekering och analys. Från varje samhälle provtogs sju individer för patogen- och parasitanalys.

Våren 2018 köpte SLU in tio humlesamhällen, fem från varje leverantör. Inköpen gjordes vid ett tillfälle och samhällena avlivades direkt genom frysning (-20°C). Sju arbetarhumlor provtogs från varje samhälle och förvarades vid -20°C för senare patogenanalys.

4.3 Analyser

Samtliga insamlade humlor fördes till SLU på torris (-40°C) och förvarades vid -20°C fram till analys. Analys av samtliga bin och humlor från första insamlingen (juni 2018) gjordes mellan sensommar 2018 och maj 2019.

4.3.1 Vikt, storlek, kön och dissekering

Storleken bedömdes med två mått: vikt och InterTegular Distance (ITD) som är avståndet över mellankroppen mellan vingarnas ingångspunkter. Varje enskild humla vägdes till närmaste mg med en Metler-Toldeo finbalansvåg. ITD mättes med ett kapillärmätinstrument till närmaste mm. Humlans kön (som också påverkar storlek) bedömdes utifrån bakkroppens form (rundare för drönare, spetsigare för arbetare) och förekomst av pollenkorgar på humlans bakben (som saknas på drönare).

Därefter dissekerades humlan. Bakkropparna användes för patogenanalys medan mellankroppar, huvuden, vingar och ben förvarades separat.

4.3.2 Genetisk artbestämning (streckkodsanalys)

Alla humlor artbestämdes genetiskt genom att uppföröka och sekvensera den mitokondriella cytochrom oxidas-1 genen, och stämma av sekvensen mot en databas där nästan alla jordens humlor ingår: en så kallad streckkodsanalys (Folmer et al. 1994, Schmidt et al. 2015). PCR-amplifikationen gjordes direkt på en liten bit av humlornas vingmuskler (Ärfstäd 2012) i 96-håls plattor med HCO-2198 och LCO-1490 som primrar (Folmer et al. 1994). Plattorna med PCR-produkter skickades sedan till Macrogen i Amsterdam för rening, sekvensering och primär bioinformatikanalys. Den slutliga artbestämningen gjordes av SLUs tekniska personal.

4.3.3 Patogen och parasitanalys

För patogenanalys har vi använt DNA och RNA från varje enskild humlas bakkropp, och undersökt förekomst och mängd av åtta patogener och två parasiter ([tabell 3.1](#)). Humlans resterande delar (huvud, torax, ben och vingar) samt återstående DNA och RNA bevaras separat för streckkodsanalys och framtida undersökningar.

Två olika screeningsstrategier användes. Den första var en riktad screening av patogener och parasiter som är kända för att infektera humlor och som nu även skulle kunna finnas hos svenska vilda humlor. Den andra var en så kallad öppen, eller icke-riktad screening, vars syfte är att hitta alla patogener och parasiter som inte täcks in av det riktade tillvägagångssättet. Detta möjliggör också upptäckt av patogener och parasiter som inte tidigare har detekterats i svenska humlor. Eftersom en öppen screening är mycket dyrare, svårare och tar längre

tid än en riktad screening så är denna typ bäst att tillämpa kvalitativt på en mindre men representativ delmängd av prover. Eventuella nya patogener eller parasiter som identifieras kan sedan inkluderas i den riktade screeningen av majoriteten av prover genom att specifikt undersöka förekomsten av dessa i sparat genetiskt material.

4.3.4 Riktad screening

För att mäta mängder av patogener och parasiter i enskilda bin användes Polymerase Chain Reaction (PCR), en molekylärbiologisk metod som snabbt kan mångdubbla en liten del av patogenen eller parasitens arvsmassa som sedan kan analyseras. Denna process kan i teorin uppföröka ett enda, enskilt exemplar av en patogens genom. I praktiken är detektionsgränsen närmare 10 genom per PCR-analys.

Endast 0,1 % av nukleinsyran (DNA eller RNA) som extraherats från varje humla behövs för en PCR-analys. Detta betyder att det extraherade materialet räcker till cirka 1 000 DNA-baserade och 1 000 RNA-baserade analyser per humla. Protozoerna *Nosema* (en mikrosporide), *Apicystis* (en parasit), *Crithidia* (en trypanosom) och parasiterna *Locustacarus* (ett kvalster) och *Sphaerularia* (en nematod) har alla DNA-genom. För dessa organismer utfördes PCR-analyserna direkt på en liten mängd (cirka 10 ng) av extraherat DNA. De fem olika typer av virus som vi screenade för har alla RNA-baserade genom. För att analysera för dessa virus konverterades först en mindre mängd (cirka 10 %) av extraherat RNA till cDNA som sedan användes som templat i analyserna (motsvarande cirka 10 ng RNA per analys). Återstående DNA, RNA och cDNA från undersökningen förvaras i -20°C på SLU som referensmaterial för eventuella framtida undersökningar och analyser.

Ytterligare två analyser utfördes per humla. Innan extraktionen blandades två externa referensnukleinsyror med den buffert som användes för extraktion: en som referens för DNA-analyser och en annan för RNA-analyser. Mängden av dessa referensnukleinsyror som fanns kvar efter att provet (individuella humlor) processats till DNA, RNA och cDNA bestämdes på exakt samma sätt som nukleinsyror tillhörande de patogener och parasiter som provet undersöktes för. Förhållandet mellan den kända mängden referensnukleinsyror som tillsattes innan extraktionen och mängden som sedan detekterades i PCR-reaktionen användes som en omvandlingsfaktor för att uppskatta total mängd av varje patogen eller parasit i den undersökta humlan. Omvandlingsfaktorn är unik för varje prov och kan variera så mycket som 100-falt mellan prov. Detta betyder att teknisk och metodologisk variation i de tidiga analysstegen (homogenisering av provet, nukleinsyreextraktion och cDNA-omvandling) är orsak till en stor del av variationen i kvantitativa data, vilket bara kan upptäckas och korrigeras med hjälp av sådana externa referensnukleinsyror (Forsgren et al. 2017).

Fyra olika kategorier av data har samlats för varje humla:

1. Landskaps- och insamlingsdata (datum, tid, GPS-koordinater, odlingssystem, fältpar, avstånd från odlingens mittpunkt, väder, temperatur, landskapsklassificering, blomresurser, användning av införda humlor, humleproducent samt förekomst och omfattning av biodling i området)
2. Data om humlor (art, vikt, ITD och kön)
3. Laboratoriedata om genomförande, resultat och kvalitetskontroll av de olika molekylära protokollen
4. Data om förekomst och mängd av de tio parasiterna och patogenerna, räknade per bi

4.3.5 Öppen screening

Öppen screening representerar nästa generation av screeningsteknologi och är baserad på tre av den senaste tidens större utvecklingar inom molekylärbiologin: massiv parallell sekvensering (*Next Generation Sequencing*, NGS), gigantiska databaser (offentliga) med genetisk information, och datorresurser med hög kapacitet.

Istället för att välja ut ett fåtal specifika genetiska sekvenser för screening så tillåter detta tillvägagångssätt sekvensering av allt genetiskt material i ett prov. Detta är en metodik som även benämns som metagenomisk eller sekvensbaserad detektion. Genom att jämföra de genetiska sekvenserna som erhålls mot liknande sekvenser i genetiska databaser är det möjligt att avgöra vad ett prov innehåller. Detta kräver dock vanligen användning av halvautomatisk bioinformatisk mjukvara, datorresurser för höghastighetsberäkning och stora datalagringsmöjligheter. Styrkan med teknologin är att varje nukleinsyramolekyl i ett prov, inklusive de från patogener, parasiter och kommensala organismer, i princip kan identifieras och kvantifieras på samma nivå och upplösning som med PCR. Vidare så kommer sekvensdatan från öppen screening att fortsätta vara värdefull eftersom den alltid kan jämföras mot uppdaterade databaser med mer och bättre information. Istället för att lagra själva proverna som vid riktad screening, eller som komplement till detta, så lagras här datan för återscreening i framtiden.

För den öppna screeningen så valde vi att fokusera på RNA istället för DNA. Anledning till detta är att de flesta virus i världen har en arvsmassa bestående av RNA som därför inte kan detekteras genom screening av DNA. Däremot producerar alla organismer med arvsmassa bestående av DNA (såsom bin, bakterier och parasiter) fortfarande mRNA vid gentranskription, vilket tillåter att de åtminstone delvis kan identifieras med hjälp av RNA-prover.

Tre poolade RNA-prover förbereddes för öppen screening:

1. Ett prov bestående av material från alla 35 RNA-proverna tillhörande humlorna från de fem öppnade kolonierna från leverantör 1.

2. Ett prov bestående av material från alla 35 RNA-proverna tillhörande humlorna från de fem öppnade kolonierna från leverantör 2.
3. En sammansättning av RNA-prover från 10 vilda svenska humlor (en var av trädgårdshumla, ängshumla, mosshumla, haghumla, åkerhumla, gräshumla, hushumla, stenhumla, mörk jordhumla och ljus jordhumla) insamlade från sju kontrollandskap.

De första två proverna användes för identifiering av vilka nya virus som kan finnas närvarande i leverantörernas uppfödningsanläggningar. Det tredje provet användes för att identifiera vilka nya virus som kan finnas närvarande i vilda svenska humlor från områden utan införda humlor. Samtliga RNA-prover skickades till SciLifeLab-anläggningen i Uppsala för en så kallad IonTorrent sekvensering, vilket totalt genererade 7 393 463 individuella sekvenser, så kallade "reads", vilka var jämnt fördelade mellan de tre proverna.

Den bioinformatiska analysen bestod av kvalitetskontroll, trimning, homologisökning mot databas samt visualisering av resultat. Syftet var att identifiera vilken organism som varje sekvens mest troligen tillhör och att kvantifiera och visualisera denna information taxonomiskt. Kvalitetskontroll av erhållna "reads" utfördes med mjukvaran FastQC och resultaten användes för att avlägsna tvivelaktiga baspar i början och slutet av varje sekvens med hjälp av trimningsmjukvaran Fastx. Homologisökning för taxonomisk klassificering av trimmade "reads" skedde sedan med hjälp av mjukvaran DIAMOND som jämförde sekvenserna på proteinnivå mot en lokal databas baserad på den allmänt tillgängliga informationen från "The National Center for Biotechnology Information (NCBI)". Resultaten exporterades sedan i ett format som möjliggjorde visualisering och interaktiv undersökning av olika taxonomiska grupperingar med mjukvaran Krona (Ondov m.fl. 2011).

4.3.6 Statistisk analys

Den generella förekomsten av parasiter och patogener och storlek hos olika arter av vilda humlor och hos införda humlor skattades med statistiska modeller. Därefter testade vi om förekomsten av parasiter och patogener berodde på förekomsten av införda humlor, samt om de införda humlorna användes i växthus eller i odlingar i tunnlar/friland. Förekomst av parasiter och patogener i införda samhällen skattades per uppfödningsanläggning.

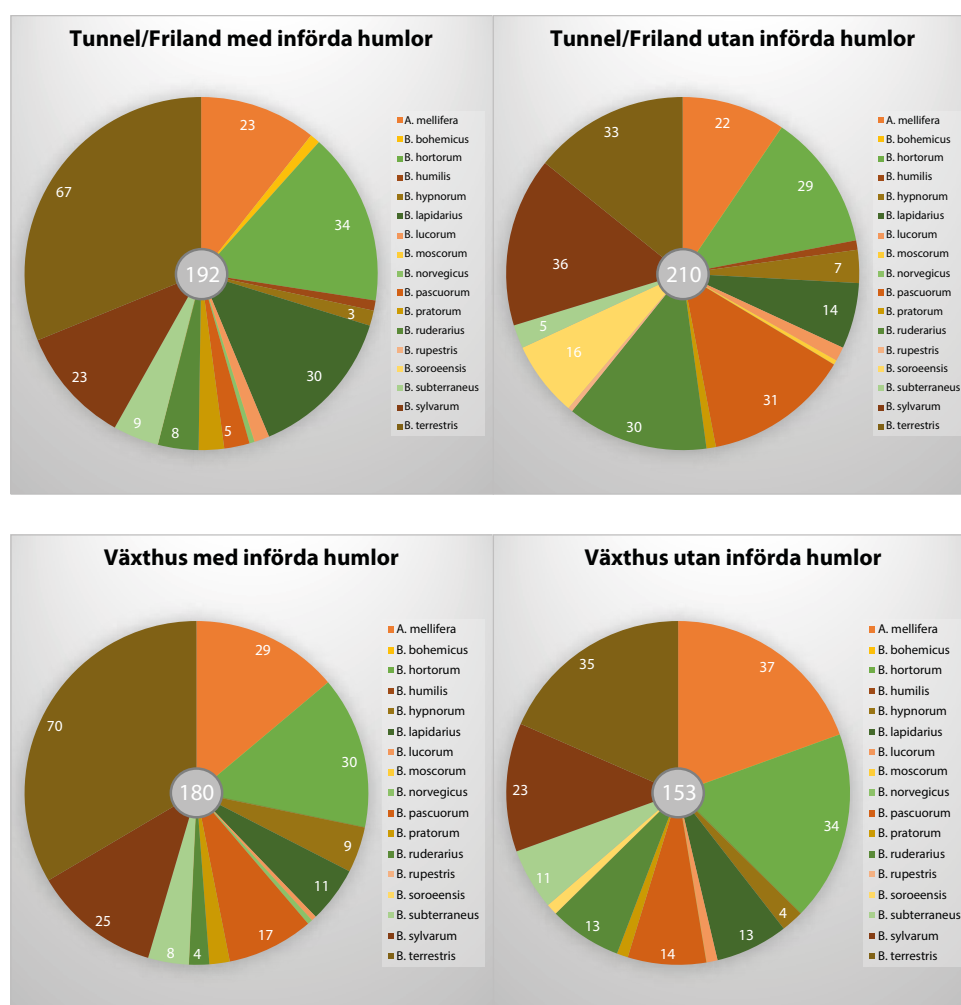
Förekomst och storlek skattades för införda jordhumlor, fältfångade jordhumlor och övriga humlor var för sig. Effekter av behandling, det vill säga förekomst av införda humlor och odlingstyp (växthus eller tunnel/friland), skattades genom att jämföra förekomst i landskapspar med liknande landskapskaraktärer. Prevalens skattades med logistisk regression. Mängd skattades med en så kallad hurdlemodell, som kombinerar information på individnivå om parasiten eller patogenen förekommer, och om den gör det, hur stor mängd av den som finns. I denna analys antogs mängden vara lognormalfördelad. Storlek skattades med normal regression.

En utförlig beskrivning av de statistiska modellerna finns i [bilaga 1](#).

4.4 Resultat – insamlade arter och skattad förekomst av sjukdomar och skadegörare

4.4.1 Översikt av arter i insamlat material 2018

Vi samlade in många olika arter av humlor samt honungsbin i Skåne och Blekinge 2018 ([figur 4.5](#)).

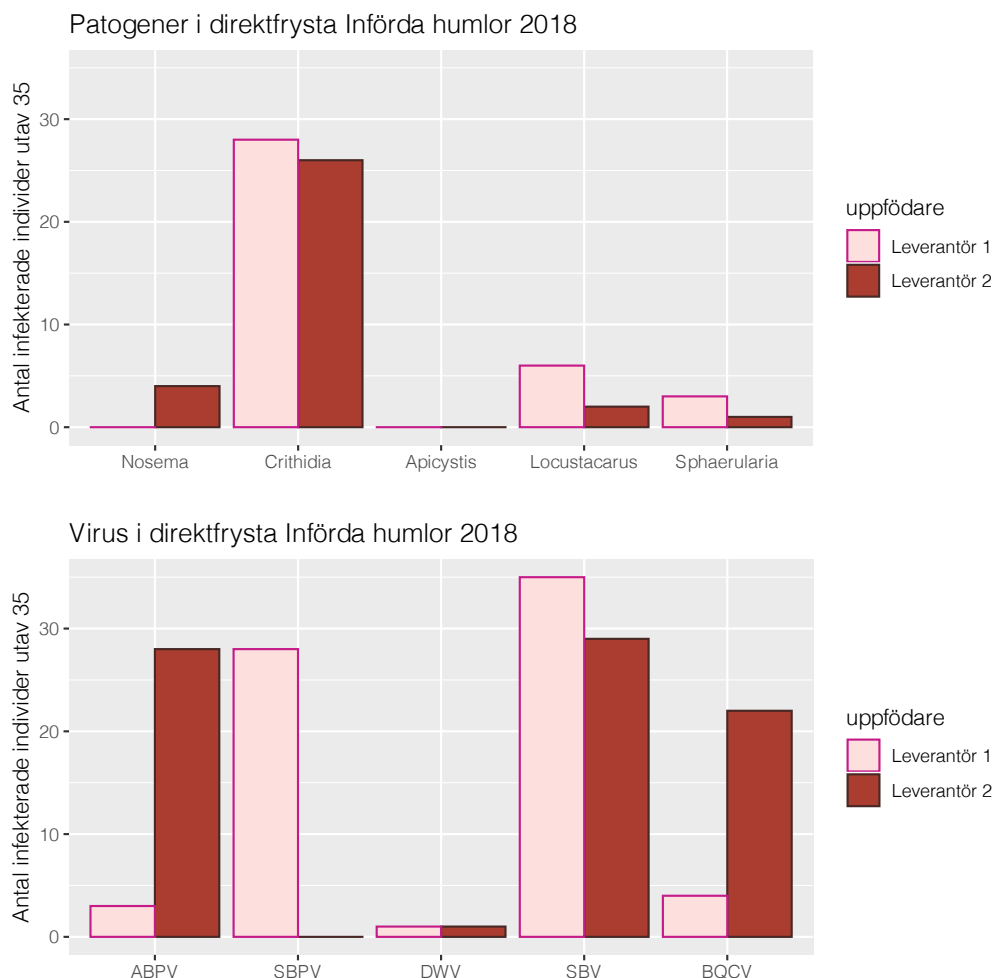


Figur 4.5. Fördelningen av olika arter av humlor och honungsbin (*A. mellifera*) i olika undersökta landskap i screening i fält i Skåne och Blekinge under 2018. Data från insamlingsomgång 1. Alla humlor har artbestämts med hjälp av streckkodsanalys.

Mellan 1 till 26 jordhumlor och 6 till 36 övriga humlor samlades in i varje landskap 2018.

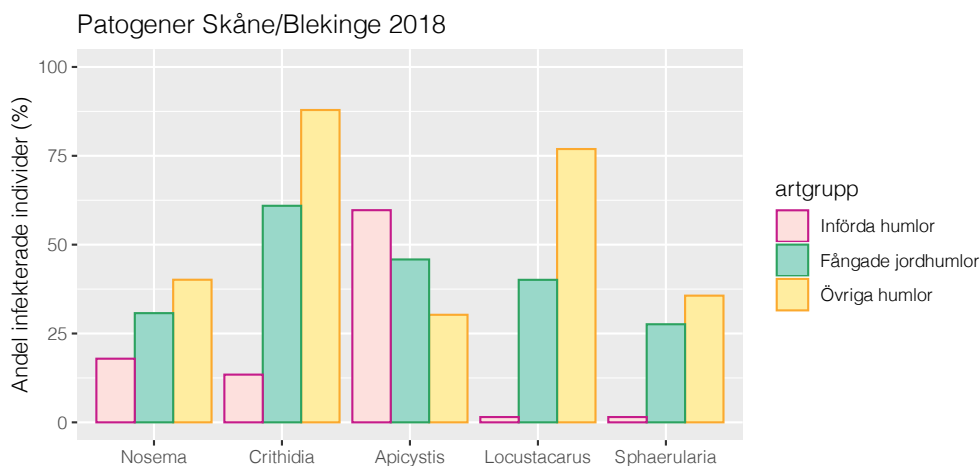
4.4.2 Förekomst av parasiter och patogener i den riktade screeningen

I inköpta humlesamhällen från två uppfödningsanläggningar påträffades fyra av fem screenade parasiter och samtliga screenade virus, med olika förekomst ([figur 4.6](#)). *Apicystis* fanns inte i något prov. *Nosema* fanns inte hos humlor från leverantör 1. SBPV fanns inte hos humlor från leverantör 2. Det fanns också skillnader i förekomst och mängd av patogener mellan de fem humlesamhällena från varje producent. I fyra av fem humlesamhällen från leverantör 1 förekom till exempel SBPV i samtliga sju humlor som analyserades medan ingen humla i det femte samhället var infekterad med SBPV. Förekomsten av ABPV varierade på liknande sätt i humlesamhällena från leverantör 2, där tre av fem samhällen hade mycket hög ABPV-förekomst medan nästan inget ABPV påträffades i humlorna från de resterande två samhällena ([figur 4.6](#)). Det går inte utifrån denna undersökning att dra någon slutsats om eventuella skillnader mellan uppfödningsanläggningarna eftersom vi inte har data från olika inköpstillfällen och därmed inte har någon information om variation över tid.

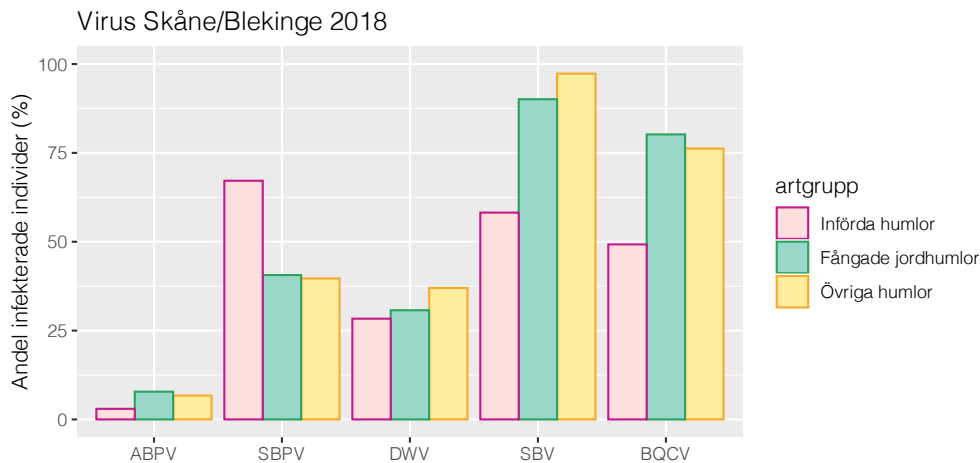


Figur 4.6. Översikt av data från screenade införda och direktinfryssta samhällen inköpta i maj 2018 från två uppfödningsanläggningar. Staplarna visar antal humlor (utav totalt 35) med förekomst av parasit eller patogen.

Screeningen av införda humlor från humlesamhällen som varit ute i fält i 4–5 veckor och som samlades in i fältstudien i Skåne och Blekinge visade att samtliga fem screenade parasiter och samtliga screenade virus förekom i alla humlesamhällena både hos de som satts ut i växthus och de som satts ut på friland eller i tunnel ([figur 4.7a](#) och [figur 4.7b](#)).



Figur 4.7a. Andel humlor infekterade med parasiter hos införda samhällen som varit ute i fält i 4–5 veckor, fältfångade jordhumlor och fältfångade övriga humlor i screeningar utförda i Skåne och Blekinge 2018.

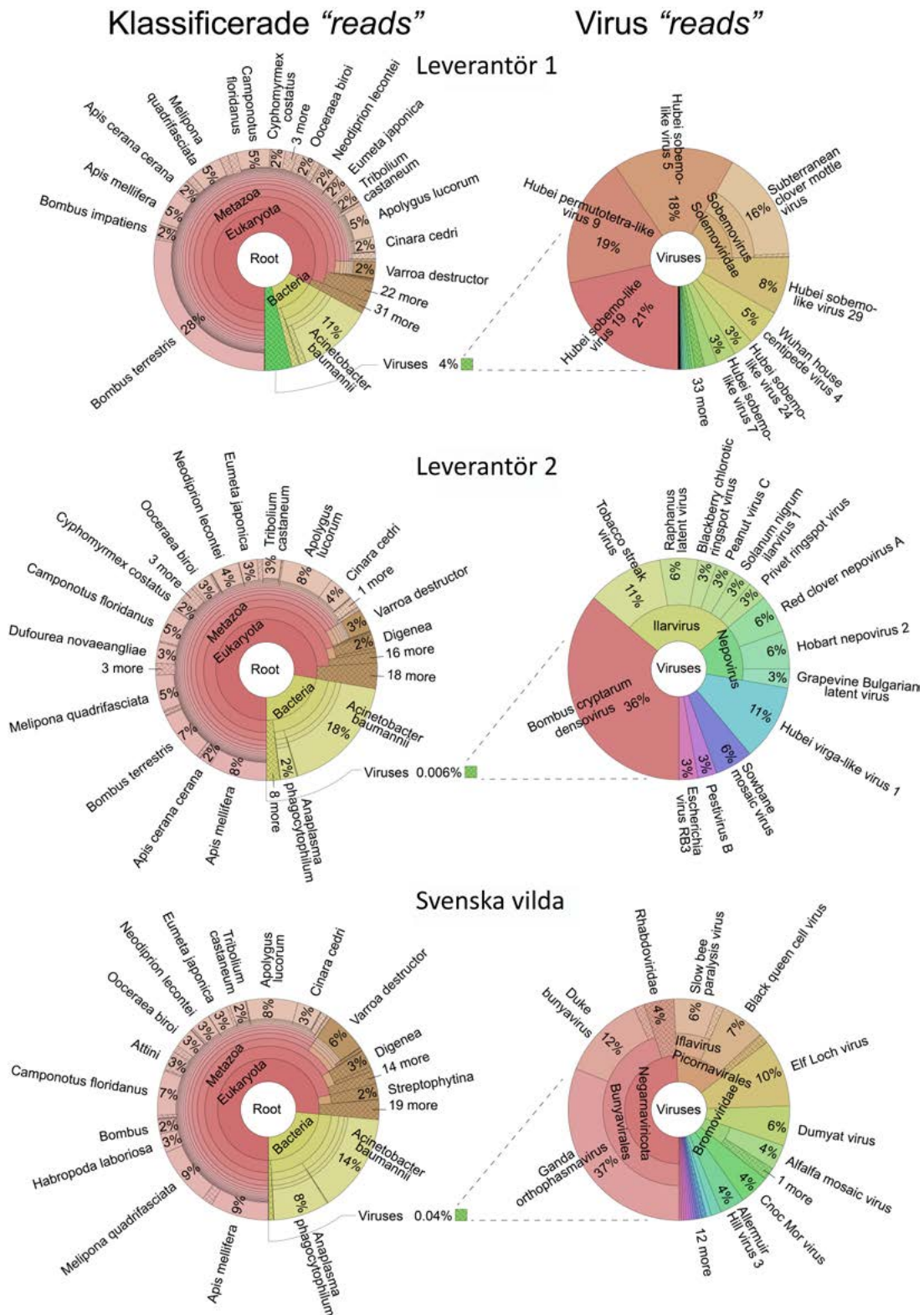


Figur 4.7b. Andel humlor infekterade med virus hos införda samhällen som varit ute i fält i 4–5 veckor, fältfångade jordhumlor och fältfångade övriga humlor i screeningar utförda i Skåne och Blekinge 2018.

Screeningen av införda och vilda humlor visar att förekomsten av parasiter och patogener som redan finns i Sverige idag är lika stor eller högre hos vilda populationer av humlor jämfört med nyss införda humlor ([figur 4.7a](#) och [figur 4.7b](#)). En mer ingående statistisk analys av förekomst av de tio screenade parasiterna och patogenerna finns i avsnittet som tar upp effekter av införda humlor på vilda humlor ([kapitel 5](#)).

4.4.3 Förekomst av parasiter och patogener i öppna screeningen

Sammantaget så kunde bara omkring 25 % av de ”reads” som sekvenseringen genererade unikt identifieras och klassificeras taxonomiskt: 18 % för leverantör 1, 27 % för leverantör 2 och 32 % för svenska vilda humlor ([figur 4.8](#)). Av de ”reads” som kunde identifieras så utgjordes den stora majoriteten av sekvenser som kunde härledas till humlor och bin. Därefter följde bakterier och parasiter medan enbart en mindre mängd identifierades som tillhörande virus ([figur 4.8](#), vänster sida). Dessa övergripande taxonomiska grupper kan sedan även undersökas individuellt för att mer exakt ta reda på vilka organismer som ett visst antal ”reads” har klassificerats som. Detta har exempelvis utförts för virusgrupperingen för de olika proverna ([figur 4.8](#), höger sida). Resultaten från den öppna screeningen och deras tolkning samt möjliga relevans för hälsan hos humlor diskuteras i [kapitel 4.5](#).



Figur 4.8. Diagram som visar taxonomisk uppdelning av klassificerade "reads" från humlor från: öppnade samhällen från leverantör 1 (överst), öppnade samhällen från leverantör 2 (mitten) samt från vilda svenska humlor från landskap utan införda humlor (botten). Uppdelning av samtliga identifierade "reads" syns till vänster, där reads från virus (grön), bakterier (gul) eller eukaryotiska parasiter (brun) skiljer sig från majoriteten av reads som tillhör humlor (röd). Vidare taxonomisk uppdelning av enbart virus reads syns till höger.

4.5 Det vi inte vet! Okända skadegörare i införda humlor?

Den öppna screeningen gav oss möjlighet för att analysera och identifiera möjliga ”okända” patogener och parasiter.

Resultatet av analysen blev lite både och. För det mesta finns det inte mycket skillnad mellan leverantörerna av införda humlor och inhemska svenska humlor i mikrobiomets kvalitativa sammansättning. Det vill säga att de flesta organismer som finns i odlade humlor finns också i vilda och tvärtom. Men det fanns enstaka virus i införda humlor som inte finns i svenska humlor och några andra virus i svenska humlor som inte finns i införda humlor. Det är svårt att säga något om konsekvenserna av dessa fynd eftersom vi inte har någon kunskap alls om dessa virus. Vi vet inte om det är humlan som är värd för viruset, eller om viruset härstammar från pollen eller en av humlans parasiter. Vi vet inte heller om, hur eller hur ofta viruset överförs till andra värdar. Det är dock en viktig kunskapslucka som visar på behovet av fortsatt arbete med biologiska hot mot pollinatörer.

Det är inte sannolikt att de okända virusen utgör något hot mot de vilda svenska humlorna, men exemplet med DWV ([avsnitt 3.2.1](#)) visar att ett icke-problem kan bli ett problem när det uppstår en ny situation (för DWVs del spridningen av var-roakvalstret). Resultaten från den öppna screeningen är summerat i [tabell 4.2](#) och 4.3.

4.5.1 Saknad taxonomisk klassifikation

Bara 25 % av alla ”reads” kunde härledas till en viss organism: 18 % för leverantör 1, 27 % för leverantör 2 och 32 % för svenska vilda bin. Detta beror i första hand på att arvsmassan för många mikroorganismer ännu inte är helt kartlagd eller är totalt okänd. Det betyder att ingen av deras ”reads” som finns med i data kan klassificeras, och ligger kvar i de resterande 75 % oklassificerade ”reads”. Ett tydligt exempel på detta är att *Nosema*, *Apicystis* och *Crithidia*, som detekterades med den riktade screeningen, inte identifierades med öppen screening. Flera stora initiativ ligger för närvarande i startgroparna för att sekvensera arvsmassan hos alla levande organismer på jorden: växter, djur, insekter, bakterier och virus. I framtiden, när denna information blir tillgänglig i offentliga databaser, så kommer det att bli möjligt att klassificera många fler ”reads” från de undersökta proverna.

4.5.2 Felaktig klassifikation

Information är bara användbar så länge den är korrekt. Ett exempel på felaktig klassificering är att omkring 2/3 av alla ”reads” i gruppen med humlor klassificerats som tillhörande andra bin eller insekter än mörk jordhumla (*Bombus*

terrestris), vilket är den humleart som föds upp av båda leverantörerna. Till skillnad från exemplen i stycket ovan så är hela arvsmassan för *Bombus terrestris* både fullständigt kartlagd och tillgänglig och den borde därför vara 100 % identifierbar. Denna felaktiga klassificering av "reads" till andra bi- och insektsarter kan observeras i alla de tre undersökta proverna och med ungefär samma proportioner, vilket indikerar att felet är konsekvent och har ett gemensamt, systematiskt ursprung. Av samma anledning är många "reads" för parasiter och bakterier felklassificerade till dessa få som är fullständigt sekvenserade, oftast på grund av medicinskt eller veterinärvetenskapligt intresse. Ett tydligt exempel är de "reads" som i [figur 4.8](#) tillskrivs *Varroa destructor*. Varroa är inte ett kvalster för humlor men är helsekvenserat (Techer m.fl. 2019) och tar därmed åt sig "reads" av humlornas riktiga, ännu osekvenserade, kvalster. Felaktiga klassificeringar är ett välkänt problem för metoden och åtgärdas med bättre sekvenserings- och analysmetoder och mer kompletta databaser.

4.5.3 Införda humlor och svenska vilda humlor

Eftersom tekniska, bioinformatiska och databasrelaterade problem påverkar de undersökta proverna på ett likvärdigt sätt så är det ändå möjligt att dra en del försiktiga slutsatser utifrån en generell jämförelse av de undersökta proverna. Den första är att samma typer av parasiter och bakterier förekommer i alla tre proverna. Den andra är att bakterier utgör den största delen av det RNA som inte är relaterat till värdorganismen. Det stora flertalet av dessa bakterier är dock inte skadliga utan bidrar till den naturliga och nyttiga balansen i humlans mikrobiom.

Eukaryota parasiter utgör den näst mest vanligt förekommande kategorin efter bakterier och domineras av kvalster, plattmaskar och rundmaskar. De svenska vilda humlorna hade överlägset mest av dessa och humlorna från leverantör 1 minst.

Det mest överraskande resultatet är att bara en mycket liten del av all "reads" klassificeras som virus trots att metodiken borde främja detektion av RNA-virus. De flesta av de nya virus som detekterades i denna undersökning upptäcktes nyligen i ett fåtal större projekt för kartläggning av virus: hos ett stort antal insekter/ryggradslösa arter i Kina (Shi m.fl. 2016), hos fästingar i USA (Tokarz m.fl. 2018), hos humlor i Skottland (Pascall m.fl. 2020), hos vilda solitärbin och humlar i Belgien (Schoonvaere m.fl. 2016; 2018) och hos honungsbin i Australien (Roberts m.fl. 2018).

Av de tre undersökta proverna, innehöll humlorna från leverantör 1 överlägset mest virus, både sett till kvantitet och antalet olika virusarter. Det finns också en kvalitativ skillnad, där de virus som detekterades i svenska vilda humlor mest liknar de som hittats i skotska humlor (Pascall m.fl. 2020), medan de som detekterades i proverna från leverantör 1 mest liknar de som hittats i kinesiska ryg-

radslösa djur, eller deras mat (Shi m.fl. 2016). För båda proverna noterades även "reads" tillhörande olika fästingsvirus (Tokarz m.fl. 2018) och ett virus förknippat med olika parasitsteklar. SBPV, BQCV, DWV and SBV detekterades i prover med svenska vilda humlor, vilket var förväntat från den riktade screeningen. De få virus som hittades i humlorna från leverantör 2 är till största del växtvirus samt ett densovirus specifikt för humlor (Schoonvaere m.fl. 2018).

Tabell 4.2. Sammanfattning av resultatet från den öppna screeningen. Tabellen visar andelen "reads" som taxonomiskt kunde klassificeras till en unik organism. Notera att de virus som identifierades delades upp med avseende på värdorganism och anges som antal unika insektsvirus, växtvirus och bakteriofager.

Totalt	Leverantör 1	Leverantör 2	Svensk vilda
"Reads"	2 615 564	2 402 352	2 375 547
Klassificerade "Reads"	467 435	643 922	748 501
% Klassificerade	17,9%	26,8%	31,5%

Klassificerade	Leverantör 1	Leverantör 2	Svensk vilda
% Humlor/bin	76,0%	66,0%	61,0%
% Parasiter	7,0%	11,9%	15,0%
% Kvalster	2,0%	3,0%	6,0%
% Plattmaskar	2,3%	3,0%	3,5%
% Rundmaskar	<0,1%	2,1%	0,7%
% Protozoer	<0,1%	0,8%	0,7%
% Svamp	<0,1%	1,0%	0,6%
% Bakterier	13,0%	22,0%	23,9%
% Acinetobacter baumannii	11,0%	18,0%	14,0%
% Anaplasma phagocytophilum	<0,1%	2,0%	8,0%
% Virus	4,0%	<0,1%	<0,1%
Insektsvirus (antal)	38	3	23
Växtvirus (antal)	2	10	5
Bakteriofager (antal)	1	1	1

Tabell 4.3. Klassifikation (namn och familj) av de olika virus som upptäcktes i den öppna screeningen av leverantör 1, leverantör 2 och vilda svenska humlor. Färgen visar om virus huvudsakligen infekterar växter (grön), djur (insekter, röd), bakterier (grå), eller om det ännu är okänt (gul).

Leverantör 1	
Virus	Familj
<i>Cotesia sesamiae</i> bracovirus	Bracoviridae
Densovirus	Densoviridae
Pestivirus	Flaviviridae
<i>Ixodes scapularis</i> associated virus 1	Luteo-like
<i>Ixodes scapularis</i> associated virus 2	Luteo-like
<i>Varroa destructor</i> virus 3	Luteo-like
Various	Luteoviridae
<i>Brukholderia</i> phage Bups	Myoviridae
Hubei partiti-like virus 34	Partitiviridae
Beihai sobemo-like virus 27	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 5	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 6	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 7	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 11	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 12	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 16	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 20	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 21	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 24	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 36	Solemoviridae
Hubei sobemo-like virus 47	Solemoviridae
Hubei solemo-like virus 19	Solemoviridae
Hubei solemo-like virus 29	Solemoviridae
Sanxia sobemo-like virus 2	Solemoviridae
Subterranean clover mottle virus	Solemoviridae
Wenzhou sobemo-like virus 1	Solemoviridae
Wenzhou sobemo-like virus 4	Solemoviridae
Hubei permutotetra-like virus 9	Tetraviridae
Dumyat virus	Totiviridae/Chrysoviridae
Hubei virga-like virus 2	Virgaviridae
Hubei virga-like virus 1	Virgaviridae
Hubei diptera virus 12	(unclassified - RNA)

Hubei mosquito virus 2	(unclassified - RNA)
Renna virus	(unclassified - RNA)
Shuangao insect virus 9	(unclassified - RNA)
Store beach virus	(unclassified - RNA)
<i>Varroa destructor</i> virus 5	(unclassified - RNA)
Wuhan heteroptera virus 2	(unclassified - RNA)
Wuhan house centipede virus 4	(unclassified - RNA)

Leverantör 2

Virus	Familj
Blackberry chlorotic ringspot virus	Bromoviridae
Peanut virus C	Bromoviridae
Privet ringspot virus	Bromoviridae
Raphanus latent ilarvirus	Bromoviridae
Solanum nigrum virus	Bromoviridae
Tobacco streak ilarvirus	Bromoviridae
<i>Bombus cryptarum</i> densovirus	Densoviridae
Pestivirus B	Flaviviridae
<i>Escherichia</i> virus rb3	Myoviridae
Grapevine Bulgarian latent virus	Nepoviridae
Hobart nepovirus	Nepoviridae
Red clover nepovirus	Nepoviridae
Sowbane mosaic virus	Solemoviridae
Hubei virga-like virus	Virgaviridae

Svenska vilda

Virus	Familj
Alfalfa mosaic virus	Bromoviridae
Asparagus virus-2	Bromoviridae
Raspberry bushy dwarf virus	Bromoviridae
Bombus-associated bunyavirus	Bunyaviridae
Duke bunyavirus	Bunyaviridae
Ganda orthophasmavirus	Bunyaviridae
Black queen cell virus	Dicistroviridae
Pestivirus A	Flaviviridae
Allermuir Hill virus 1	Hepeviridae/Virgaviridae
Allermuir Hill virus 2	Hepeviridae/Virgaviridae
Allermuir Hill virus 3	Hepeviridae/Virgaviridae
Deformed wing virus	Iflaviridae

Sacbrood virus	Iflaviridae
Slow bee paralysis virus	Iflaviridae
<i>Brukholderia</i> phage Bups	Myoviridae
<i>Vespa velutina</i> -associated partiti-like virus 2	Partitiviridae
(various)	Parvoviridae
Bombus-associated Reovirus 1	Reoviridae
Elf Loch virus	Reoviridae
Blacklegged tick rhabdovirus	Rhabdoviridae
<i>Diachasmimorpha longicaudata</i> rhabdovirus	Rhabdoviridae
Withyham virus	Rhabdoviridae
Cherry leaf roll virus	Secoviridae
Dumyat virus	Totiviridae/Chrysoviridae
Bloomfield virus	(unclassified - RNA)
Cnoc Mor virus	(unclassified - RNA)
Fairlight virus	(unclassified - RNA)
Hubei odonate virus 9	(unclassified - RNA)
Wild carrot motley leaf virus	(unclassified - RNA)

4.5.4 Vad betyder detta för svenska humlors hälsa?

Sammantaget bekräftar den öppna screeningen till största del de generella slutsatserna från den riktade screeningen genom att påvisa att de typer av parasiter och patogener som finns i införda odlade humlor redan finns i vilda svenska humlor (från landskap utan införda humlor) och med ungefär samma nivåer. Utifrån denna generella observation finns det ingen anledning att misstänka att det kommer att finnas stora skillnader mellan de tre proverna beträffande den kvalitativa fördelningen av oklassificerade ”reads”.

Undantaget är de virus för vilka de tre proverna uppvisar tydliga olikheter i kvalitativ fördelning. Vissa av dessa har en tydlig koppling till den mat som humlorna konsumerar snarare än själva humlan. De virus i provet från leverantör 1 som kunde relateras till dessa funna i den kinesiska studien om virus hos insekter och ryggradslösa djur domineras av virusfamiljer som infekterar växter, vilket gör det möjligt att de har ett växtbaserat ursprung istället för insekter. Vissa virus har också hittats i norska fästingar (Pettersson m.fl. 2018). Viruserna är därmed inte begränsade till varken Kina eller växtätande insekter; det råkar bara vara där de först upptäcktes. På samma sätt kan de virus som är associerade med fästingar och parasitsteklar i prover från leverantör 1 och svenska vilda humlor i själva verket tillhöra humleparasiter snarare än själva humlan. Det är även möjligt att dessa virus kan ha ett flertal olika värdar. Tills vi har mer information om de verkliga värdarna för alla dessa virus kommer denna information att förbli spekulativ. Av detta skäl är kanske *Bombus cryptarum* densovirus det mest

intressanta ”nya” viruset, vilket detekterades i provet från leverantör 2 trots väldigt låga nivåer (enbart 13 klassificerade ”reads” utav 643 922). Provet från leverantör 2 har också 74 ”reads” klassificerade som ospecifikt densovirus. Densovirus är insektspecifika och har kopplats till ihållande och ganska dödliga sjukdomsutbrott i kommersiellt uppfödda syrsor (Szelei et al. 2011; Semberg et al. 2019). De utgör en naturlig del av insekters virom, både hos syrsor och andra insekter, inklusive skogsjordhumla (*Bombus cryptarum*) (Schoonvaere et al. 2018), där de i allmänhet håller en låg profil. Deras närvaro i humlor är inte i sig själv problematisk, inte ens i svenska vilda humlor (om de skulle upptäckas där), men den kan bli det i samband med intensiv uppfödning om erfarenheterna från *Acheta domesticus* densovirus vid uppfödning av syrsor är typiska för densovirus i allmänhet.

4.5.5 Vad betyder detta för hälsorelaterad screening och diagnostik för humlor?

Styrkan av sekvensbaserad screening är tydlig. Det gör det möjligt att samtidigt screena efter alla mikroorganismer i ett prov, snarare än bara ett utvalt fåtal, och dessutom identifiera nya. Tekniken blir mer kostnadseffektiv i förhållande till riktad screening när det ska screenas för många patogener och parasiter. RNA-sekvensering är för närvarande inte lämplig för parasiter och bakterier, åtminstone inte tills databaserna med referenssekvenser har uppdaterats och problemen med saknad taxonomisk klassifikation och felaktig klassifikation har blivit lösta. För dessa organismer är en screeningsstrategi baserad på streckkodsanalys av DNA i nuläget mycket mer lämplig och kostnadseffektiv. RNA är dock en mycket mer intressant och mångsidig molekyl att undersöka än DNA eftersom man då även kan identifiera vilka gener hos både värdorganism och patogen som är aktiva, vilka immunvägar som aktiveras, hur en värd svarar på infektion och hur patogener och mikroorganismer interagerar med varandra. Det kan därför ge svar på frågor om förhållandet mellan humlor och dess mikroorganismer och inte bara mikroorganismens närvaro eller mängd.

5 Effekter av införda humlor på vilda humlor

I detta avsnitt beskriver vi de mätbara effekter införda humlesamhällen har på vilda humlor i vår fältundersökning. Vi beskriver hur förekomsten av patogener och parasiter påverkas i de vilda humlepopulationerna och hur de vilda humloras storlek påverkas. Dessutom beskriver vi effekten av införda humlesamhällen på förekomsten av vilda jordhumlor och övriga humlor.

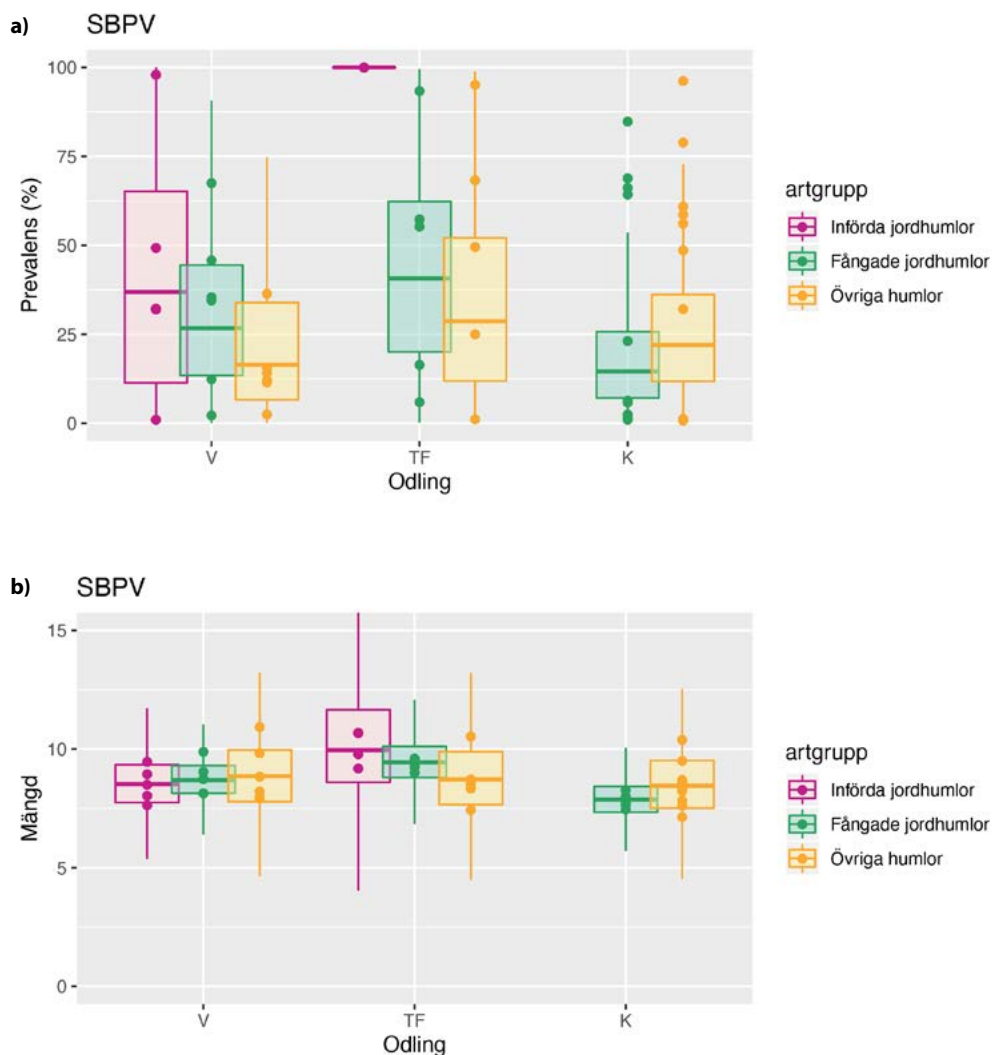
5.1 Effekt av införda humlesamhällen på förekomst av patogener eller parasiter hos vilda humlor

För varje artgrupp (införda jordhumlor, fältfångade jordhumlor och övriga humlor) skattades prevalens (förekomst) av de tio screenade parasiterna och patogenerna i landskap med och utan införda humlesamhällen ([figur 5.1](#) – se även [bilaga 1](#)). Vi fann en del skillnader i prevalens eller mängd i landskap med och utan införda humlesamhällen, men i de flesta fall var dessa skillnader inte statistiskt säkerställda ([figur 5.1](#) och [bilaga 1](#)).

Eftersom resultaten är komplexa och omfattande redovisar vi inte alla i den löpande texten, utan ger en sammanfattande redovisning i [tabell 5.1](#). Som exempel visar vi här resultat för SBPV, som är ett virus med relativt hög prevalens. Viruset fanns till exempel hos samtliga individer av införda jordhumlor från samhällena utplacerade i tunnel/frilandsodling ([figur 5.1a](#), **lila punkter**). Förekomsten var lägre i utplacerade jordhumlor i växthusodlingar och varierade dessutom mycket mellan olika odlingar. SBPV förekommer mycket i samhällena från leverantör 1 ([figur 4.6](#)) och alla förutom ett av de utplacerade samhällena var från leverantör 1. Ingen SBPV påträffades i det enda utplacerade samhället från leverantör 2, vilket överensstämmer med analyserna av de infrysta samhällena från samma leverantör ([figur 4.6](#)). Förekomsten av SBPV varierade mycket mellan enskilda infrysta samhällen från leverantör 1, vilket också syntes i de utplacerade samhällena. Förekomsten av SBPV var också högre i fångade jordhumlor i tunnel/friland och växthusodlingar jämfört med jordhumlor från kontrollandskap ([figur 5.1a](#)). SBPV är inte lika vanlig i övriga humlearter som i jordhumlor i växthus- eller tunnel/frilandsodling men i kontrollandskap är SBPV däremot vanligare i övriga humlearter än i jordhumlor. Detta kan också förklaras av den höga förekomsten av SBPV i samhällena från leverantör 1. Bland humlearter förekommer SBPV mest hos trädgårdshumlan (*B. hortorum*) (McMahon m.fl. 2014), som utgör en stor del av de övriga humlor i alla landskap ([figur 4.5](#)).

Även om SBPV förekommer mindre i övriga humlor än i införda och fångade jordhumlor i växthuslandskap, är den genomsnittliga mängden av SBPV en aning högre i de övriga humlorna. För övriga humlor fanns det dessutom ingen

stor skillnad i den genomsnittliga mängden SBPV mellan landskapen med införda humlor och kontrolllandskapen.

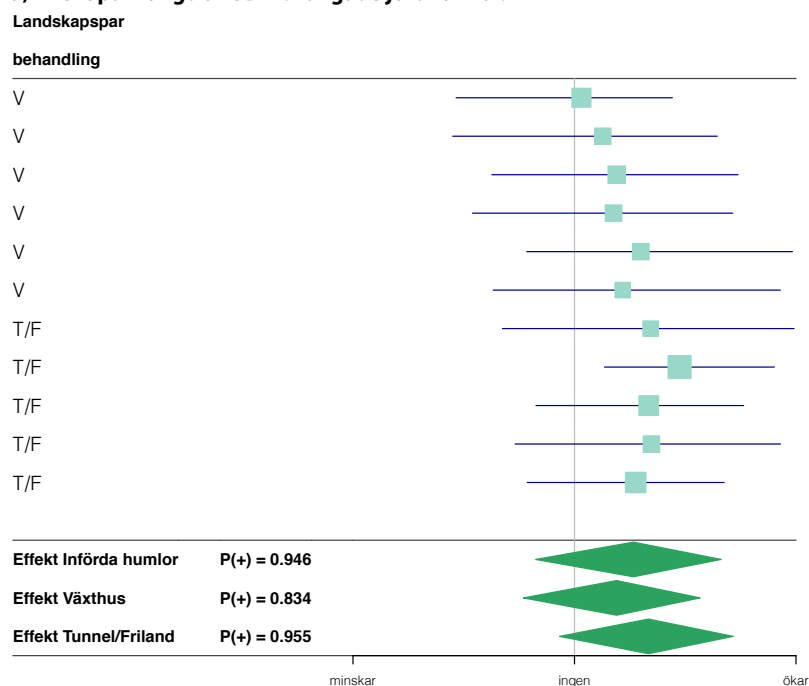


Figur 5.1. Skattad a) prevalens och b) genomsnittlig mängd av SBPV hos humlor från tre artgrupper i landskap med införda jordhumlor för odling i växthus (V), tunnel/friland (TF) eller kontroll (K). Boxar och vertikala linjer beskriver förväntad variation i prevalens och mängd (2,5 %, 25 %, 50 %, 75 %, 97,5 %-iga percentiler) i ett landskap, och prickar visar skattningar för varje studielandskap.

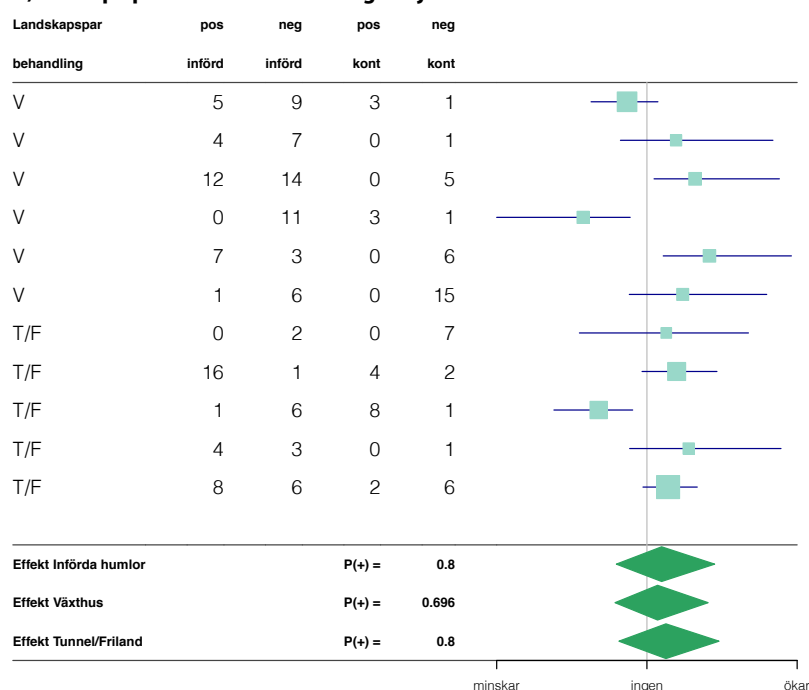
Den stora variationen i skattad prevalens mellan landskap med olika odlingsformer kan bero på skillnader i landskapets omgivning, men även på att man har få antal individer från varje landskap vilket leder till osäkra skattningar. För att hantera en stor spridning mellan landskap användes i fältförsöket en parad försöksdesign, som syftar till att ta bort variation som beror på landskap.

Fältförsöket visar att det fanns få skillnader i förekomst av SBPV hos vilda humlor som kan förklaras av närvaro av införda humlor eller odlingstyp ([figur 5.2](#) och [5.3](#)). Det finns inget starkt stöd för att prevalens av SBPV ska vara högre i landskap med införda humlor (mätt som beräknad sannolikhet för att "behandlingen"/ införda humlor ökar prevalens). Mängden av SBPV var något högre hos fältfångade jordhumlor i tunnel/frilandsodling jämfört med kontroll men inte tillräckligt stor för att anses vara stark ($P(+) < 0.95$) ([figur 5.2b](#)). Det finns starkt stöd ($P(+) > 0.99$) för en ökad förekomst (prevalens) av SBPV hos införda humlor som används i tunnel/frilandsodling jämfört med införda humlor som används i växthus ([figur 5.4a](#)). Det fanns även en motsvarande ökning av mängden virus ([figur 5.4b](#)), om än svag ($P(+) < 0.95$).

a) Effekt på mängd av SBPV. Fångade jordhumlor.

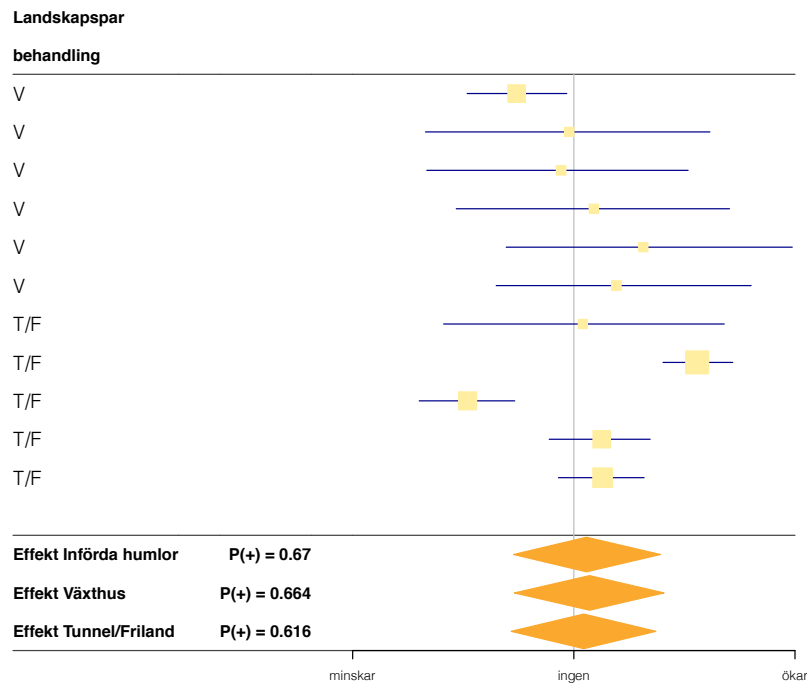


b) Effekt på prevalens av SBPV. Fångade jordhumlor.

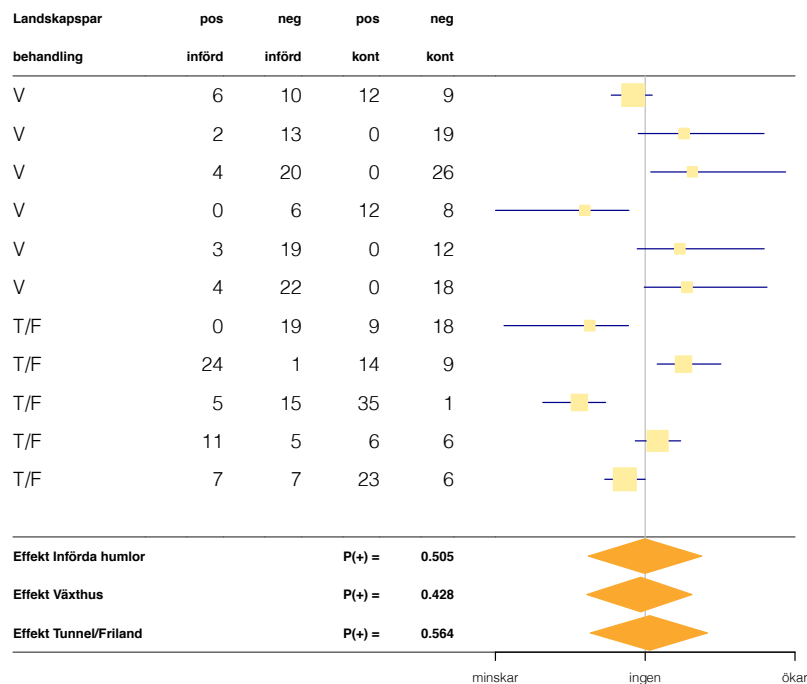


Figur 5.2. Effekt av införda humlor på prevalens och mängd av patogenet SBPV hos provtagna individer av fångade jordhumlor i 22 studielandskap. Effekt för varje par av studielandskap (behandling (införda jordhumlor) jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95 %-igt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95 %-igt sannolikhetsintervall, uppdelad på effekt för odling i växthus respektive odling i tunnel eller friland. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos.) eller inte (neg.) i landskap med införda humlor (införd) och kontrollandskap (kont).

a) Effekt på mängd SBPV. Övriga humlor.

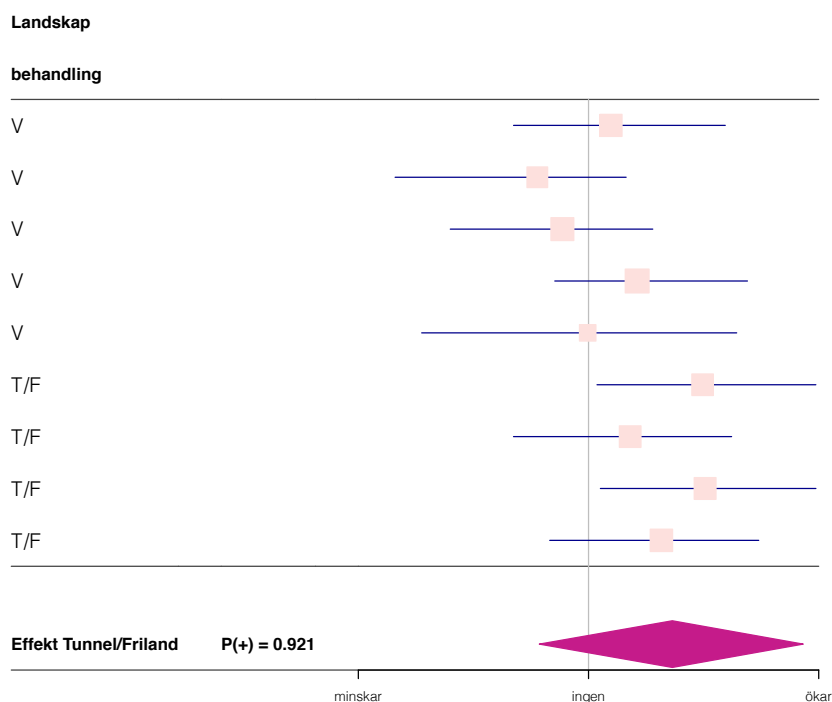


b) Effekt på prevalens av SBPV. Övriga humlor.

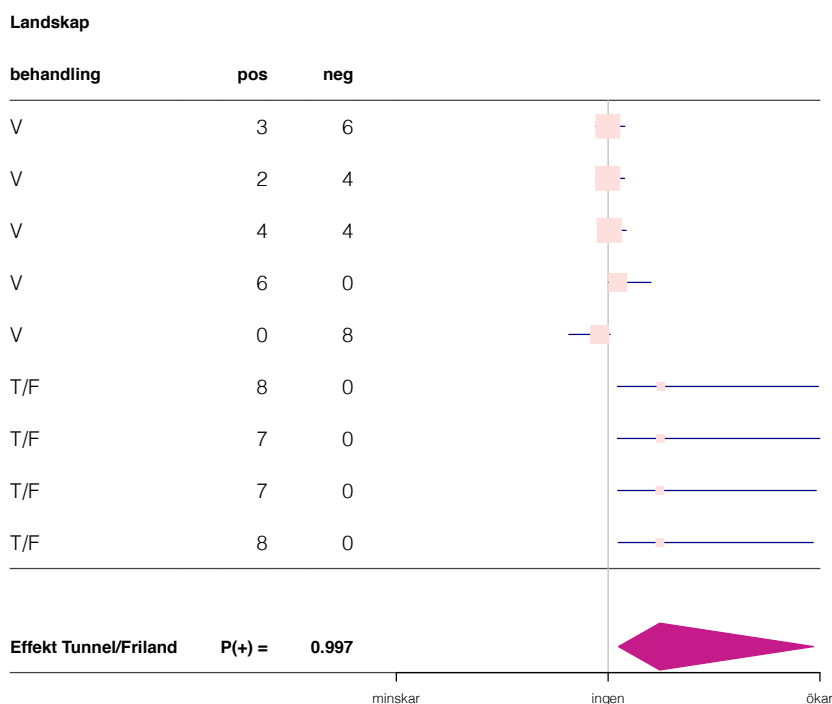


Figur 5.3. Effekt av införda humlor på prevalens och mängd av patogenet SBPV hos provtagna individer av fångade vilda humlor (ej jordhumla) i 22 studielandskap. Effekt för varje par av studielandskap (behandling (införda jordhumlor) jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95 %-igt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95 %-igt sannolikhetsintervall, uppdelad på effekt för odling i växthus respektive odling i tunnel eller friland. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos.) eller inte (neg.) i landskap med införda humlor (införd) och kontrollandskap (kont).

a) Effekt på mängd av SBPV. Införda jordhumlor.



b) Effekt på prevalens av SBPV. Införda jordhumlor.



Figur 5.4. Effekt av införda humlor på prevalens och mängd av patogenet SBPV hos provtagna individer av införda och utställda jordhumlor i 22 studielandskap. Effekt för varje par av studielandskap (behandling (införda jordhumlor) jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95 %-igt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95 %-igt sannolikhetsintervall, uppdelad på effekt för odling i växthus respektive odling i tunnel eller friland. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos.) eller inte (neg.) i landskap med införda humlor (införd) och kontrollandskap (kont).

Tabell 5.1. Sammanfattning av den statistiska utvärderingen som visar sannolikheten (> 95 % eller > 99 % för en ökning och <5 % eller <1 % för en minskning) att: (A) prevalens/ mängd för 10 olika patogener/parasiter, deras saminfektion, eller humlornas storlek (vikt, ITD) är högre (↑) eller lägre (↓) i växthus eller tunnel/frilandslandskap med införda humlor än i deras respektive kontrolllandskap, för fångade jordhumlor (grön) och övriga humlor (gul). Grått markerar fall där antal infekterade individer är för litet för att testa effekt på mängd.

Landskap		Växthus vs Kontroll		Tunnel/ friland vs Kontroll		Alla vs Kontroll	
Patogen	Humlor	Prevalens	Mängd	Prevalens	Mängd	Prevalens	Mängd
Nosema	Fångade jordhumlor		↓				↓
	Övriga humlor						
Crithidia	Fångade jordhumlor	↓	↓				↓
	Övriga humlor		↓				
Apicystis	Fångade jordhumlor	↑		↑		↑	
	Övriga humlor						
Locustacarus	Fångade jordhumlor			↑		↑	
	Övriga humlor				↑		
Sphaerularia	Fångade jordhumlor						
	Övriga humlor						
ABPV	Fångade jordhumlor						
	Övriga humlor						
SBPV	Fångade jordhumlor				↑		
	Övriga humlor						
DWV	Fångade jordhumlor						
	Övriga humlor						
SBV	Fångade jordhumlor						
	Övriga humlor			↑		↑	
BQCV	Fångade jordhumlor	↓				↓	
	Övriga humlor						
Saminfektion	Fångade jordhumlor		↓				
	Övriga humlor						
Hälsa	Humlor	Vikt	ITD	Vikt	ITD	Vikt	ITD
	Fångade jordhumlor	↑	↑			↑	↑
	Övriga humlor			↑			

Sannolikhet

Fångade jordhumlor	> 95%	> 99%
Övriga humlor	> 95%	> 99%

Vi fann ytterligare skillnader i prevalens och mängd (om infekterad) hos de övriga screenade parasiterna och patogenerna ([tabell 5.1](#)). Prevalens av *Apicystis* var genomgående högre för jordhumlor fångade i landskap med införda humlor jämfört med kontrollandskap. Prevalens av *Locustacarus* var högre för jordhumlor fångade i landskap med införda humlor, vilket till stor del förklaras av en högre prevalens i landskap med tunnel/frilandsodling jämfört med kontrollandskap. *Nosema* hos vilda jordhumlor var lägre i landskap med införda humlor jämfört med kontroll, där den största skillnaden fanns i landskap med växthusodling. Mängd SBPV var högre hos fältfångade jordhumlor i landskap där införda humlor används för pollinering i växthus jämfört med i kontrollandskap. Förekomst av *Crithidia* hos fältfångade jordhumlor var lägre i landskap med införda humlor och särskilt när de används för pollinering i växthus.

Hos övriga humlor var prevalens av SBV högre i landskap med införda humlesamhällen jämfört med kontrollandskap, och då särskilt vid tunnel/frilandsodling. Mängd *Locustacarus* var högre hos infekterade övriga humlor i landskap där införda humlor används för tunnel/frilandsodling. Övriga humlor hade lägre mängd av *Crithidia* i landskap med införda humlor i växthus jämfört med kontrollandskap.

Totalt sett hade fältfångade jordhumlor lägre grad av saminfektion (mätt som antal parasiter eller patogener eller antal viktad mot mängd) i landskap där införda humlor används i växthus jämfört med kontroll ([tabell 5.1](#)). Förekomsten av införda humlor hade ingen påverkan på graden av saminfektion hos gruppen ”övriga humlor”. För denna grupp tog vi hänsyn till vilka arter av humlor som provtagits i analysen.

Tabell 5.2. Prevalens/mängd för 10 olika patogener/parasiter, deras saminfektion eller humlornas storlek (vikt, ITD) är högre (↑) eller lägre (↓) i införda humlor utställda i växthusodlingar jämfört med i tunnel/frilandsodlingar. Teckenförklaringen visar de olika sannolikhetskategorierna i färg (> 95 % eller > 99 % för en ökning och <5 % eller <1 % för en minskning). Grått markerar fall där antal infekterade individer är för litet för att testa effekt på mängd.

Landskap		Tunnel/friland vs Växthus	
Patogen	Humlor	Prevalens	Mängd
Nosema	utställda införda humlor	↑	
Crithidia	utställda införda humlor		
Apicystis	utställda införda humlor		
Locustacarus	utställda införda humlor		
Sphaerularia	utställda införda humlor		
ABPV	utställda införda humlor		
SBPV	utställda införda humlor	↑	
DWV	utställda införda humlor	↑	
SBV	utställda införda humlor	↑	
BQCV	utställda införda humlor	↑	
Saminfektion	utställda införda humlor	↑	↑
Hälsa	Humlor	Vikt	ITD
	utställda införda humlor		

Sannolikhet		
utställda införda humlor	> 95%	> 99%

Prevalens av *Nosema* och virusen SBPV, DWV, SBV och BQCV var högre i införda humlesamhällen som användes för odling i tunnel/friland jämfört med samhällen som användes för odling i växthus (tabell 5.2). Det fanns ingen skillnad i mängd som infekteras, men för flera av patogenerna gick det inte att undersöka effekt av odling på mängd eftersom det i någon av odlingsformerna fanns för få infekterade individer (grå färg i tabell 5.2).

Införda humlor hade tydligt högre grad av saminfektion i landskap där de användes i odling på tunnel/friland jämfört med där de användes i växthus (tabell 5.2) vilket kan vara en konsekvens av högre prevalens av de tio screenade parasiterna och patogenerna i denna typ av odlingsform.

5.2 Effekt av införda humlesamhällen på vilda humlors storlek

Effekten av förekomsten av införda humlesamhällen på vilda humlors storlek utvärderades. Storlek mättes som vikt samt bredd på mellankroppen (ITD), två enkla mått (så kallade "proxys") som kan indikera hälsa och kondition på individ eller samhällsnivå i riskbedömningar (se [kapitel 6](#)). Vi förväntar oss att om allt annat är lika så är individer med sämre hälsa relativt mindre i storlek.

Fältfångade jordhumlor var generellt sett större i landskap med införda humlor i växthus jämfört med landskap utan införda humlor ([tabell 5.1](#)). Data över storleken på fältfångade humlor i växthuslandskap innehöll många ovanligt höga värden, vilket kan bero på att införda humlor födosökt ute i landskapet och därmed ingår i provtagningen av vilda fältfångade jordhumlor. Skillnaden i storlek på humlor i landskap med införda humlor var dock fortfarande kvar även efter att dessa individer tagits bort från analysen, men definitiva slutsatser kring effekt på storlek på vilda humlor är först tillförlitliga när den genetiska analysen är klar (se [avsnitt 7.2](#)).

Det fanns ingen statistiskt signifikant skillnad i storlek på övriga humlor i landskap med och utan införda humlor, även efter uppdelning i växthus eller tunnel/frilandsodling ([tabell 5.1](#)). Vi fann ingen skillnad i storlek hos införda jordhumlor utställda i växthus eller på tunnel/friland ([tabell 5.2](#)).

5.3 Effekt av införda jordhumlor på förekomst av vilda humlor

5.3.1 Bakgrund

Införda humlor kan ha en negativ inverkan på vilda pollinerare genom att konkurrensen om pollen och nektar ökar när man sätter ut fler individer på en plats (Ings m.fl. 2006). Om drottningar och hanar från de införda samhällena sprider sig från odlingarna och etablerar sig i det vilda finns det också en risk att konkurrensen om boplatser ökar. Vår hypotes var att utplacering av jordhumlor skulle öka förekomsten av jordhumlor i det kringliggande landskapet samtidigt som detta skulle leda till undanträngning av vilda humlor. Dessutom förväntade vi oss att den skillnaden skulle vara allra tydligast intill odlingen och mindre tydlig en kilometer bort från odlingen.

5.3.2 Metod och antal insamlade humlor

Vi använde oss av samma studiesystem som vid insamlingen av humlor i smittspridningsstudien (se [kapitel 4](#)). Under en vecka i början av juli 2018

inventerade vi tätheten av humlor i transekter på 200 m längs vägkanter i de 22 studielandskapen. I varje studielandskap valde vi ut blomrika vägkanter på tre avstånd från mittpunkten (0–250 m, cirka 500 m och cirka 1 000 m). På varje avstånd inventerade vi humlor längs transekterna genom att gå med långsam hastighet (20 min/200 m) och notera alla de humlor vi såg.

Vi räknade alla humlor och artbestämde de som vi lyckades fånga eller identifiera flygande. Vi försökte samla in fem individer av varje art som förekom, men i många fall var detta inte möjligt eftersom det förekom färre än fem per art. I andra fall, till exempel när det förekom mycket björnbär i transekten, hade vi svårt att fånga humlor även om de fanns där. Alla insamlade humlor artbestämdes med streckkodsanalys men i vissa fall gav analysen ett otydligt resultat. I fält skiljde vi inte mellan mörk och ljus jordhumla, utan försökte istället att fånga fler individer av denna grupp eftersom arbetarna av dessa arter inte kan skiljas åt baserat på endast morfologiska karaktärer (Björn Cederberg, personlig kommunikation). Eftersom även blåklockshumla är svår att skilja från dessa arter inkluderades den i jordhumlekomplexet. Av 114 säkert artbestämda streckkodsanalyserade individer som samlades in i landskapen med införda jordhumlor utgjordes fyra av ljus jordhumla (*B. lucorum*), 20 av blåklockshumla (*B. soroensis*) och 90 (79%) av mörk jordhumla (*B. terrestris*). I kontrollandskapen utgjordes 87 säkert artbestämda streckkodsanalyserade individer av två ljusa jordhumlor, en blåklockshumla och 84 (97%) mörka jordhumlor.

Individer som vi inte lyckades fånga och artbestämma i fält noterades som obestämda, men om det var möjligt att skilja dem från jordhumlor och blåklockshumlor (till exempel om de var orange eller hade röd bakkroppsspets) noterade vi det. Vi besökte varje transekt vid ett tillfälle i början av juli och inventeringarna pågick mellan kl 9.00–18.00 i soligt väder med lätt eller ingen vind. Vid varje tillfälle skattade vi även hur stor andel av transektens yta som täcktes av blommor tillhörande arter som humlor använder (Persson & Smith 2013).

5.3.3 Statistik

Vi använde mixade modeller till analyserna för att kunna ta hänsyn till att närliggande platser inte är statistiskt oberoende av varandra. Transekter från samma studielandskap grupperades genom att vi använde studielandskap som slumpmässig faktor. Parade studielandskap grupperades på samma sätt med landskapspar som slumpmässig faktor. Eftersom vi inte kunde avgöra vilka jordhumlor som kom ifrån odlingen och vilka som tillhörde vilda populationer använde vi det totala antalet jordhumlor (inklusive blåklockshumlor) som mått på potentiellt införda humlor. Som responsvariabel angav vi antalet jordhumle-individer respektive antalet individer av övriga sociala humlor. Detta gjordes i två separata modeller med poissonfördelning (en statistisk fördelning som ofta används för att analysera antal). Eftersom vi förväntade oss starkast effekt in- till de utplacerade humlesamhällena specificerade vi en interaktion mellan landskapskategori (landskap med införda humlor eller kontrollandskap) och

avstånd från mittpunkten (125 m, 500 m respektive 1000 m). Sannolikheten för att hitta humlor ökar ju fler blommor det finns på en plats. Därför inkluderade vi blomförekomsten (yta som täcks av kronblad) i modellen.

5.3.4 Resultat och diskussion

Antalet humlor, både jordhumlor och övriga arter, ökade som förväntat med mängden blommor, men påverkades inte i övrigt av de faktorer vi undersökte. Med andra ord verkar de införda humlorna inte tränga undan vilda humlor från det kringliggande landskapet under nuvarande användning. Detta skulle kunna bero på att införda humlesamhällen sätts ut i blommande grödor, där det vanligtvis är gott om föda. Dessutom får de ofta behålla den sockerlösning som finns i boet när de anländer, vilket sannolikt minskar deras behov av att flyga ut ur odlingen för att leta efter blommor.



Figur 5.5. Jordhumla i kråkvicker. Foto: Kenneth Rouna.

6 Risk för spridning av patogener och parasiter från införda humlesamhällen till vilda svenska humlor

I detta avsnitt beskriver vi den teoretiskt beräknade risken för spridning av patogener och parasiter från införda humlesamhällen till vilda humlor. Beräkningarna sker utifrån resultaten av screeningen ([kapitel 4](#)).

6.1 Införselrisk och smittspridningsrisk

Det finns två olika scenarier för vilken risk införsel av odlade humlor innebär när det gäller spridning av patogener och parasiter till vilda humlor. Dessa scenarier leder till olika prognoser, liksom olika förslag på hur risken kan minimeras med åtgärder och hanteringsstrategier.

6.1.1 Införselrisk

Det första scenariot innebär en risk att så kallade exotiska patogener eller parasiter som inte redan finns i Sverige förs in med införda humlor. Scenariot, åtgärder och prognoser liknar de som har tagits fram för motsvarande risk för honungsbin. Riskmodellering för vilda humlor påverkas av kriterier kring själva införseln (antal införda samhällen, veterinära och administrativa krav vid införsel, geografisk utplacering) och användningen och skötseln av de införda samhällena.

6.1.2 Smittspridningsrisk

Det andra riskscenariot innebär införsel av höga mängder av patogener eller parasiter som redan finns naturligt i svenska vilda humlor, men i mycket mindre grad eller utsträckning. I detta fall innebär storskalig införsel av humlesamhällen en ökad förekomst av smittor i det omgivande landskapet och därmed en ökad hälsorisk för landskapens vilda humlor. Riskmodellen drivs av epidemiologiska och biologiska kriterier. De epidemiologiska kriterierna är smittspridning och täthet av införda respektive inhemska humlor, medan de biologiska kriterierna är sannolikhet för infektion, sjukdom eller överföring mellan olika humlor.

6.1.2.1 Infektion och dess konsekvens

Det finns två huvudfaktorer som påverkar smittspridningsrisken för inhemska humlor vid införsel av exotiska eller endemiska potentiella patogener och parasiter.

Den första är hur infektiös (smittsam) en patogen eller parasit är för svenska humlor. Om patogener eller parasiter som förs in inte kan infektera svenska humlor innebär de inget hot. Likadant om de kan infektera svenska humlor men utan negativa konsekvenser för humlorna. Det finns många patogener, parasiter och andra organismer hos humlor eller humlesamhällen som inte har någon mätbar negativ påverkan.

Den andra faktorn är hur svårt humlan påverkas av en vis patogen eller parasit. För flertalet patogener och parasiter är mängd, snarare än förekomst i sig, avgörande för effekten på humlans hälsa. Det är därför vår screening inkluderar både förekomst och mängd av patogener och parasiter som parametrar för modellering och analys.

6.2 Analys av risker vid införsel

För att förstå vilka risker införsel av humlor för med sig är det viktigt att ta hänsyn till hela processen vid införseln, från produktion, via införsel till kontakt mellan införda och vilda humlor ([figur 6.1](#)).

Trots att uppfödningssystemen för att odla humlor kommersiellt är nästan helt slutna och sterila finns det alltid en risk att en ny, exotisk patogen eller parasit kommer in i systemet utifrån. Om det inte förs in nya humlor i systemet är det via födan som nya patogener och parasiter kan komma in i uppfödningssystemet. Humlorna utfodras bland annat med pollen som kommer från honungsbiodling (Graystock m.fl. 2013). Därmed kan pollen bära med sig patogener och parasiter som finns i biodling och som kan korsinfektera humlor. I EUs regelverk¹ ställs det endast krav på att pollen från honungsbin ska frysas innan det används vid uppfödning av humlor. Gammabestrålning av pollen minskar risken ytterligare för att pollen ska föra med sig patogener och parasiter. Denna metod används idag av bägge de företag som levererar humlor till Sverige, men studier visar att gammabestrålning inte tar bort alla patogener (Graystock m.fl. 2016, Meeus m.fl. 2014). Kvaliteten av det pollen som samlas in från honungsbisamhällen är en reell sekundär riskfaktor för smittor i humleodlingssystem, och därmed även för vilda humlor. Att använda lokalt pollen från det land dit humlorna efteråt ska exporteras kan minska risken att nya patogener förs in. Artificiellt pollen är dock det enda som helt kan eliminera problemet (Graystock m.fl. 2016).

¹ Kommissionens förordning (EU) nr 142/2011 av den 25 februari 2011 om genomförande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1069/2009 om hälsobestämmelser för animaliska biprodukter och därav framställda produkter som inte är avsedda att användas som livsmedel och om genomförande av rådets direktiv 97/78/EG vad gäller vissa prover och produkter som enligt det direktivet är undantagna från veterinärkontroller vid gränsen.

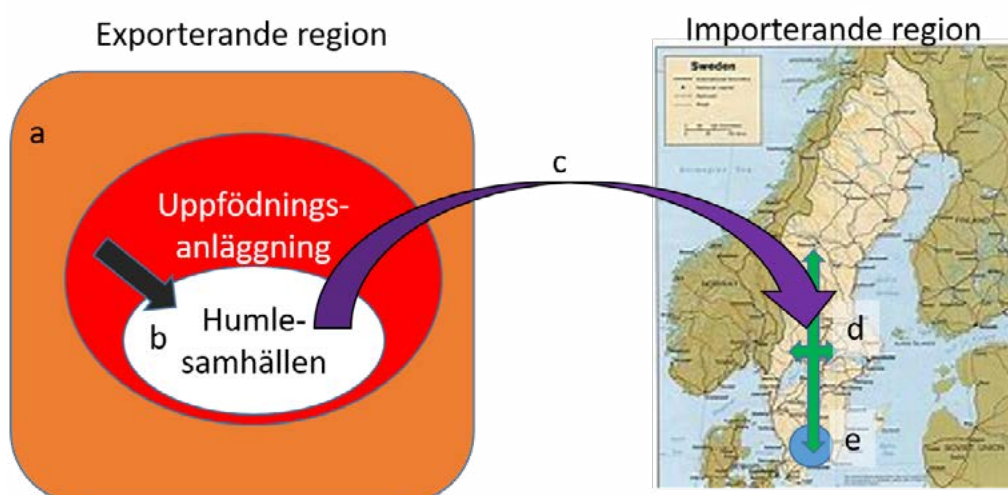
Nästa steg i processen är att humlesamhällena transporteras från uppfödningssanläggningar in i Sverige. Införsel av humlor till Sverige sker idag via tre företag som tar in humlor från två uppfödningssanläggningar ([kapitel 2](#)). Humlorna säljs vidare till odlare över hela landet och i ett fåtal fall till privatpersoner. Tätheten av nyligen införda humlor varierar, från obefintlig till hög, mellan olika delar av landet och beror på förekomsten av relevanta odlingar samt huruvida införda humlor används i dessa odlingar.

Väl inne i Sverige kan humlor från införda humlesamhällen komma i kontakt med populationer av olika arter av vilda bin (humlor och solitärbin) och honungsbin. Idag importeras enbart arten mörk jordhumla.

Införda humlesamhällen används för pollinering i växthus eller på friland (med och utan odlingstunnlar). Om det inte finns speciella hinder kan humlor från införda samhällen i växthus flyga ut och vilda humlor flyga in i växthusen (Kraus m.fl. 2011). Detta kan ske genom till exempel ventilationsluckor i taket eller andra öppningar. Humlor som sätts ut på friland eller tunnlar kan födosöka i det omgivande landskapet.

Smitta av parasiter och patogener till andra humlor och bin kan ske när individer från införda humlesamhällen födosöker i landskapet, när de besöker andra humlebon eller när drottningar söker nya boplatser. Smitta kan ske oralt eller vid kontakt ([Kapitel 3.1](#)). I huvudsak sker smitta när en individ kommer i kontakt med avföring från en smittad individ, vilket även kan lämnas på blommor (Otterstatter & Thomson 2008; Figueroa m.fl. 2019). Det betyder att smitta kan ske även om den mottagliga och den smittade individen inte är på blomman samtidigt, under förutsättning att patogenen eller parasiten fortfarande finns kvar.

Om andra förutsättningar är desamma leder höga populationstätheter av bin till en ökad förekomst av smittotillfällen. Förekomst av honungsbin kan därför leda till ökad smittspridning eftersom det då tillförs många individer i ett landskap. Det kan även ske en kraftig tillväxt av parasiter och patogener, speciellt virus, i honungsbisamhällen, vilka sedan kan spridas till vilda pollinatörer (Fürst m.fl. 2014, Evison m.fl. 2012, Singh m.fl. 2010). Individer från införda humlesamhällen kan på samma sätt öka smittspridningen i ett landskap om de tillför många individer i förhållande till antalet i den vilda populationen – de införda samhällena fungerar då som en accelerator för tillväxt och spridning av parasiter och patogener (Graystock m.fl. 2013). Denna effekt är huvudsakligen lokal, eftersom antalet införda samhällen är mycket litet i förhållande till de totala populationerna av humlor i Sverige.



Figur 6.1. Modell för olika steg i den process där införda humlor påverkar inhemska bin: a) parasiter och patogener (pp) kommer in i en uppfödningsanläggning via avelsmaterial, b) pp kommer in i samhällen på uppfödningsanläggning via foder, c) pp kommer in i Sverige via införda samhällen, d) införda samhällen fördelas över Sverige och e) pp kommer ut i det vilda via direkt eller indirekt kontakt mellan införda och inhemska bin.

Följande frågor kring exponering har identifierats som relevanta för importriskanalysen:

- Hur många humlesamhällen förs in till Sverige per år?
- Hur ofta kommer det in parasiter eller patogener med humlesamhällen införda till Sverige?
- Var i Sverige hamnar de införda humlesamhällena?

6.3 Skattad införsel av humlor baserad på data från 2016–2018

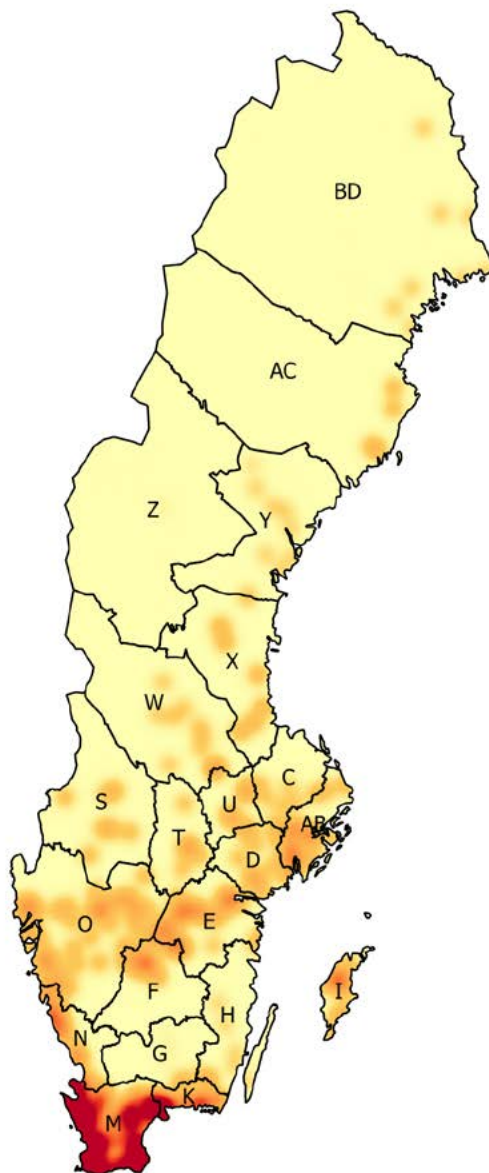
6.3.1 Dataunderlag och exponeringsbedömning

Antal införda samhällen extraherades från databasen Trade Control and Export System (TRACES) och kompletterades med information från de tre införsel-företagen ([avsnitt 2.1](#)). Exponeringsrisken beräknades för olika värden på prevalens av patogener och parasiter hos de införda humlorna med hjälp av värden som vi erhöll från screeningstudien ([kapitel 4](#)). Vi beräknade risken för skattningar av antalet samhällen som införs till varje län i Sverige. Eftersom vi saknar information om vilka företag eller privatpersoner som köper införda humlesamhällen och hur många de köper, bygger dessa skattningar på information från införselsföretagen om postnummer (5 siffror) där det finns köpare.

6.3.2 Resultat

Under 2016–2018 infördes det cirka 4 500 samhällen till Sverige per år ([tabell 2.1](#)).

Det finns en hög variation i exponering även inom län. Summan av utjämnade värden för varje postnummer sammanfattas som en exponeringskarta ([figur 6.2](#)). Notera att exponeringskartorna inte visar hur mycket införda humlor det finns ute i det vilda.



Figur 6.2. Rumslig variation i skattat relativt antal införda humlesamhällen per år i Sverige. Ju mörkare färg desto fler samhällen. Skattning bygger på data från 2016–2018.

6.4 Risk för introduktion av nya parasiter eller patogener via införda humlesamhällen

6.4.1 Modell för att bedöma risker med införsel?

För att bedöma risken för introduktion av en ny parasit eller patogen via införda humlesamhällen beaktade vi förekomsten av parasiter och patogener hos införda humlor i kombination med hur många samhällen som förs in varje år (Peeler m.fl. 2015).

Risken för introduktion av nya patogener eller parasiter via införda humlesamhällen skattades genom att skatta sannolikhet för introduktion av minst ett infekterat samhälle under ett år. Detta sätt att räkna bygger på att det räcker att det kommer in ett samhälle som är infekterat för att smittan ska kunna sprida sig till andra populationer och kan således överskatta risken. Sannolikheten för införsel av minst en infekterad koloni under ett år till en region kan beräknas som:

$$1 - (1 - \text{prevalens})^{\text{Antal införda samhällen}}$$

Prevalens är andel av humlesamhällen som är infekterade och antal införda samhällen är hur många samhällen som importeras varje år till en region. Denna modell användes för att undersöka införselrisk genom att beräkna sannolikheten för införsel för olika värden på prevalens och antal införda samhällen. Betydelse av osäkerhet i skattning av prevalens hanterades genom att beskriva osäkerhet i prevalens och använda en så kallad Monte Carlo-simulering för att omvandla det till osäkerhet i införselrisk.

6.4.2 Resultat – införselrisk

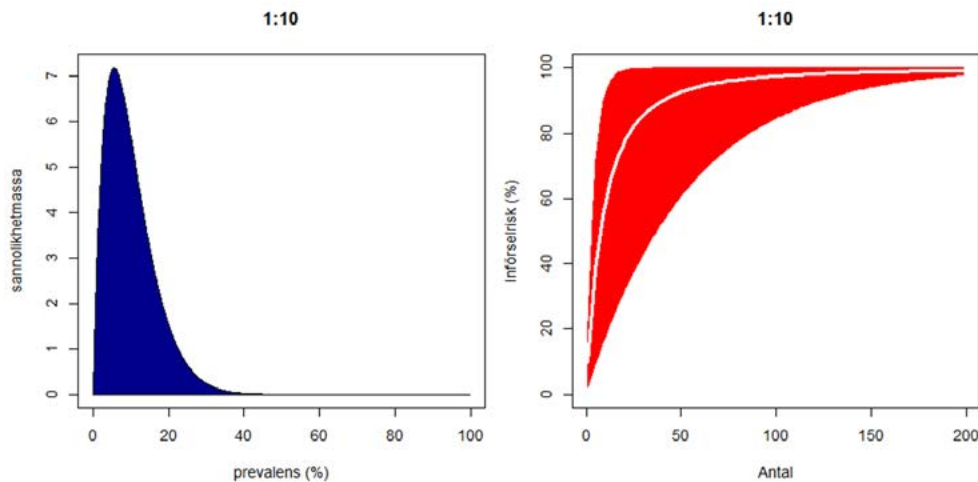
Modellen för införselrisk visar att det räcker med att det finns en liten sannolikhet att en ny parasit eller patogen finns i en uppfödningssanläggning för att det ska vara en risk att den kommer in vid införsel av humlor till Sverige.

En förväntad prevalens på 1:10 (det vill säga att en ny patogen eller parasit förekommer i var tionde humlesamhälle hos producenten) medför en införselrisk större än 5 % och en införselrisk nära 100 % redan vid 50 införda samhällen ([figur 6.3a](#)). Det finns en hög osäkerhet i införselrisk på grund av osäkerhet i prevalens (rött område som motsvarar 95-procentigt osäkerhetsintervall). Om man tar en konservativ skattning av införselrisk (övre gräns på osäkerhetsintervall) räcker det med införsel av några enstaka samhällen för att risken ska vara högre än 5 %. Om den förväntade prevalensen är så låg som 1:1 000 är införselrisken högre än 5 % vid ungefär 100 införda samhällen ([figur 6.3b](#)). Om man tar hänsyn till osäkerhet i prevalens, överstiger införselrisken 5 % vid cirka 10 samhällen.

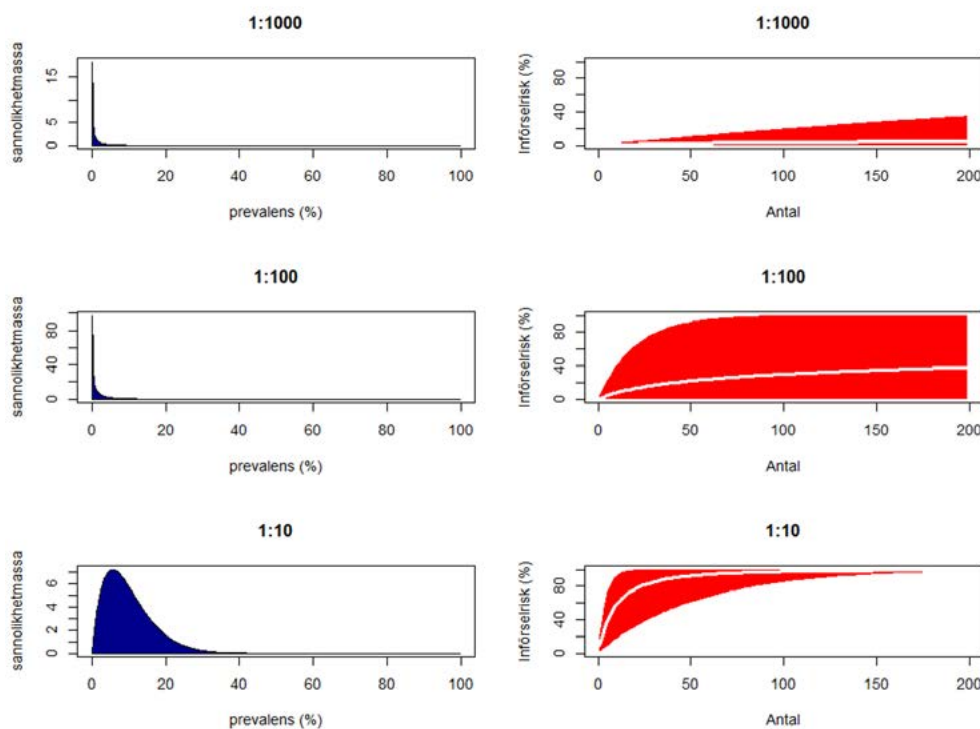
Förekomst av en för Sverige ny parasit eller patogen i uppfödningssanläggningar är en extrem händelse för vilken sannolikheten är låg (lägre än 1:1 000). Vid en

ytterst låg sannolikhet (1: 10 000) att en ny parasit eller patogen kommer in i uppfödningsanläggning kan man föra in drygt 1 miljon humlesamhällen innan införselrisken överstiger 5 %.

Med dagens nivå på införsel av ca 4 500 införda humlesamhällen per år måste prevalens av en ny exotisk skadegörare vara högre än 1:6 000 för att den årliga införselrisken ska vara högre än 5 %.



Figur 6.3a. Risk för introduktion av en ny patogen eller parasit om var tionde införda humlesamhälle innehåller organismen. Risken för introduktion av en ny patogen eller parasit i Sverige minskar med förväntad prevalens (kolumner) och ökar med antal införda lådsamhällen (nedre raden). Osäkerhet i prevalens beskrivs med en sannolikhetsfördelning (blå). Osäkerhet i införselrisk beskrivs med 95-procentigt osäkerhetsområde (rött). Vit heldragen linje markerar förväntad införselrisk.



Figur 6.3b. Risk för introduktion av en ny patogen eller parasit om var tionde, var hundra eller var tusende införda humlesamhälle innehåller organismen. Risken för introduktion av en ny patogen eller parasit i Sverige ökar med förväntad prevalens (rader) och ökar med antal införda humlesamhällen (antal). Osäkerhet i prevalens beskrivs med en sannolikhetsfördelning (blå). Osäkerhet i införelrisk beskrivs med 95-procentigt osäkerhetsområde (rött). Vit heldragen linje markerar förväntad införelrisk.

Prevalens av för Sverige nya parasiter eller patogener beror på åtgärder i uppfödningssanläggningarna. Uppfödningssanläggningar har höga krav på hygien, men är inte 100-procentigt säkra. Detta bekräftas av screeningen av införda och direktinfrysade humlesamhällen som visar att det finns parasiter och patogener hos införda humlor. Trots övervakning är det svårt att upptäcka en smitta med en prevalens som är mindre än 1:6 000. Skulle man upptäcka en ny parasit eller patogen i en uppfödningssanläggning kan det redan ha hänt att den nya parasiten eller patogenen har kommit in i Sverige.

Övervakning av införda humlesamhällen kan dock ge värdefull information om generella hygienförhållanden hos uppfödningssanläggningarna och om en ny parasit eller patogen upptäcks får myndigheterna underlag för ett eventuellt beslut om att tillfälligt stoppa införelsen av humlor.

Risken för att nya parasiter eller patogener kommer in i Sverige är högst i områden med hög användning av införda humlor (figur 6.2). Odling i växthus har jämfört med odling på friland större möjligheter att förhindra att införda humlesamhällen kommer i kontakt med vilda pollinatörer, men det finns en risk att vilda pollinatörer kommer in i växthus eller att införda humlor kommer ut ur växthus. Sannolikheten för kontakt är som störst för införda samhällen som är aktiva under den del av året då även vilda bin är aktiva.

6.5 Spridning av patogener eller parasiter (simuleringsstudie)

Införda humlors effekt på spridning av patogener eller parasiter undersöktes med en simuleringsstudie av en hypotetisk (exotisk) parasit eller patogen som angriper humlor. Syftet med studien var även att undersöka hur tillgången på resurser för pollinatörer i ett landskap modifierar en eventuell effekt.

6.5.1 Simuleringsstudie

Effekten av införda humlor på spridning undersöktes med en teoretisk spridningsmodell i två simuleringsstudier. Modellen simulerar antalet mottagliga (S) och infekterade (I) bin i ett landskap, vilka utgörs av en kombination av vilda pollinatörer och införda humlor som antas vara lika känsliga för respektive patogen eller parasit. Smitta sker vid kontakt på blomresurser. Infektivitet (det vill säga sannolikheten att en kontakt leder till smitta) beror på förväntad koncentration av patogenen eller parasiten hos en individ i landskapet. Populationsstorlek av vilda pollinatörer styrs av mängden habitat i landskapet.

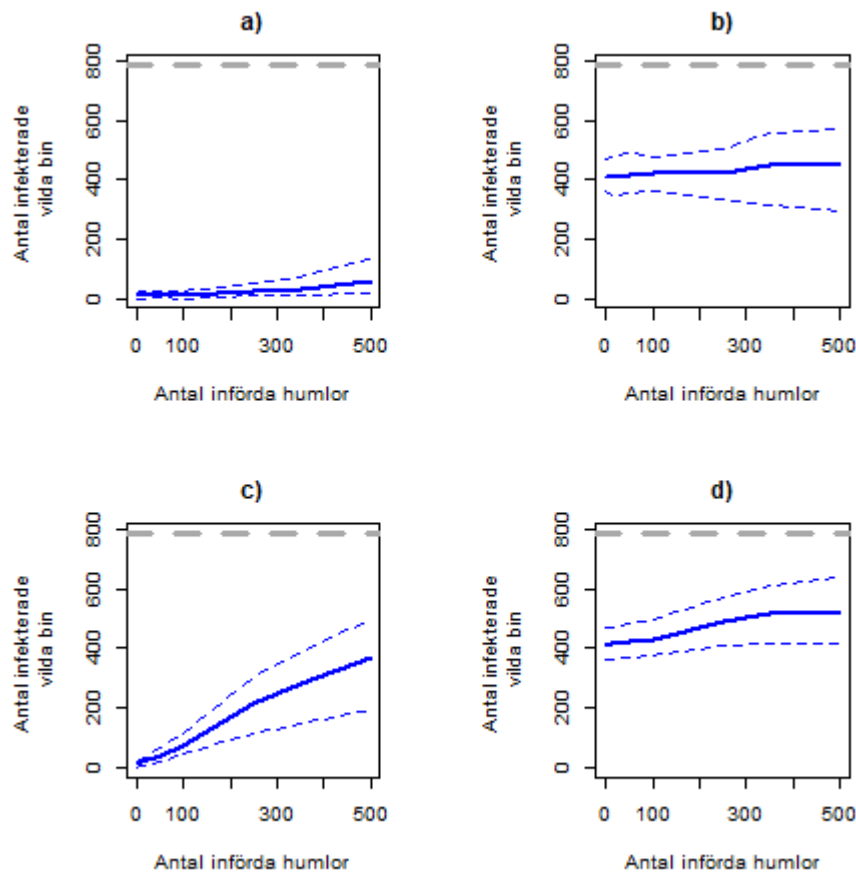
I en första studie undersökte vi hur andelen av de vilda pollinatörerna i ett typiskt jordbrukslandskap som infekterades påverkades av antal individer som förs in i landskapet via användningen av införda humlesamhällen. Antal vilda pollinatörer sattes till 800, medan antalen införda humlor antogs variera från 0 till 800. För varje scenario gjordes 40 upprepningar av spridningsmodellen, där antal infekterade vilda pollinatörer sparades för varje körning.

I en andra studie gjorde vi en känslighetsanalys för att undersöka hur prevalens och mängd av en patogen eller parasit hos en värd påverkas av landskapets karaktär. Vi undersökte effekten av landskapsparametrarna mängd blomresurser och habitat för vilda humlor (såsom gräsmarker, fältkanter, skog). Modellen simulerades för olika slumpade värden (från specificerade intervall) för landskapsparametrar, prevalens och mängd av en parasit eller patogen i infekterade individer samt antal införda humlesamhällen. För varje val av parametervärden gjordes 10 olika körningar av spridningsmodellen. För varje modellkörning sparades medelvärden för relativ risk (RR) och absolut risk (PR), som mäter förändring i risk för landskap med och utan införda humlor (se förklaring i [bilaga 1](#)).

6.5.2 Resultat från den teoretiska spridningsmodellen

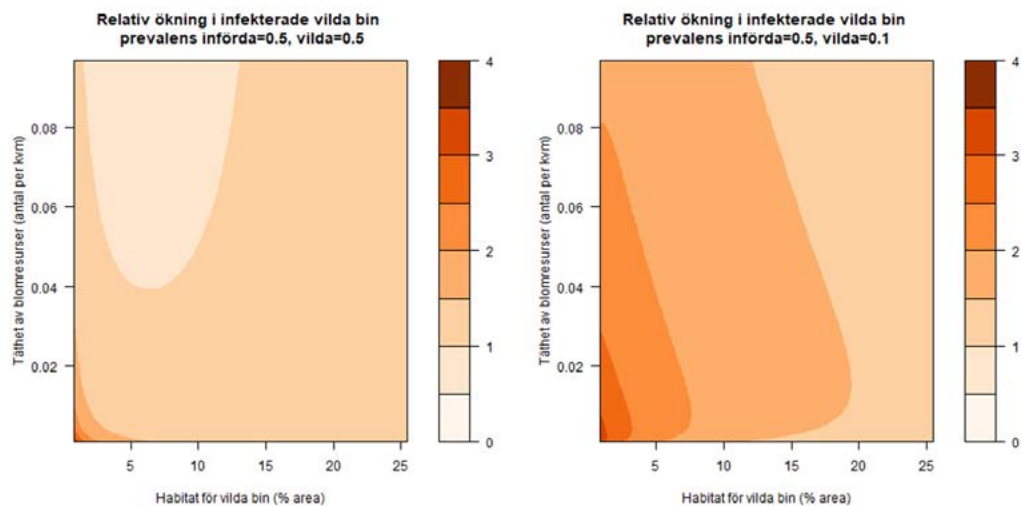
Antal infekterade vilda humlor ökar med ökat antal införda humlor ([Figur 6.4](#)). Den negativa effekten dämpas när införda humlor initialt har färre patogener och parasiter än vilda pollinatörer. Effekten kan till och med vara positiv när införda humlor har mindre förekomst av patogener och parasiter än vilda pollinatörer ([Figur 6.4](#)). Det är dock tydligt att även om införda humlor generellt sett skulle ha färre patogener och parasiter, så har användning av införda humlor

oftast en negativ effekt på andelen vilda humlor som är infekterade. Förklaringen är att antalet indirekta möten och därmed spridning mellan samtliga pollinatörer ökar när man för in humlor i ett landskap.



Figur 6.4. Antal infekterade vilda bin (utav cirka 800) som en funktion av antal humlor från införda samhällen i ett landskap under olika nivåer på virulens a) låg hos båda, b) hög hos vilda och låg hos införda humlor, c) låg hos vilda och hög hos lådhumlor och d) hög hos båda. Resultat från simulering av en teoretisk spridningsmodell.

Effekten av införda humlor på spridning av en gemensam parasit eller patogen beror på hur många vilda pollinatörer det finns i ett landskap och hur stora gemensamma blomresurser som finns tillgängliga ([figur 6.5](#)). Generellt sett ökar en lägre förekomst av blomresurser både den relativa och absoluta risken för spridning, särskilt om införda humlor är smittade i en högre grad än vilda. Förklaringen är att binas blombesök koncentreras på de få platser som finns. Den relativa ökningen i infekterade vilda bin minskar medan antal infekterade vilda bin ökar ju större populationer det finns (mer habitat för vilda bin eller mer blomresurser). Effekten ökar när de införda humlorna är sjukare än de vilda.



Figur 6.5. Relativ förändring i antal infekterade vilda bin sett i relation till habitatstorlek för vilda bin i landskapet (naturliga och halvnaturliga gräsmarker) och blomresurser per yta i landskapet, samt hur mycket det finns av en parasit och patogen hos införda humlor och vilda bin (prevalens införda jämfört med prevalens vilda).

[Figur 6.5](#) bygger på det antagande om täthet av humlor i olika landskap som vi gör i modellen. Om man antar att den är lika blir det färre blommor per humla i landskap med få blomresurser (på slätten). Om man antar att humlor är resursreglerade (blommor) blir det lika många humlor per blomma på slätten. Däremot är det så att ett tillskott av humlor ger större proportionell ökning av populationen på slätten vilket gör att smittspridning påverkas mer.

7 Morfologiska och genetiska skillnader mellan införda och vilda humlor

De införda humlornas ursprung är oklart enligt uppfödningens representanter.

Leverantör 1 anger att för att säkerställa en tillfredsställande genetisk variation baseras aveln på en blandning av humlor med ursprung från olika delar av Europa (*“a mixture of bumble bees of European origin”*).

Leverantör 2 meddelar att det inte går att spåra det exakta ursprunget eftersom produktionen har fortlöpt i många år. Det är en genetisk blandning där de flesta humlor sannolikt har samlats in i nordvästra Europa.

7.1 Morfologiska skillnader mellan införda och svenska vilda humlor

7.1.1 Introduktion

För att kunna bedöma om arbetare från de odlade humlesamhällena födosöker i omgivningarna eller om drottningar från de odlade humlesamhällena etablerar sig i omgivningen och producerar arbetare, behöver man kunna skilja på odlade och inhemska arbetare. Skillnaden i utseende mellan odlade och inhemska humlor av samma art har undersökts i ett kandidatarbete på Lunds universitet. Tidigare studier har visat att vingribbornas utseende kan användas för att skilja mellan slovenska mörka jordhumlor och införda mörka jordhumlor (Kozmus m.fl. 2011), men metoden är patenterad och passade därför inte för det här kandidatarbetet. I denna studie fokuserade vi på andra mer lättanalyserade morfologiska karaktärer.

7.1.2 Material och metod

Humlor från en koloni från leverantör 1 och humlor från en koloni från leverantör 2 jämfördes dels med varandra och dels med en grupp inhemska mörka jordhumlor insamlade runt Tyringe i Skåne under sommaren 2018. De insamlade humlorna artbestämdes med hjälp av yttre karaktärer. Samtliga humlor var arbetare. De morfologiska karaktärer som studerades är exempel på karaktärer som man kan använda för artbestämningar av humlor (Francoso m.fl. 2016, Mossberg & Cederberg 2012). Vi jämförde pälsens färg och karaktär, kitinskelettets färg och kragens bredd. Mätningarna utfördes i 50 gångers förstoring med hjälp av ett

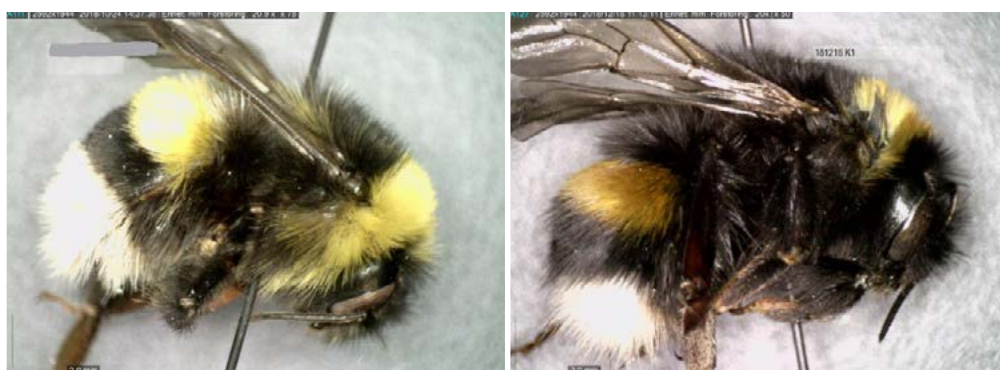
tdigitalt mikroskop (DinoLite Edge X Long Vision och med programvaran Dino-Capture 2,0). För att kunna jämföra kragens bredd mellan humlor av olika storlek, mättes även avståndet mellan ögonens övre inre kant och användes som ett mått på humlornas respektive storlek.

7.1.3 Resultat

Kvalitativa observationer visade att pälsen på humlorna från leverantör 1 var glesare, mattare och ljusare gul än den på humlorna från leverantör 2 ([figur 7.1](#) och [7.2](#)). Kitinskelettet på benen var brunt hos humlorna från leverantör 1 och hos inhemska jordhumlor, medan det var brunsvart hos humlorna från leverantör 2. Vi analyserade kragens bredd med hjälp av en kovariansanalys där vi kontrollerade för storlek (bredd mellan ögon). Vi logaritmerade bägge värdena. Kragens bredd påverkades både av humlans storlek ($F_{1,34}=307,8$, $p<0.0001$) och skiljde sig mellan de tre grupperna ($F_{2,34}=129,8$, $p<0.0001$). Kragen hos samtliga odlade humlor, både de från leverantör 1 (Tukey, $p<0.0001$) och de från leverantör 2 (Tukey, $p<0.0001$), var tydligt bredare än kragen hos de vilda inhemska jordhumlorna, medan kragen på humlor från de två leverantörerna inte skiljde sig signifikant åt (Tukey, $p=0.07$) ([Tabell 7.1](#)).

Tabell 7.1. Kragstorlek (baktransformerad) hos införda och vilda humlor; minsta-kvadrat-medelvärden, lägre och övre 95 % konfidensintervall från en kovariansanalys som kontrollerade för avståndet mellan ögon.

	Bredd på krage (mm)
Inhemska vilda humlor (n = 9)	1,29 (1.21-1.37)
Införda humlor, leverantör 1 (n = 15)	2,24 (2.15-2.34)
Införda humlor, leverantör 2 (n = 14)	2,08 (1.98-2.19)



Figur 7.1. Införda mörka jordhumlor. Till vänster leverantör 1 och till höger leverantör 2.



Figur 7.2. Vilda och införda mörka jordhumlor. Från vänster: inhemsk vild, odlad från leverantör 1, inhemsk vild, odlad från leverantör 2.

7.1.4 Diskussion

De odlade humlorna skiljde sig från de inhemska humlorna genom att ha en tydligt bredare krage. Dessutom skiljde de sig från varandra genom olika färg och lyster hos pälsen och genom olika färg på kitinskelettet. Även om skillnaderna var tydliga kan vi inte dra slutsatsen att de är generella för de tre grupperna eftersom det undersökta materialet var litet och alla humlor från varje grupp kom från antingen en och samma koloni eller ett litet geografiskt område. Därför bör skillnaderna snarare ses som indikationer på att grupperna skiljer sig åt morfologiskt.

Odlade humlor består sannolikt av en blandning av olika underarter (Barthomeus m.fl. 2020) men underarten *B. terrestris dalmatinus* är en viktig grund för dessa (Velthuis & Doorn 2006). Svenska humlor tillhör underarten *B. terrestris terrestris* som skiljer sig från *B. terrestris dalmatinus* genom att den bland annat har en smalare krage (Rasmont m.fl. 2008). Att odlade humlor trots sitt multipla ursprung (se inledningen till [kapitel 7](#)) bär på gener från *B. terrestris dalmatinus* kan vara orsaken till att vi kunde urskilja dem med hjälp av kragens utseende. Vi vill dock understryka att det begränsade material som ligger till grund för den här undersökningen försvårar generella slutsatser.

7.2 Genetiska analyser av humlor



Figur 7.3. Arbetare av mörk jordhumla från inköpt samhälle till vänster och vild drottning av mörk jordhumla till höger fotograferad samma dag och i samma äppelodling.
Foto: Christina Winter.

Införda samhällen av mörk jordhumla föds upp i Centraleuropa men har ett blandat genetiskt ursprung ([avsnitt 7.1](#)). Förutom riskerna med smittspridning och konkurrens, som belyses i andra delar av denna rapport, kan införda humlor också sprida gener till vilda humlor av samma art (Kraus m.fl. 2011). I förlängningen skulle detta kunna leda till förlust av unik genetisk variation i lokala populationer och därmed av lokalt anpassade karaktärer (Byatt m.fl. 2016).

För att undersöka i vilken mån humlor från införda samhällen födosöker i det omgivande landskapet, och således kan utgöra en risk för smittspridning och konkurrens, behöver man kunna skilja mellan friflygande individer från de införda humlesamhällena och vilda individer av samma art. Detta försvåras av att det inte med full säkerhet ens går att skilja arbetare av mörk jordhumla från andra jordhumlearter (till exempel ljus jordhumla, *B. lucorum*) enbart med hjälp av morfologiska karaktärer ([se tabell 3.2](#)). Eftersom metoderna för att upptäcka genspridning är kostsamma finns det begränsat med forskning inom detta område (se Kraus m.fl. 2011, Bartomeus m.fl. 2020). I en studie där man använde andra genetiska markörer för att skilja mellan individer från införda och vilda humlesamhällen drogs slutsatsen att införda humlor sprider gener i inhemska populationer i Polen (Kraus m.fl. 2011). Studien kunde inte formellt visa i vilken utsträckning det handlade om individer från införda humlesamhällen som födosökte ute i landskapet eller gener från införda humlor som via avkomma hade införlivats i genomen hos vilda humlor. Eftersom gener från införda humlor återfanns även på stora avstånd från de växthus som använde införda humlor drog man slutsatsen att det åtminstone delvis handlade om att gener införlivats i den vilda populationen. Spridning av gener kan bättre detekteras med högupplösta molekylära metoder (Seabra m.fl. 2019). Med hjälp av sådana metoder har man visat att nära intensiva växthusodlingar i södra Spanien bar en mycket hög andel av undersökta jordhumlor på DNA med ursprung från införda odlade humlor (Bartomeus m.fl. 2020).

I detta projekt identifierade vi högupplöst genetisk variation (enbaspolymorfi (SNPs) och haplotyper) med hjälp av avancerade molekylära metoder ("Whole Genome Sequencing" (WGS)). Detta gav oss mycket detaljerad information om humlornas genom och kan med säkerhet identifiera potentiellt upptag av genetiskt material från införda humlor i den vilda populationen av mörk jordhumla. Det gör det också möjligt att identifiera genetiskt material från både drönare och drottningar i införda humlor under flera generationer eftersom humlor använts i växthusen under många år.

7.2.1 Insamling av humlor

Under sommaren 2018 samlade vi in de arbetare av jordhumlor som användes i studien. Vi använde samma studiesystem som vid undersökningen om smittspridning (se [avsnitt 4.2.2](#)). Vi undersökte tätheten av humlor i 200 meter långa transekter och artbestämde humlorna i fält efter förmåga. Om möjligt samlade vi in minst fem individer av varje art, utom av jordhumlor där vi samlade in 10. Dessa artbestämdes senare med genetiska metoder (streckkodsanalys) på laboratorium (se [avsnitt 4.3.2](#)). Vi utförde dessa inventeringar på tre avstånd (mindre än 250 m, cirka 500 m och cirka 1 000 m) från de utplacerade humlesamhällena i humlelandskap och på samma tre avstånd från mittpunkten i kontrollandskap. Studiesystemet för den genetiska analysen utgjorde ett urval av dessa studielandskap. Humlelandskapen valdes ut på två kriterier: 1) stort användande av införda humlesamhällen (mer än 50 per år) och 2) tillräcklig förekomst av friflygande jordhumlor för att kunna samla in cirka 30 individer per landskap.

Till den genetiska analysen valde forskarna från Lunds universitet fem humlelandskap. I den centrala odlingen i alla dessa landskap användes humlor från i huvudsak en kommersiell uppfödare. Från denna uppfödare samlades dessutom in en individ från vart och ett av 45 införda humlesamhällen. Dessa individer samlades inne i samhällena efter att dessa avlivats i frys. Friflygande jordhumlor i dessa landskap samlades in mellan 750–1000 m från utsatta införda humlor och dessa är studiens fokus som kan besvara om det förekommer gener från införda humlor i vilda mörka jordhumlor.

Som kontrollandskap valde vi studielandskap där förekomsten av jordhumlor var tillräckligt hög för att vi skulle kunna samla in cirka 30 individer per landskap, men hade även kriteriet att avståndet från införda humlesamhällen skulle vara så långt som möjligt (cirka 15–20 km). Vi använde fyra kontrollandskap.

7.2.2 Molekylära metoder och bioinformatik

För att kunna analysera om vilda insamlade mörka jordhumlor har gener från införda humlor har en metod noga utarbetats för att kunna isolera DNA av tillräcklig mängd och tillräcklig kvalitet. Alla insamlade jordhumlor användes för att isolera DNA. Därefter förbereddes prover och skickades iväg till MacroGen Europe för streckkodsanalys, en metod för säker artbestämning av våra prover (Woodard m.fl. 2015). Utav 143 jordhumlor var 121 mörk jordhumla. Av de 121 mörka jordhumlorna valdes 96 ut för vidare analys. Detta urval baserades på DNA-kvalitet och -mängd samt geografisk spridning för att dels kunna särskilja vilda och införda humlor för konkurrensstudien ([avsnitt 5.3](#)), dels kunna upptäcka potentiellt inlemmande av gener från införda humlor hos vilda humlor.

För att utröna vilken molekylär metod som bäst kan besvara på om vilda insamlade mörk jordhumlor har gener från införda humlor har vi genomfört ett stort antal simuleringar av förväntat utfall av de alternativa metoderna ("Restriction-site Associated DNA" (RAD) och "Whole Genome Sequencing" (WGS)). Som ett resultat av simuleringarna har vi gått vidare med WGS.

8 Alternativ till införda odlade humlor?

8.1 Syfte och metod i litteraturstudien

Syftet med denna litteraturstudie var att undersöka vilka realistiska alternativ det finns för att ersätta införda odlade humlor vid pollinering av grödor. Vi har gjort detta genom att sammanställa litteratur och, utifrån det rådande kunskapsläget, utvärdera om dessa är lämpliga som alternativ till införda humlesamhällen.

Vår utgångspunkt var att 1) identifiera åtgärder som minskar behovet av införda odlade humlor, och 2) utvärdera dessa åtgärders lämplighet.

För att identifiera möjliga åtgärder utnyttjade vi en nyligen genomförd sammanställning av metoder för att säkra matproduktionen trots minskande förekomster av pollinerande insekter. Sammanställningen gjordes av ”*Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*” (IPBES) i deras globala syntes om pollinering (IPBES 2016). Utöver detta identifierade vi metoder som är specifika för att ersätta införda humlor som pollinerare i Sverige genom att läsa rapporter och genom att diskutera med odlare och forskare. Vi utvärderade sedan vad som är känt om dessa metoders genomförbarhet, effekter på pollinering av relevanta grödor och om de löser de problem som anses finnas med införda humlor (spridning av patogener, parasiter och gener) genom att använda metoder som var relevanta och möjliga för respektive åtgärd. När så var möjligt sammanställde vi vetenskaplig information om vad som är känt om dessa åtgärders effekter på pollinering och deras risker. När så krävdes använde vi oss av information från experter och odlare. I de fall underlaget har varit för begränsat för att dra säkra slutsatser har vi gjort en bedömning utifrån den kunskap som finns att tillgå men betonat den osäkerhet som finns.

8.2 Resultat från litteraturstudien

Vi identifierade tre möjliga åtgärder som skulle kunna användas inne i växthus för att undvika att en förlust av införda humlor får negativa konsekvenser för produktionen (1–3 i listan nedan). I frilandsodlingar och öppna tunnlar, där det redan idag förekommer både honungsbin och vilda pollinerare, identifierade vi ytterligare två (4–5 i listan nedan). I detta kapitel utreder vi var och en av dessa åtgärders lämplighet med avseende på produktionsförlust och, när det är relevant, minskad risk för spridning av patogener, parasiter och främmande gener. Åtgärderna som identifierades var följande:

1. Att använda bin (honungsbin, humlor eller solitärbin) som föds upp i Sverige
2. Handpollinera eller använda mekaniska lösningar för pollinering
3. Ersätta grödorna med grödor som är mindre beroende av humlor

4. Gynna förekomsten av vilda pollinerare, i synnerhet humlor och andra vildbin
5. Locka pollinerare till odlingarna

8.2.1 Att använda bin som föds upp i Sverige

På ett globalt plan förekommer det flera arter av domesticerade bin, vilka inkluderar olika arter av honungsbin, humlor och solitära bin (Free 1993). Honungsbin används frekvent i frilandsodlingar (Pedersen m.fl. 2009). Däremot är det inte optimalt att använda honungsbin i växthus (Sabara & Winston 2003), i synnerhet inte när målet är att pollinera tomatblommor, av vilka honungsbin är ganska ineffektiva pollinerare (Banda & Paxton 1991). Eftersom det är just vid växthusodling av tomat de köpta humlesamhällena har störst betydelse (van Heemert m.fl. 1990 och [figur 2.2](#)), så är det också här behovet av att ersätta humlornas funktion är som störst.

8.2.1.1 Att använda honungsbin

Utöver införda humlesamhällen av mörk jordhumla förekommer i Sverige bara en domesticerad biart - honungsbiet - som används frekvent i flera av de grödor som odlas i tunnlar och på friland. Både honungsbin och mörka jordhumlor är relativt korttunga i jämförelse med flera humlearter (Hawkins 1969, Persson m.fl. 2015) och överlappet mellan vilka grödor de besöker är stort ([tabell 3.2](#) och [8.1](#); Pedersen m.fl. 2009). Eftersom honungsbin och mörk jordhumla används för pollinering i stora delar av världen (Ruttner 1988, Velthuis & Doorn 2006) har det gjorts flera jämförande studier mellan de bägge arternas lämplighet att pollinera olika grödor ([tabell 8.1](#)). Det finns grödor där den ena arten är mer fördelaktig än den andra men resultatet varierar något mellan studier ([tabell 8.1](#)). Orsaken till detta kan vara att arternas egenskaper gör dem fördelaktiga på något olika vis; det är till exempel inte ovanligt att humlor är något mer effektiva per besök än vad honungsbin är men å andra sidan förekommer honungsbin ofta i högre antal (Isaacs & Kirk 2010, Pfister m.fl. 2017, Rader m.fl. 2009). Vidare är humlor, med sin större temperaturtolerans, mer pålitliga blombesökare vid låga temperaturer (Paydas m.fl. 2000) och tidiga morgnar (Sapir m.fl. 2017) medan honungsbin är mer blomtrogna och därför i större utsträckning sprider pollen inom en växtart än mellan växtarter (Pierre 2001). Denna egenskap varierar dock mellan humlearter och mörk jordhumla hör till de mer blomtrogna arterna (Pierre 2001, Raine & Chittka 2005).

Tabell 8.1. Sammanställning av studier som jämfört honungsbins och mörka jordhumlors inverkan på pollinering och skörd av grödor där man idag använder sig av införda humlesamhällen i Sverige (tabell 3.2).

Gröda	Odlingsform	Pollineringsmått	Mörk jordhumla	Honungsbi	Mest positiv inverkan	Källa
Hallon	Friland	Småfrukt per hallon	Negativ	Negativ	Honungsbiet var minst dåligt	Sáez m.fl. 2014
Hallon	Friland	Pollen-deposition per blombesök	Positiv	Positiv	Mörk jordhumla	Willmer m.fl. 1994
Jordgubbar	Tunnel	Jordgubbsvikt	Ingen	Ingen	Ingen	Trillo m.fl. 2018
Jordgubbar	Växthus	Jordgubbsvikt	Positiv	Positiv	Mörk jordhumla	Paydas m.fl. 2000a
Jordgubbar	Växthus	Jordgubbsvikt	Positiv	Positiv	Mörk jordhumla	Paydas m.fl. 2000b
Melon	Tunnel	Skörd, påskyndad mognadstid	Positiv	Positiv	Mörk jordhumla	Incalcaterra m.fl. 2003
Melon	Växthus	Skörd, fruktvikt	Positiv	Positiv	Skörd: lika; vikt: mörk jordhumla	Dasgan m.fl. 1999
Paprika	Växthus	Skörd	Positiv	Positiv	Lika	Dag & Kammer 2001
Plommon	Friland	Skörd	Positiv	Positiv	Lika	Calzoni & Speranza 1996
Plommon	Friland	Fruktvikt	Positiv i burförsök	Positiv i burförsök	Lika i burarna, men humlorna besökte inte blommorna utanför burarna	Calzoni & Speranza 1998
Pumpa	Friland	Pollen-deposition	Positiv	Positiv	Per besök: humlor; totalt: honungsbin	Pfister m.fl. 2017
Pumpa	Friland/tunnel	Antal frön, frösvikt	Positiv	Positiv	Mörk jordhumla	Fuchs & Müller 2004
Päron	Friland	Pollen-deposition	Positiv	Positiv	Lika	Quinet & Jacquemart 2017
Päron	Friland	Groende pollenslangar	Positiv	Positiv	Lika	Jacquemart m.fl. 2006
Rödklöver	Friland	Skörd	Positiv	Negativ	Mörk jordhumla	Totland Müller 2017
Surkörsbär	Friland	Skörd	Positiv	Positiv	Lika	Hansted m.fl. 2015
Tomat	Växthus	Fruksättning, vikt per frukt	Positiv	Positiv	Mörk jordhumla	Banda & Paxton 1991
Viltklöver	Burar	Skörd	Positiv	Positiv	Honungsbin	Cecen m.fl. 2007
Åkerböna	Friland	Frösättning	Positiv	Positiv	Lika	Marzinzig m.fl. 2018

I vissa grödor har humlor tydliga fördelar i jämförelse med honungsbin. Detta gäller till exempel i surrpollinerade grödor som tomat och trädgårdsblåbär. Trädgårdsblåbär odlas i tunnlar eller på friland. I frånvaro av humlor kan honungsbin ha stor betydelse för skörden men det finns också en risk att just närvaron av honungsbin förstärker bristen på pollinerande humlor (Isaacs & Kirk 2010).

Även i rödklöver verkar honungsbin tränga undan mer effektiva pollinerare (Wermuth & Dupont 2010) vilket gjort att deras positiva nettoeffekt på pollinering av rödklöver har ifrågasatts (Totland Müller 2016).

Att honungsbin är olämpliga vid tomatpollinering beror bara delvis på att de inte är lika effektiva pollinerare som humlor (Banda & Paxton 1991). Andra orsaker till honungsbinas olämplighet är att de har svårt att klara sig i växthus om de bara kan samla pollen från tomatblommor vilket gör att samhället försvagas på bara några veckor (Sabara & Winston 2003). Om honungsbin ska användas istället för humlor inne i växthus så behöver samhällena därför bytas ut ungefär var tredje vecka (Sabara & Winston 2003). Visserligen klarar de sig bättre om de har möjlighet att även söka efter föda utanför växthuset (Sabara & Winston 2003) men denna lösning riskerar istället att leda till att de inte pollinerar tomatblommorna (Sabara 2004). Vid odling av just tomater bör pollineringen med hjälp av honungsbin dessutom kompletteras med mekanisk pollinering genom vibration (Banda & Paxton 1991).

Det finns forskning som visar att honungsbin kan sprida smittor till vilda bin (Fürst m.fl. 2014, Graystock, Goulson & Hughes 2014, Ravoet m.fl. 2014, Wilfert m.fl. 2016). Dessutom kan transport av bisamhällen – till exempel mellan pollineringsuppdrag – innebära ökad risk för smittspridning bland honungsbin (Wilfert m.fl. 2016).

Slutsatsen blir att det både finns för- och nackdelar med att använda honungsbin istället för odlade humlor på friland och i tunnlar, och huruvida det ena eller andra alternativet är att föredra varierar mellan grödor och beror bland annat på den omgivande temperaturen när grödorna blommor. Eftersom vilda humlor kan komplettera honungsbinas pollinering är det sannolikt att ett skifte till honungsbin skulle ha begränsad effekt på skördarna av många frilands- och tunnelodlade grödor. Dock kan sårbarheten öka vid ostadigt väder, särskilt tidigt på säsongen innan vilda humlesamhällen hunnit växa till sig. Det finns även en osäkerhet kring om honungsbin kan påverka vissa grödor negativt genom att tränga undan dessa mer effektiva vilda pollinerare. I växthus är honungsbin i de flesta fall inte ett realistiskt alternativ till odlade humlor.

8.2.1.2 Föda upp inhemska humlor

I vårt grannland Norge finns det företag som föder upp och säljer bon av inhemska mörk jordhumla (Velthuis & Doorn 2006). Eftersom den svenska tomatproduktionen är större än den norska (FAO 2017) är det rimligt att anta att en nationell produktion hade kunnat ske även i Sverige. Ett projekt med odling av svenska humlor har startats upp under 2018. Krav på nationell uppfödning kan, åtminstone teoretiskt, leda till högre priser på grund av förlorade stordriftsfördelar och minskad konkurrens mellan uppfödare, men det finns inga beräkningar av hur stor en sådan effekt skulle bli. Det finns också en möjlighet att de införda humlorna har egenskaper som gör dem mer eller mindre lämpade som pollinerare

av grödor, men inte heller här finns någon systematisk eller vetenskaplig information att tillgå.

Genom att föda upp inhemska humlor minskar man risken för spridning av främmande gener. Dock kan det noteras att ursprunget av humlor inte nödvändigtvis är lokalt bara för att man använder sig av nationsgränser som kriterium. Inhemsk produktion av humlor kan också minska risken för spridning av exotiska patogener och parasiter eftersom inga humlor förs in i landet. Däremot löser inhemsk produktion av humlor inte problemet med smittspridning mellan olika delar av landet. Dessutom skulle även inhemsk produktion kunna leda till införsel av exotiska smittor om pollen förs in från andra länder. För att undvika smittspridning och införsel av exotiska smittor via pollen är det viktigt att nationellt pollen används och att detta steriliseras eller, helst, att artificiellt pollen som aldrig har kommit i kontakt med bin utanför anläggningen används (Graystock m.fl. 2016). I den småskaliga humleuppfödning som sker i Sverige idag används lokalt insamlat pollen (pers. komm.).

Vi drar slutsatsen att svenskuppfödda humlor skulle kunna minska behovet av de införda humlorna. Det är inte klarlagt om och hur mycket svensk uppfödning minskar risker ur ett smittspridningsperspektiv. En hög hygienisk standard, bland annat i samband med sterilisering av eventuellt pollen, är lika viktig för en svensk producent som för en utländsk. Det finns även risk att man sprider humlegener mellan olika delar av landet. Däremot står det helt klart att svenskuppfödda humlor som föds upp på pollen insamlat i Sverige inte kan föra med sig exotiska patogener, parasiter och gener in i landet.

8.2.1.3 Föda upp inhemska solitärbin

Solitärbin är viktiga pollinerare av många grödor ([tabell 3.2](#)) och man räknar exempelvis med att de vilda solitärbinas bidrag till äppelskörden i Storbritannien är större än det gemensamma bidraget från humlor, honungsbin och blomflugor (Garratt et al. 2016). På ett globalt plan förekommer försäljning av flera arter av solitärbin, bland annat från släktena tapetserarbin (*Megachile*) och murarbin (*Osmia*) (Herrmann 2018, Strickler 2014). Solitärbin distribueras till odlarna i form av kokonger och kan placeras i eller intill en artificiell boplat (Herrmann 2018) vilket gör det enkelt för odlarna att bestämma var bina bosätter sig och därmed förekommer i högst koncentration.

Även vilda populationer av solitärbin, bland annat av arten rödmurarbi (*Osmia bicornis*), kan gynnas genom att bina förses med boplatser. Detta görs genom att sätta ut så kallade biholkar vilket är enkla artificiella boplatser. Denna åtgärd fungerar dock inte alltid, vilket kan bero på felaktig utformning eller skötsel av bihotell, som leder till ojämn könsfördelning och smittspridning (MacIvor & Packer 2015; Seidelmann m.fl. 2016; Mader m.fl. 2010). Om åtgärden ska fungera behövs det kommersiellt tillgängliga bihotell som är optimalt utformade och enkla att sköta. På friland kan odlare bygga upp lokala populationer av solitärbin genom att förse bina med tillräckligt med boplatser (se [avsnitt 8.3](#);

Steffan-Dewenter & Schiele 2008). Biholkar kan flyttas till lämplig plats innan pupporna kläcks på våren. Den tidpunkt då pupporna kläcks påverkas av den omgivande temperaturen (Persson, Mazier & Smith 2018). Eftersom rödmurarbin kan användas som jordgubbspollinerare inne i stängda tunnlar (Wilkaniec & Radajewska 1997) öppnar detta upp möjligheten att placera ut biholkar med insamlade kokonger inne i tunnlar och därmed få pollinering innan det är varmt nog för solitärbin att vakna på friland.

Vid tomatpollinering behövs bin som i likhet med humlor kan utföra surrpollinering och det är det inte bara humlor utan även flera arter av solitärbi som kan (Buchmann 1985, Cane 2014, Dukas & Dafni 1990). Vidare måste bina kunna orientera sig, bygga bo och samla mat inne i växthusen. Det finns några exempel på experiment där olika arter av solitära bin har hållits inne i växthus eller stängda tunnlar för att pollinera blommor, vilket tyder på att detta är en möjlighet (Sadeh m.fl. 2007, Schulze m.fl. 2012, Stubbs & Drummond 1999, Wilkaniec & Radajewska 1997). Slutligen måste bina även gå att distribuera till odlarna, exempelvis i form av kokonger, såsom görs med kommersiellt uppfödda rödmurarbin (Herrmann 2018).

Även om det rent hypotetiskt är realistiskt att någon av de ungefär 260 arter av solitära bin som förekommer i Sverige (Artdatabanken 2018) kan uppfylla dessa krav, så är det oklart vilka dessa arter är och det finns idag ingen som tillhandahåller dem. I dagsläget är solitärbin därför inte ett alternativ till införda humlor vid pollinering i tomatodlingar. Däremot anser vi att det är fullt möjligt att solitärbin kan ersätta införda humlor i frukt- och bärödlingar genom att odlare själva sätter ut och flyttar runt bihotell efter pollineringsbehov, men det saknas fullskaleförsök som visar nettoeffekten på pollinering. Dessutom är det oklart om detta skulle innebära minskad risk för smittspridning till vilda pollinerare. Även vid uppfödning av solitära bin kan det uppstå problem med spridning av smittor (James & Pitts-Singer 2013).

8.2.2 Handpollinering och mekanisk pollinering

Handpollinering är ett kostsamt alternativ. Globalt förekommer handpollinering av vissa grödor, till exempel vanilj (Kull m.fl. 2009, Partap & Ya 2012), vilket är möjligt eftersom vanilj hör till världens dyraste kryddor och framförallt produceras i länder med låg arbetskostnad (Azeez 2008). I en region i Kina har man börjat handpollinera äppelblommor eftersom det är ont om vilda pollinerare och odlarna har haft svårt att få biodlare att sätta ut honungsbin på grund av hög användning av växtskyddsmedel. Efterhand har dock äppelträden ersatts av grödor med mindre behov av insektspollinering (Partap & Ya 2012).

Innan det fanns möjlighet att köpa in humlor kommersiellt pollinerades tomatblommor i Europa med hjälp av honungsbin, men vid växthusodling användes även handpollinering trots att arbetskostnaden var förhållandevis hög. Handpollinering av tomater görs med en mekanisk vibrator (Hanna 2004), där

vibrationen, likt surrpollinering, får pollen att lossna från ståndarna. Det går att uppnå en relativt god pollinering genom att kombinera mekanisk vibrering med honungsbin men ändå inte lika god pollinering som den som utförs av humlor (Banda & Paxton 1991). Ett billigare alternativ än mekanisk vibration är att blåsa på plantorna med en lövblås. Trots att pollineringen inte blir lika hög som när man pollinerar med en handhållen mekanisk vibrator lönar det sig i jämförelse med användning av en vibrator eftersom arbetskostnaden blir lägre (Hanna 2004). I en studie i öppna tunnlar uppnåddes bäst effekt när plantan utsattes för blåst under 5–10 sekunder vid minst 4 tillfällen (Gerald Brust, opublicerat). Trots att denna typ av pollinering är billigare än mekanisk vibration (Hanna 2004) är kostnaderna ändå högre jämfört med användning av humlor. En enkel kalkyl visar att den ökade arbetsinsatsen för endast själva pollineringen skulle kräva minst 2,8 heltidsanställda i en odling på 10 000 kvm.², medan inköp av 1–2 humlesamhällen för att pollinera samma yta kostar några hundra kronor (Johannette Klapwijk, personlig kommunikation) samtidigt som det senare sannolikt ger en bättre pollinering (Banda & Paxton 1991, Hanna 2004). Med andra ord skulle lönsamheten drabbas kraftigt vid ett skifte från humlor till handpollinering och det går därför inte att betrakta handpollinering som ett realistiskt alternativ till införda humlor.

En prototyp på en vaniljpollinerande robot har utvecklats även om effekten på själva pollineringen inte har utvärderats empiriskt än (Shaneyfelt m.fl. 2013). Nyligen lyckades man dessutom programmera drönare till att pollinera liljor (Chechetka m.fl. 2017). Vi känner inte till några robotar eller drönare som utvecklats för att pollinera några av de grödor där införda humlor används men eftersom tekniken existerar är det sannolikt att det går att anpassa den efter blommor av annat utseende. Dock har drönarpollinering kritiserats eftersom den varken är lika effektiv, pålitlig eller miljömässigt hållbar som att använda sig av levande pollinerare (Potts m.fl. 2018). I dagsläget är detta inte ett realistiskt alternativ till införda humlor.

8.2.3 Minska behovet av insektspollinering

Behovet av insektspollinering varierar mellan olika grödor ([tabell 2.2](#); Klein m.fl. 2007) liksom mellan olika sorter inom en viss gröda (Klatt m.fl. 2014, Lindström m.fl. 2016). Detta gör att lantbrukare genom att byta gröda eller sort kan motverka skördekonsekvenser av en minskning av pollinerande insekter. I princip kan därför odlare i brist på pollinerande humlor välja att odla andra grödor eller sorter som är mindre beroende av insektspollinering. Om en övergång till sorter

² Enligt information från Johannette Klapwijk (Koppert), är tätheten av plantor ca 2–3 per kvm, det vill säga minst 20 000 plantor i en odling på 10 000 kvm. Om vi bortser från att den anställda inte behöver viss tid för att röra sig mellan dessa plantor blir minsta möjliga tidsåtgång för pollineringen: $5 \times 20\,000$ tomatplantor $\times 4$ gånger per vecka = 111 timmar per vecka.

som är mindre beroende av insekters pollinering leder till att färre sorter odlas, kan detta öka sårbarheten vid eventuella sjukdomsutbrott eller snabba miljöförändringar (IPBES 2016). Att välja en annan gröda eller sort kommer dessutom i många fall leda till försämrad ekonomi för odlaren – i annat fall hade sannolikt den alternativa grödan eller sorten redan odlats. Här fokuserar vi på de möjligheter som finns att fortsätta produktionen av en viss gröda genom att byta sort och inte på möjligheten odlare har att helt byta inriktning genom att sluta odla den insektspollinerade grödan.

Hos flera av de grödor som odlas på friland (till exempel hallon och jordgubbar, Free 1993, Klatt m.fl. 2014) och i växthus (till exempel gurka, Free 1993) finns det sorter med olika nivåer av pollineringsberoende. Ett möjligt alternativ är att utnyttja växtförädling, klassisk eller genteknik, för att ta fram nya grödsorter som är mindre beroende av insektspollinering. Detta kan handla om att selektera för egenskaper som ökad själv- eller vindpollinering i grödor där det förekommer en variation inom dessa egenskaper, vilket till viss del redan har gjorts inom klassisk växtförädling. Av denna orsak är behovet av insektspollinering redan idag ofta lägre hos förädlade grödor än hos vilda varianter (Free 1993). Det kan också handla om att utveckla sorter som kan bilda frukter i avsaknad av fertilisering, till exempel frölösa frukter (Knapp m.fl. 2017). Detta kan även ha andra fördelar, som att konsumenterna ofta föredrar frukt utan frön (Varoquaux m.fl. 2000). Frölösa sorter finns redan idag på marknaden, till exempel vissa sorters gurka ([tabell 2.2](#)), men för att generellt minska behovet av insektspollinering behöver fler alternativ bli tillgängliga på marknaden.

Vi anser att det är realistiskt att enskilda odlare kan minska behovet av införda humlor genom att använda mindre pollinerarberoende sorter, men eftersom odlarna därmed hade blivit begränsade till färre sorter, så kan det antas ha negativ inverkan på verksamhetens lönsamhet. I de flesta av de grödor där man använder införda humlor saknas dessutom sorter som är helt oberoende av insektspollinering ([tabell 2.2](#)), vilket innebär att en odlare som väljer de minst insektsberoende sorterna ändå kan drabbas av minskad produktion om hen inte samtidigt lyckas öka pollineringen med honungsbin eller vilda pollinerare.

8.2.4 Ersätta införda humlor med vilda pollinerande insekter

Flera vilda insekter pollinerar grödor som är beroende av insektspollinering och deras bidrag till pollinering av frilandsodlade grödor är ofta stort (Garibaldi m.fl. 2013; Rader m.fl. 2015). I frilandsodlingar skulle därför ett alternativ till införda humlor kunna vara att sätta in åtgärder för att förbättra vilda pollinerares möjlighet att pollinera grödor. Naturligtvis utgör då åtgärder som gynnar vilda bin inklusive humlor det mest uppenbara alternativet, men det finns även andra grupper av vilda pollinerare, såsom blomflugor, fjärilar, myggor och skalbaggar, som kan kompensera för bortfall av införda humlor i vissa grödor ([tabell 2.2](#)).

Många arter av vilda bin har uppvisat kraftiga tillbakagångar under det senaste århundradet (Dupont m.fl. 2011, Biesmeijer m.fl. 2006, Bommarco m.fl. 2011) vilket i sig är en orsak till att det finns behov att komplettera med införda humlor för att pollinera grödor. Det finns flera orsaker till dessa nedgångar vilka innefattar förlust av miljöer rika på blommor och boplatser, såsom fältkanter, hagmarker och slåtterängar (Ihse 1995, Johansson m.fl. 2008, Persson & Smith 2013, Scheper m.fl. 2014). Dessutom kan ytterligare faktorer som användandet av växtskyddsmedel och spridning av sjukdomar ha spelat in (Goulson m.fl. 2015). Inte bara bin har minskat i antal utan flera grupper av pollinerare visar liknande mönster (Van Dyck m.fl. 2009). Dessa pollinerares trender är dock mindre enhetliga (Biesmeijer m.fl. 2006) och det saknas tillförlitliga långtidsdata vilket gör det svårt att veta hur trenderna ser ut för olika typer av pollinerare i olika delar av världen (IPBES 2016).

För att öka vilda pollinerares bidrag till pollinering av grödor kan man antingen gynna populationsstorleken hos vilda pollinerare eller genomföra åtgärder som gör att fler pollinerare attraheras till grödan. För att gynna pollinerares populationsstorlek kan man motverka de faktorer som drivit populationsminskningar, men man kan också fokusera på faktorer som begränsar storleken på deras populationer oavsett vad som historiskt har lett till populationsminskningar.

8.2.4.1 Bevara eller skapa varierade landskap och viktiga livsmiljöer

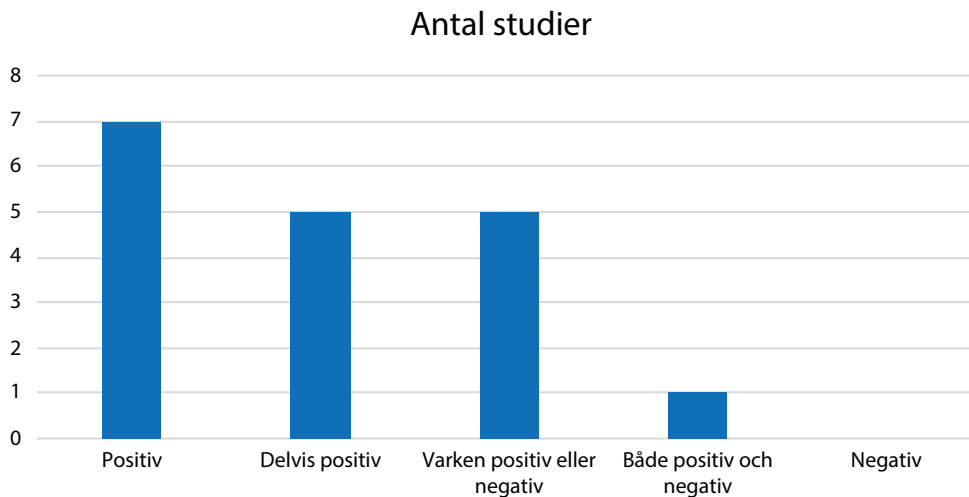
Tillgången till både boplatser och födoresurser kan ökas genom att bevara eller skapa mer varierade landskap, med högre förekomst av mer eller mindre ostörda habitat så som hagmarker, fältkanter eller ruderatmarker. Det finns gott om studier som visar att mer varierade landskap understödjer större populationer av vilda bin (till exempel Persson & Smith 2013, Rundlöf m.fl. 2008) och fjärilar (till exempel Rundlöf & Smith 2006, Öckinger & Smith 2006, Öckinger & Smith 2007) medan detta inte är lika tydligt för blomflugor (Ekroos m.fl. 2013, Jauker m.fl. 2009, Meyer m.fl. 2009). Färre studier har utvärderat effekten av landskapsvariation på produktion av grödor via pollinering ([tabell 8.2](#)). För de frilandsgrödor där man använder införda humlor i Sverige idag är den generella trenden att varierade landskap eller närhet till naturmiljöer gynnar pollineringen ([tabell 8.2](#)).

Varierade landskap och närhet till miljöer som är viktiga för vildbin har generellt positiva effekter på grödpollinering och skörd ([tabell 8.2](#) och [figur 8.1](#); Garibaldi m.fl. 2011). Eftersom pollinerare rör sig över relativt stora avstånd (Steffan-Dewenter m.fl. 2002) kan det dock vara svårt för en odlare som inte äger mycket mark kring odlingen att påverka storleken på de populationer som pollinerar den egna grödan. Därför kan det krävas samarbete mellan markägare kring åtgärder som gynnar pollinerande insekter för att satsningar ska få maximal önskad effekt (Cong m.fl. 2014). Däremot är det troligt att ökad variation av och ökad närhet till naturmiljöer även på mindre skalor kan öka förekomsten av vilda pollinerare som kompletterar de införda humlornas pollinering.

Tabell 8.2. Sammanställning av studier som undersökt effekten av bevarad landskapsvariation (skattad som exempelvis förekomsten av naturmiljöer, eller som adersen av intensiv fruktodling inom 1 km) eller närhet till naturmiljöer på pollinering av grödor där man idag använder införda humlesamhällen (Tabell 2.2).

Gröda	Mått på pollinering	Landskaps-mått	Effekt av landskapsmått	Studie
Jordgubbar	Andel utvecklade "frön"	Variation	Ingen effekt	Bukovinsky m.fl. 2017
Jordgubbar	Vikt	Närhet till naturmiljö	Positiv	Stewart m.fl. 2017
Jordgubbar, melon, sötkörbär, trädgårds-blåbär, åkerböna m.fl. ^{1,2}	Blombesök, skörd	Närhet till naturmiljö	Positiv och stabiliserande	Garibaldi m.fl. 2011
Jordgubbar, åkerböna, m.fl. ¹	Blombesök, skörd	Variation	Positiv	Bartomeus m.fl. 2014
Pumpa	Blombusik	Variation	Ingen-svagt positiv	Julier & Roulston 2009
Pumpa	Avlämnat pollen	Variation	Positiv	Pfister m.fl. 2018
Rödklöver	Blombesök, frösättning	Variation	Ingen (blombesök), Positiv (frösättning)	Diekötter m.fl. 2010
Rödklöver	Blombesök, frösättning	Variation	Ingen	Rundlöf m.fl. 2018
Sötkörbär	Fruksättning	Variation	Ingen-positiv beroende på estimat	Eeraerts m.fl. 2017
Sötkörbär	Blombesök, fruksättning	Variation	Positiv	Holzschuh m.fl. 2012
Sötkörbär	Blombesök, skörd	Variation	Ingen	Schüepp m.fl. 2014
Trädgårdsblåbär	Blombesök	Variation	Positiv	Vieli m.fl. 2016
Åkerböna	Skörd	Variation	Positiv, men bara på ekologiska gårdar	Andersson m.fl. 2014
Åkerböna ¹	Andel utvecklade frön	Variation	Oftast positiv, negativ intill blomremsa	Herbertsson m.fl. 2018
Åkerböna	Blombesök	Variation	Positiv	Nayak m.fl. 2014
Åkerböna, melon, m.fl. ^{1,2}	Blombesök, skörd	Närhet till naturmiljö	Positiv (blombesök) ingen effekt (skörd)	Ricketts m.fl. 2008
Äpple	Blombesök	Variation	Positiv	Park m.fl. 2015
Äpple	Blombesök	Variation	Påverkar effekt av blomremsan	Campbell m.fl. 2017
Äpple	Blombesök	Variation	Flera mått, varav ett med (positiv) inverkan	Földesi m.fl. 2016
Äpple	Blombesök	Variation	Ingen	Samnegård m.fl. 2018

¹ Även effekt på grödor/växter som inte listas i denna sammanställning ingår i studien och kan ha påverkat resultatet



Figur 8.1. Summering av landskapets effekt i de studier som presenteras i [tabell 8.2](#). De två studier som bygger på multipla dataset (Garibaldi m.fl. 2011 & Ricketts m.fl. 2008) har exkluderats, eftersom de till stor del överlappar med varandra och övriga studier.

8.2.4.2 Anlägga habitat med blomresurser inom eller runt grödor

Brist på föda, särskilt från högsommaren och framåt, tros vara en begränsande faktor för humlors populationer i moderna odlingslandskap (Persson & Smith 2013). Eftersom pollinerarna behöver tillgång till blommor under hela den period då de är aktiva räcker det inte med att det finns gott om blommor under vissa delar av säsongen (Persson & Smith 2013, Westphal m.fl. 2009). Genom att anlägga habitat med blommor i närheten av pollineringsberoende grödor kan man öka de lokala populationsstorlekarna av pollinerare som sedan kan besöka och pollinera grödan. Det är bra om den pollineringsberoende grödan inte blommar samtidigt som de blommande habitaterna för att undvika konkurrens. Det finns många studier som har utvärderat förekomsten av pollinerare i blommande habitat och funnit positiva effekter (Scheper m.fl. 2015) vilket visar att de utnyttjas av individer som letar efter föda. Betydligt färre studier har visat att de har positiva effekter på överlevnad, förökning eller populationsstorlek hos pollinerare (Jönsson m.fl. 2015). Blomodling kan påverka pollinering av blommande grödor, men det är inte alla studier som funnit positiva effekter (sammanfattning i [tabell 8.3](#) och [figur 8.2](#)). Effekten beror av hur det omgivande landskapet ser ut, med störst effekt i landskap som varken har extrem brist på naturliga habitat eller har väldigt mycket naturliga habitat (Grab m.fl. 2018).

Det finns flera alternativa åtgärder för att öka förekomsten av pollen- och nektarrika växter i eller intill den gröda man önskar pollinera ([tabell 8.3](#)). Blomplanteringar som framför allt har som syfte att gynna pollinerare eller andra insekter utformas ofta som linjära remsor eller blomåkrar på åkermark, och ibland som planteringar strax utanför åkern. Vissa av dem planteras med inhemska vildväxter, andra med odlade växter och ibland besås de inte alls utan lämnas orörda för naturlig föryngring med växter från fröbanken ([tabell 8.3](#)). Blomplantering-

arna kan vara tillfälliga, för att locka insekterna till fälten strax innan blomning, eller perenna, med mål att bygga upp populationerna av pollinerande insekter (Blaauw & Isaacs 2014, Rundlöf m.fl. 2018).

Tabell 8.3. Sammanställning av studier som undersökt effekten av planterade blomresurser på pollinering av grödor där man idag använder köpta humlesamhällen (tabell 3.2).

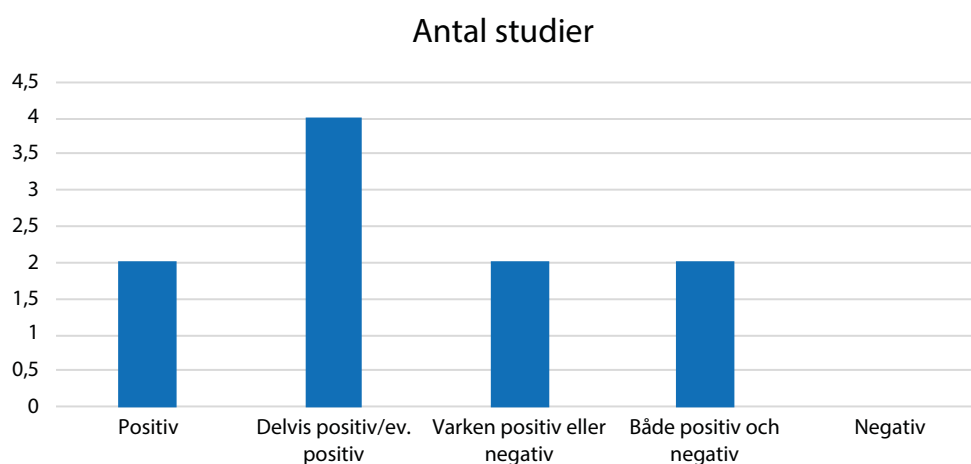
Gröda	Effekt mätt på	Typ av blomresurs	Effekt av blomresurs	Samblommade med grödan	Studie
Gurka	Skörd	Fleråriga ¹ blomresor (grödor ²)	Ingen	Ja	Quinn m.fl. 2017
Jordgubbar	Blombesök	Fleråriga ¹ blomresor (vilda växter)	Positiv, men ev. p.g.a. kommersiella humlekolonier	Ja	Feltham m.fl. 2015
Jordgubbar	Skörd	Tidigare blommande gröda (äpple)	Negativ under samblomning, positiv efteråt	Delvis	Grab m.fl. 2017
Rödklöver	Blombesök, skörd	Tillfälliga blomresor (<i>Phacelia</i>)	Ingen, men skörden ökade med remsans storlek	Delvis	Rundlöf m.fl. 2018
Trädgårds-blåbär	Blombesök, skörd	Fleråriga ¹ blomplanteringar (vilda växter)	Positiv efter 2 år	Ja	Isaac & Blaauw 2014
Trädgårds-blåbär	Blombesök, skörd	Fleråriga ¹ blomtor (grödor ² /vilda växter/fröbank)	Positiv efter 2 år (blombesök) ingen effekt (skörd)	Ja	Venturini m.fl. 2017
Åkerböna	Frösättning	Fleråriga ¹ blomresor (grödor ² /vilda växter)	Positiv (slättlandskap)-negativ (varierande landskap)	Ja	Herbertsson m.fl. 2018
Äpple	Blombesök	Fleråriga ¹ blomresor (vilda växter)	Positiv, men bara <100 m från naturmiljö	Ja	Campbell m.fl. 2017
Äpple	Blombesök	Undervegetation	Positiv på honungsbin, inte övriga	Ja	Földesi m.fl. 2016
Äpple	Blombesök	Undervegetation	Positiv	Ja	Samnegård m.fl. 2018

¹ Med fleråriga menas mer än en säsong. I vissa fall började studien redan under första säsongen (Quinn m.fl. 2017; Isaac & Blaauw 2014; Venturini m.fl. 2017; Herbertsson m.fl. 2018) i andra fall påbörjades studien först senare. Alla som använt fleråriga blomresor, undantaget Campbell m.fl. (2017), har mätt effekter på blomresor med olika ålder, men endast två studier (Venturini m.fl. 2017; Isaac & Blaauw 2014) tog med remsans ålder i beräkningen av dessa effekter.

² Till grödor räknas växter som odlas, t.ex. solrosor och honungsfacelia i Europa och skogsklöver i Nordamerika. Om ingen art specificeras rör det sig om mer än en art.

Ett alternativt sätt att skapa kontinuitet i pollinerarnas födotillgång eller att locka pollinerarna till odlingen är att odla grödor med komplementära blomningstider (tabell 8.3). Odling av blommande grödor med olika blomningstid har visat sig gynna förekomsten av pollinerare och ha positiv inverkan på skörden i den senare grödan (Grab m.fl. 2017, Riedinger m.fl. 2014) och det finns visst evidens för att tidigblommande grödor kan ha liknande effekt på vilda växter, vilket ger ytterligare stöd för att denna strategi kan fungera (Herbertsson m.fl. 2017). En sen gröda kan potentiellt också gynna pollineringen av en tidig gröda genom att öka populationsstorleken inför kommande år. I landskap med höst-raps, bidrar en senblommande gröda till att öka förekomsten av humledrottningar

och humlehanar, vilka kan föra populationen vidare till nästa år (Rundlöf m.fl. 2014). Genom att planera för grödor med olika blomningstid, så att det alltid finns föda för pollinerarna, är det alltså möjligt att man kan bygga upp deras populationer och därigenom öka pollineringen av grödor. Vi har dock inte hittat några studier som har undersökt konsekvenser av senblommande grödor på humlor över mer än en säsong, vilket krävs för att ta reda på om detta är en möjlig åtgärd att på lång sikt öka den lokala förekomsten av humlor. Om man använder blommande grödor med olika blomningstid som strategi för att bygga upp populationerna av humlor och andra pollinerande insekter finns det risker att ha i åtanke (IPBES 2016). Eftersom grödor ofta behandlas med växtskyddsmedel kan förlängd tillgång till blommande grödor innebära ökad exponering av pollinering för växtskyddsmedel. Dessutom finns det en risk för att den enformiga diet som pollinerarna har tillgång till i blommande grödor orsakar näringsbrist hos pollinerarna (Alaux m.fl. 2010, Di Pasquale m.fl. 2013).



Figur 8.2. Summering av planterade blomresursers inverkan på skördar enligt de studier som presenteras i [tabell 8.3](#).

Samtidigt som ökad förekomst av pollinering kan gynna pollineringen på sikt genom ökade pollinerarpopulationer (Blaauw & Isaacs 2014) konkurrerar blommor i anlagda habitat med grödan om besök från pollinerarna (Quinn m.fl. 2017). Därför är det inte självklart att en ökad mängd blommor i landskapet gynnar grödpollineringen ([tabell 8.3](#) och [figur 8.2](#)). Ett sätt att undvika konkurrenseffekten är att klippa ner konkurrerande blommor när grödan börjar blomma (Delaplane m.fl. 2000) men vi har inte hittat några vetenskapliga utredningar kring hur denna typ av åtgärd påverkar pollinering av relevanta grödor.

Få av de studier vi har hittat visar en tydlig och enbart positiv effekt av skapade blomresurser på pollinering av grödor ([tabell 8.3](#) och [figur 8.2](#)). En förklaring kan vara att blomresurserna i samtliga fall, åtminstone delvis, har samblommat med grödan ([tabell 8.3](#)) och därmed även konkurrerat om besök av pollinerande insekter (Grab m.fl. 2017, Holzschuh m.fl. 2011). En annan orsak kan vara att blomresurserna inte har funnits tillräckligt länge för att ha uppnått maximal effekt på pollinerarnas populationer (Blaauw & Isaacs 2014, Venturini m.fl. 2017).

Vi drar slutsatsen att det behövs studier om hur man optimerar de skapade blomresursernas inverkan på skördar för att denna åtgärd ska kunna fungera som alternativ till införda humlor. Samtidigt är det flera studier som visar en positiv, delvis positiv, eller eventuellt positiv effekt på pollinering ([tabell 8.3](#) och [figur 8.2](#)) vilket talar för att åtgärden kan användas som komplement till honungsbin och införda humlor.

8.2.4.3 Skapa boplatser

I den mån pollinerare är begränsade av tillgång till boplatser kan deras populationsstorlek gynnas av att man skapar artificiella bon. Fokus ligger då ofta på att skapa boplatser för bin som kan utnyttja olika typer av håligheter. Håligheterna används för att producera avkomma och dit transporterar de pollen och nektar. Inom ramen för detta projekt har vi utfört fältstudier där vi undersökt två åtgärder som syftar till att skapa boplatser för humlor nämligen att placera ut holkar och halmbalar. Dessa presenteras separat i [avsnitt 8.3](#). Dessutom kan man skapa boplatser för solitära bin genom att placera ut konstgjorda boplatser i form av en samling smala rör eller block med färdigborrade hål i. Insatser för att skapa denna typ av boplatser kan gynna lokala populationer av solitärbin i fruktodlingar (Sheffield m.fl. 2008, Steffan-Dewenter & Schiele 2008). I en tysk studie där man placerade ut boplatser till hålbbyggande bin i fruktodlingar ökade antalet rödmurarbin i holkarna från i genomsnitt knappt 100 per odling under första året till nästan 3 000 under studiens femte år (Steffan-Dewenter & Schiele 2008). Åtgärden kan ha positiv inverkan på pollinering och skörd (Junqueira m.fl. 2013) men vi har inte hittat några exempel på att detta har undersökts i grödor som är relevanta för Sverige ([tabell 2.2](#)). Dessutom finns det risk att åtgärden inte får förväntad effekt (se [avsnitt 8.2.1.3](#)).

8.2.5 Göra grödorna mer attraktiva för pollinerare

En åtgärd som har föreslagits för att motverka pollineringsbrist och samtidigt hjälpa till att bygga upp populationerna av pollinerande insekter är att förädla grödor så att de både blir attraktiva och gynnsamma för pollinerande insekter (Bailes m.fl. 2015) men innan sådana sorter förekommer i handeln är detta inte ett alternativ för enskilda odlare. En annan potentiell åtgärd för att göra grödor mer attraktiva är att spraya doftämnen på blommande grödor. Flera olika typer av ämnen har använts; vanligtvis baserade på sockerrika lösningar, till exempel melass och äppeljuice, och ofta med tillsats av olika typer av honungsbiferomon (Ma m.fl. 2015, Williamson m.fl. 2018). Denna åtgärd kan ha positiv inverkan på skördar (till exempel Anita m.fl. 2012, Jayaramappa m.fl. 2011, Ma m.fl. 2015, Venkataramegowda 2013, Venkataramegowda m.fl. 2013, Patil m.fl. 2011), men majoriteten av dessa studier är utförda i Indien, där det förekommer flera arter av vilda honungsbin (Ruttner 1988). I många andra fall har åtgärden ingen eller otydlig effekt (Delaplane 2009, Elmstrom & Maynard 1990, Keshlaf m.fl. 2013, Schultheis m.fl. 1994, Tsirakoglou m.fl. 1997, Williamson m.fl. 2018). Eftersom

åtgärden samtidigt innebär ökade kostnader för odlaren, bland annat i form av ökad arbetsinsats, drar vi slutsatsen att den i nuläget inte utgör ett reellt alternativ till införda humlor.

8.3 Undersökning av enkla alternativ till införda humlor

8.3.1 Inledning

Att skapa boplatser kan vara ett alternativt sätt att gynna populationer av humlor ([kapitel 8.2.4.3](#)). Bland humlorna är det bara årsnya drottningar som överlever vintern och som när de vaknar från vinterdvalan följande vår söker upp en lämplig boplat. Där anlägger de sitt bo och börjar föda upp arbetare (Goulson 2010). Boplatserna är av olika karaktär beroende på vilken humleart det handlar om och kan exempelvis utgöras av hål i marken, täta grästuvor och håligheter i träd. Det är därför möjligt att åtgärder som skapar liknande strukturer kan användas för att öka förekomsten av humlearbetare som kan pollinera grödor.

Anläggandet av nya boplatser kan potentiellt gynna flera olika humlearter. Detta kan vara en fördel för pollinering av grödor eftersom man då kan få in humlearter med annan tunglängd än den korta tunglängd som mörk jordhumla har (Persson m.fl. 2015). På grund av sin korta tunga är mörk jordhumla bäst lämpad för att söka efter föda från blommor med kort blompip eller stor öppning (Ranta & Lundberg 1980). Om man odlar grödor med djuppipiga blommor, såsom rödklöver och åkerböna, är det en större fördel om man kan öka förekomsten av långtungade humlor (Hawkins 1961, Marzinzig m.fl. 2018). En annan fördel med att locka till sig vilda humlor är att kombinationen av flera olika arter kan leda till säkrare pollinering av grödan eftersom olika arter av humlor är aktiva vid olika temperaturer (Corbet m.fl. 1993) vilket innebär minskad risk för utebliven pollinering vid extrema temperaturer.

Under våren och sommaren 2018 undersökte vi två möjliga åtgärder för att skapa nya boplatser för humlor nämligen humleholkar och halmbalar.

8.3.2 Alternativ 1: Humleholkar

8.3.2.1 Bakgrund

Idén om att öka förekomsten av humlor genom att sätta ut humleholkar fanns redan i början av 1900-talet. Det gjordes då försök med att bygga humleholkar för att locka till sig humlor att använda i experiment (Frison 1926). Senare gjordes uppföljande studier med fokus på att öka förekomsten av pollinerare i rödklöverfröodlingar (Hobbs 1967). Det finns flera exempel på studier där en stor andel av holkarna bebotts av humlor men majoriteten av dessa är utförda

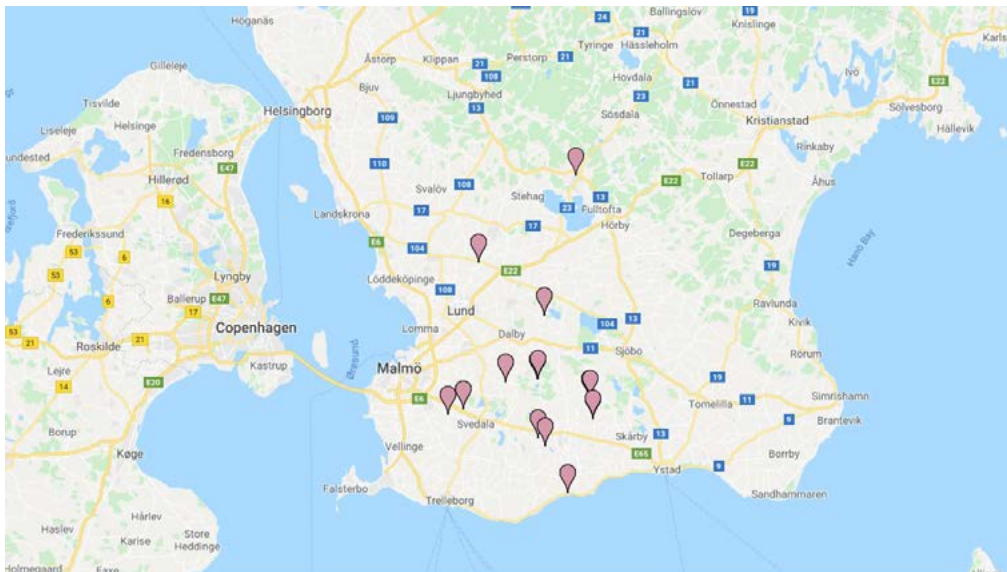
för flera decennier sedan (Dicks m.fl. 2010). Ett par moderna studier har visat att humlor sällan bosätter sig i holkar men också att sannolikheten för att de gör det varierar med holktyp (Lye 2009, Fussell & Corbet 1992). Det finns visst stöd för att holkarna fungerar bättre i blomrika än i blomfattiga miljöer (Lye 2009) vilket skulle kunna bero på att humlornas populationer ofta begränsas av mat-tillgång snarare än av boplatstillgång. I praktiska försök i Norge har man lyckats att ta fram en metod som fungerar väl och som bygger på en imitation av ett övergivet gnagarbo (Atle Mjelde, opublicerat). Enligt uppgifter från Atle Mjelde bebos vanligtvis mellan ungefär 30 % och 75 % av holkarna men under ett enskilt år var bosättningen hela 103 % eftersom alla holkar då beboddes och det fanns två bon av olika arter i en holk (Mjelde, opublicerat). Eftersom flera av de arter som finns i Norge också förekommer i Sverige, är det troligt att denna metod skulle fungera även här men för detta saknas idag belägg.



Figur 8.3. Humleholk placerad längs med ett bestånd av Salix. Foto: Johanna Yourstone

8.3.2.2 Metod

Vi byggde holkar utifrån den nämnda norska holkmodellen. I varje holk skapade vi en liten grotta av fetvadd (bomull som inte har avfettats) och musluktande spån enligt vad vi uppfattade av Atle Mjeldes beskrivning. Fyra holkar placerades ut i vart och ett av 12 studielandskap i sydvästra Skåne (totalt 48 holkar). Holkarna sattes ut den 11–13 april 2018, det vill säga strax efter att bosökande drottningar hade börjat observeras. På de platser där holkarna placerades ut beräknas den metrologiska våren ha ankommit mellan 15 februari och 20 mars (SMHI 2018). I slutet av sommaren 2018 undersökte vi om humlor hade flyttat in i holkarna.



Figur 8.4. Karta över de 12 studielandskap där holkarna placerades ut. I varje studielandskap placerades fyra holkar ut.

8.3.2.3 Resultat och diskussion

Vi hittade inga humlebon i holkarna. Däremot bodde det getingar i en holk. Detta tyder på att humleholkar inte är en effektiv metod för att öka populationer av humlor i Skåne. Det finns emellertid flera möjliga orsaker till att holkarna inte hade avsedd effekt. Först och främst är det möjligt att de placerades ut för sent. Kanske drottningarna noterade att holkarna inte hade varit på plats särskilt länge och därför inte ansåg dem som tillförlitliga boplatser. Vissa drottningar kan dessutom redan ha hittat en boplatser även om det fortfarande var gott om bosökande drottningar ett par veckor efter att holkarna hade placerats ut. En annan möjlig förklaring är att det var något i holkarnas utformning, preparering eller placering i relation till kringliggande objekt som skiljde sig från hur Mjelde gör. Enligt Mjelde är det viktigt att holkarna inreds precis rätt för att de ska attrahera bosökande drottningar. Om detta är orsaken så drar vi slutsatsen att det krävs stora ansträngningar av en odlare för att de ska kunna använda sig av holkar som komplement eller alternativ till införda humlor.

8.3.3 Alternativ 2: Halmbalar

8.3.3.1 Bakgrund

Klöverfröodlare och lantbruksrådgivare har länge tillämpat och rekommenderat utplacering av halmbalar för att locka humlor att bosätta sig nära den gröda man vill ha pollinerad (Jordbruksverket 2010, Jordbruksverket 2013, Jordbruksverket 2016) men hittills har det saknats vetenskapliga belägg för om åtgärden fungerar. Halmbalar är lättillgängliga och enkla att flytta. Därför är de relativt

lätta att passa in i växtodlingen och kan till exempel placeras i fältkanter. Halm-balar är dessutom billiga och behöver inte tas bort eftersom de förmultnar. Det är även möjligt att använda skadade balar eller skadad halm, som inte går att använda till djurfoder eller strö. Att placera ut halmbalar har därför flera potentiella fördelar jämfört med holkar eller införda humlesamhällen.

8.3.3.2 Inventering av halmbalar

I ett parallellt projekt undersökte Hushållningssällskapet i Skåne, med Lunds universitet som samarbetspartner, om humlor använder halmbalar som boplatz (Lindström 2020). Sommaren 2018 studerades förekomsten av humlor med boplatzrelaterat beteende i halmbalar, halmstackar eller samlingar av halmbalar i jordbrukslandskap i Skåne och Östergötland. På grund av samlingarnas och stackarnas varierande storlek, form, placering och överblickbarhet delade vi upp dem i observationsenheter, där varje enhet inte var större än att en person med enkelhet kunde observera in- och utflygande humlor i hela enheten. Varje enhet studerades i en timme för att se om humlor flög in eller ut ur halmen. Studien finansierades av Jordbruksverket men inte av projektet bakom denna rapport. Totalt undersökte vi balar och stackar hos 58 lantbrukare.

8.3.3.3 Inventering av kontrolltor

För att ta reda på om halmbalar kan användas som alternativ till införda humlesamhällen ville vi undersöka om humlorna oftare bodde i halmbalar än i de miljöer som hade funnits att tillgå om halmbalarna inte hade legat där. Därför gjorde vi en extra studie finansierad inom ramen för detta projekt. I denna studie undersökte vi förekomsten av humlebon i kontrolltor som liknade de platser där halmbalarna låg. Vi besökte de halmbalar som inventerades i halmbalsstudien för att mäta storlek och se i vilken typ av miljö de var placerade (till exempel kantzon, buskage, stenmur). Därefter letade vi upp liknande platser inom 1 km från halmbalarna. Detta avstånd valdes för att förutsättningarna i kontrolltorna skulle matcha halmbalarna med avseende på omgivande landskap och geografiskt läge. Samtidigt ville vi undvika påverkan från halmbalarna och valde därför ett minimiavstånd till närmsta halmbal (inklusive balar som inte undersöktes i projektet) på 500 m; i ett fall upptäckte vi efteråt att avståndet bara var 250 m. På grund av begränsade resurser hade vi bara möjlighet att inkludera kontrolltor hos 46 av de 58 lantbrukare som deltog i halmbalsstudien. Liksom vid halmbalarna observerade vi varje kontrolltyta under en timme.



Figur 8.5. Fyrkantsbalar i olika nedbrytningsstadium. På denna plats hittade vi humlebon av tre olika arter (stenhumla, vallhumla och mörk jordhumla).

8.3.3.4 Resultat och diskussion

Totalt observerade vi kontrolltytor i närheten av 47 lantbrukare som hade halm-balar utplacerade. I kontrolltytorna såg vi inga humlebon. Däremot visar prelimi-nära uppgifter att det fanns minst ett humlebo i balarna hos 11³, det vill säga 23 %, av de 47 lantbrukarna. Flertalet av dessa bon tillhörde humlearter med lång tunga, såsom trädgårdshumla (Lindström 2020).



Figur 8.6. Rundbalar. Foto: Sandra Lindström

³ Hos ytterligare en lantbrukare observerade vi ett eventuellt bo.

9 Införda humlor, diskussion och rekommendationer

9.1 Cirka 4 500 humlesamhällen införs varje år

Till Sverige förs det in cirka 4 500 humlesamhällen per år. Cirka 70 % av samhällena används vid tomatodling i växthus men de används i många olika grödor i olika pollineringsstrategier. Införda humlor har stor ekonomisk betydelse i tomatodlingen och i odlingen av frukt och bär i tunnlar och på friland. Samhällena kom 2016–2018 från två stora producenter i Holland respektive Belgien via tre införselsföretag. Humlor har förts in till Sverige sedan början av 1990-talet. Våra undersökningar tyder på att införda mörka jordhumlor har ett annat utseende än vilda svenska jordhumlor och även att utseendet skiljer sig mellan producenterna.

Det fanns svagheter i rapporteringen i TRACES, så vi fick endast tillgång till de exakta siffrorna genom personlig kontakt med de företag som för in humlesamhällen. Regelverket som finns innebär inga analyser för parasiter och patogener utan endast en visuell besiktning av en veterinär. Det finns inget regelverk för hantering av humlesamhällena efter användning.

9.2 Parasiter och patogener i införda humlor

Humlor kan drabbas av ett stort antal parasiter och patogener. SLUs nationella referenslaboratorium för bihälsa har den kompetens som krävs för att identifiera alla kända betydande parasiter och patogener i humlor. Olika arter av humlor kan vara svåra att skilja från varandra utseendemässigt även för erfaren fältpersonal. Det är därför viktigt att kunna genomföra en genetisk analys (streckkodsanalys) för att artbestämma humlor.

De införda humlorna innehöll samma patogener som de vilda humlorna med undantag av *Apicystis* som endast fanns hos vilda humlor. De införda humlorna hade generellt färre parasiter och patogener än de vilda svenska humlorna, men bilden var inte entydig för alla parasiter och patogener och mängden och sammansättningen av parasiter och patogener skiljde sig mycket mellan de två producenter som i dagsläget exporterar humlesamhällen till Sverige och mellan de undersökta individuella humlesamhällena.

9.3 Risker vid införsel av humlor

Införsel av odlade humlor innebär tre typer av risker när det gäller spridning av patogener och parasiter till vilda humlor:

1. En införselrisk. Det införs en exotisk skadegörare via de införda humlorna – det vill säga en parasit eller patogen som idag inte finns i Sverige.
2. En smittspridningsrisk. Det blir ökad förekomst av parasiter och patogener som redan finns i Sverige.
3. En genetisk risk där införda mörka jordhumlor sprider oönskade gener till vilda svenska mörka jordhumlor.

Risken för att införa en ny skadegörare är utifrån vår nuvarande kunskap mycket liten. Uppfödningssanläggningarna har höga krav på hygien. Med dagens nivå på införsel av cirka 4 500 införda humlesamhällen per år måste förekomsten av en ny skadegörare vara högre än 1:6 000 för att den årliga införselrisken ska vara högre än 5 %. Trots övervakning är det svårt att upptäcka en smitta med en prevalens som är mindre än 1:6 000. Skulle man upptäcka en ny parasit eller patogen i en uppfödningssanläggning kan det redan ha hänt att den nya parasiten eller patogen har kommit in i Sverige.

Införselrisken är icke-existerande om det sker en svensk produktion av humlor om både avelsmaterial och pollen till uppfödning av humlesamhällena kommer från Sverige. Däremot finns det fortsatt en risk för smittspridning. Nivån av patogener och parasiter i odlade humlor beror på den hygieniska standarden hos producenten.

Risken för smittspridning påverkas av hur många vilda pollinatörer det finns i ett landskap i relation till mängden blomresurser. Generellt sett innebär en lägre förekomst av blomresurser att både den relativa och absoluta risken för spridning av patogener och parasiter ökar, särskilt om införda humlor är smittade i en högre grad än vilda. Förklaringen är att binas blombesök koncentreras på de få platser som finns.

Risk för att nya parasiter eller patogener kommer in i Sverige är högst i områden med hög användning av införda humlesamhällen. Sannolikheten för kontakt är som störst för införda humlesamhällen som är aktiva under den del av året då även vilda bin är aktiva.

Den statistiska utvärderingen visar att:

- Förekomster av parasiter och patogener hos vilda humlor är generellt sett inte högre i landskap med införda humlor än i kontrollandskap.
- Förekomster av parasiter och patogener är generellt sett högre i landskap där införda humlor används i tunnel/frilandsodling jämfört med i växthus. Detta gäller både för vilda och införda humlor.

- Fältfångade jordhumlor var större i landskap med införda jordhumlor i växthus jämfört med landskap utan införda jordhumlor. Det kan vara ett resultat av att de fältfångade jordhumlorna är en blandning av införda och vilda humlor, vilket kommer att klarläggas av den genetiska analysen. Det fanns ingen skillnad i storlek på övriga humlor i landskap med och utan införda jordhumlor. Det fanns ingen skillnad i storlek på införda jordhumlor i växthus jämfört med tunnel- eller frilandsodling.
- Användandet av införda jordhumlor i odlingar och växthus påverkade inte förekomsten av vilda humlor i det kringliggande landskapet.

Genetiska analyser pågår som kan ge svar på om de införda mörka jordhumlorna har hybridiserat med vilda svenska humlor. Detta är troligt eftersom införsel av mörka jordhumlor har pågått under cirka 30 år.

9.4 Endast kompletterande realistiska alternativ till införda humlor i de flesta grödor

Det finns i dagsläget inga ekonomiskt realistiska alternativ till användningen av införda humlor i tomatodling i växthus eftersom humlor erbjuder en effektiv pollinering till låg kostnad och tillgång till pollinering året om. I odling i tunnlar och frilandsodling av frukt och bär finns i vanliga fall endast kompletterande alternativ.

I frilandsodlingar av frukt och bär finns det dock möjligheter för att gynna vilda pollinatörer genom att skapa boplatser och säkra kontinuerlig tillgång på föda. Kunskapsläget om hur åtgärder som syftar till att gynna vilda pollinerare påverkar skördarna hos enskilda odlare är än så länge svagt, vilket gör att de idag får betraktas som ett komplement snarare än ett alternativ till införda humlor.

I de humlepollinerade jordbruksgrödorna rödklöver till frö och åkerböna anser vi att det är realistiskt att åtgärder som gynnar vilda humlor kan användas som alternativ till införda humlor.

9.5 Våra rekommendationer

Utifrån fältstudie och riskanalys har projektgruppens medlemmar från Jordbruksverket, SLU och LU ett antal rekommendationer:

- Alla patogener och parasiter som detekterades i införda humlor finns redan hos svenska vilda humlor, och på minst samma nivåer. Det finns därför i dagsläget ingen anledning till att specifikt övervaka någon av dessa kända patogener eller parasiter. Däremot fanns det spår av hittills okända virusarter i införda humlor som inte detekterades i det begränsade antal svenska vilda humlor som undersöktes. Förutom för ett densovirus, finns det ingen kunskap alls om huruvida dessa virus tillhör humlorna deras mat eller deras parasiter.
- Genom att övervaka den generella hälsonivån hos odlade humlesamhällen och vilda svenska populationer av humlor kan man få fram värdefull information som kan ge Jordbruksverket och andra myndigheter ett beslutsunderlag för tidiga åtgärder om en ny parasit eller patogen upptäcks. Slumpmässiga inköp av införda humlesamhällen vid flera tidpunkter om året är mer effektivt jämfört med köp av flera humlesamhällen vid ett tillfälle för att fånga variabilitet i förekomst eller intensitet över tid.
- För att på en rimlig nivå detektera förändringar bör övervakningen av odlade och vilda humlor genomföras minst en gång vart femte år. Om 100 samlingsprov (25 odlade samhällen och 75 svenska vilda humlor) analyseras blir kostnaden cirka 1 000 000 per tillfälle. Patogenerna (både kända och okända) analyseras i första hand med sekvenseringsteknik och bioinformatik. Analyserna kan genomföras av SLUs nationella referenslaboratorium för bihälsa.
- För att vilda pollinerare ska fungera som alternativ eller komplement till odlade humlor i frilandsodlingar av frukt och bär krävs utveckling och vetenskaplig utvärdering av hur åtgärder som gynnar vilda pollinerare påverkar pollinering av grödor. En lovande sådan åtgärd är att lägga ut halmbalar i och kring odlingen.
- Det finns ingen anledning för privatpersoner att köpa odlade humlor. Genom ökad kunskap kan man istället skapa incitament för att genomföra åtgärder som gynnar vilda humlor och bin. Jordbruksverket skulle kunna genomföra en riktad informationsinsats om detta på till exempel trädgårdsmässor.

10 Referenser

- Adler LS, Michaud KM, Ellner SP, McArt SH, Stevenson PC, Irwin RE (2018) Disease where you dine: plant species and floral traits associated with pathogen transmission in bumble bees. *Ecology* 99, 2535–2545.
- Albano, E, Salvado, E, Duarte, S, Mexia, S, Borges, PAV (2009) Pollination effectiveness of different strawberry floral visitors in Ribatejo, Portugal *Advances in Horticultural Sciences* 23, 246–253
- Akkoç S, Karaca I, Karaca G (2019) Effects of some entomopathogen fungi on *Apis mellifera* L. and *Bombus terrestris* L. *Journal of Natural Applied Science* 23, 433–439.
- Alaux C, Ducloz, F, Crauser, D, Le Conte, Y (2010) Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters* 6, 562–565.
- Andersson, GKS., Ekroos, J, Stjernman, M, Rundlöf, M, Smith, HG (2014) Effects of farming intensity, crop rotation and landscape heterogeneity on field bean pollination. *Agriculture, Ecosystems och Environment* 184, 145–148.
- Anita, M., Sivaram, V, Jayaramappa, KV (2012) Influence of bee attractants on pollination and yield parameters in guava (*Psidium guajava* L.). *The International Journal of Plant Reproductive Biology* 4, 41–46.
- Arismendi N, Bruna A, Zapata N, Vargas M (2016) Molecular detection of the tracheal mite *Locustacarus buchneri* in native and non-native bumble bees in Chile. *Insectes Sociaux* 63, 629–633.
- Artdatabanken. 2018. Artdata. <http://artfakta.artdatabanken.se/>.
- Azeez S (2008) Vanilla. In *Chemistry of Spices*, eds. V. A. Parthasarathy, B. Chempakam och T. J. Zachariah. Oxfordshire: CABI.
- Baer B, Schmid-Hempel P (1999) Experimental variation in polyandry affects parasite loads and fitness in a bumble-bee. *Nature* 397, 151–154.
- Baer B, Schmid-Hempel P (2001) Unexpected consequences of polyandry for parasitism and fitness in the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Evolution* 55, 139–1643.
- Baer B, Schmid-Hempel P (2003) Bumble bee workers from different sire groups vary in susceptibility to parasite infection. *Ecology Letters* 6, 106–110.
- Bailes EJ, Ollerton J, Pattrick JG, Glover BJ (2015) How can an understanding of plant–pollinator interactions contribute to global food security? *Current Opinion in Plant Biology* 26, 72–79.
- Banda HJ, Paxton RJ (1991) Pollination of greenhouse tomatoes by bees. 194–198. *International Society for Horticultural Science (ISHS)*, Leuven, Belgium.

- Bartomeus, I., F. P. Molina, A. Hidalgo-Galiana, J. Ortego (2020). Safeguarding the genetic integrity of native pollinators requires stronger regulations on commercial lines. *Ecological Solutions and Evidence* 1:e12012.
- Becher MA, Twiston-Davies G, Penny TD, Goulson D, Rotheray EL, Osborne JL (2018) Bumble-BEEHAVE: a systems model for exploring multifactorial causes of bumblebee decline at individual, colony, population and community level. *Journal of Applied Ecology* 55, 2790–2801.
- Biesmeijer JC, Roberts SPM, Reemer M, Ohlemüller R, Edwards M, Peeters T, Schaffers AP, Potts SG, Kleukers R, Thomas CD, Settele J, Kunin WE (2006) Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313, 351–354.
- Blaauw BR., Isaacs R (2014) Flower plantings increase wild bee abundance and the pollination services provided to a pollination-dependent crop. *Journal of Applied Ecology* 51, 890–898.
- Bommarco R, Lundin O, Smith HG, Rundlöf M (2012) Drastic historic shifts in bumble-bee community composition in Sweden. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 309–315.
- Buchmann SL (1985) Bees use vibration to aid pollen collection from non-porictidal flowers. *Journal of the Kansas Entomological Society* 58, 517–525.
- Bukovinszky T, Verheijen J, Zwerver S, Klop E, Biesmeijer JC, Wäckers FL, Prins HHT, Kleijn D (2017) Exploring the relationships between landscape complexity, wild bee species richness and reproduction, and pollination services along a complexity gradient in the Netherlands. *Biological Conservation* 214, 312–319.
- Bürkner P (2017) Advanced Bayesian Multilevel Modeling with the R Package brms. *The R Journal* 10, 395–411.
- Byatt, MA, Chapman NC, Latty T, Oldroyd BP (2016) The genetic consequences of the anthropogenic movement of social bees. *Insectes Sociaux* 63, 15–24.
- Campbell, AJ, Wilby A, Sutton P, Wäckers FL (2017) Do sown flower strips boost wild pollinator abundance and pollination services in a spring-flowering crop? A case study from UK cider apple orchards. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 239, 20–29.
- Cane JH (2014) The oligolectic bee *Osmia brevis* sonicates *Penstemon* flowers for pollen: a newly documented behavior for the Megachilidae. *Apidologie*, 45, 678–684.
- Cappa F, Petrocelli I, Dani FR, Dapporto L, Giovannini M, Silva-Castellari J, Turillazzi S, Cervo R (2019) Natural biocide disrupts nestmate recognition in honeybees. *International Journal of Scientific Reports* 9, e3171.

- Chagnon M., Gingras J, de Oliveira D (1993) Complementary aspects of strawberry pollination by honey and indigenous bees (Hymenoptera), *Journal of Economic Entomology* 86, 416–420.
- Chechetka, SA, Yu Y, Tange M, Miyako E (2017) Materially engineered artificial pollinators. *Chem* 2, 224–239.
- Colla SR, Otterstatter MC, Gegear RJ, Thomson JD (2006) Plight of the bumble bee: Pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biological Conservation* 129, 461–467.
- Cong, R-G, Smith HG, Olsson O, Brady M (2014) Managing ecosystem services for agriculture: Will landscape-scale management pay? *Ecological Economics* 99, 53–62.
- Conroy, TJ, Palmer-Young, EC, Irwin, RE, Adler, LS (2016) Food limitation affects parasite load and survival of *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) infected with *Crithidia* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae). *Environmental Entomology* 45, 1212–1219.
- Corbet, SAA, Fussell M, Ake R., Fraseer A, Gunson C, Savage A, Smith K (1993) Temperature and the pollinating activity of social bees. *Ecological Entomology* 18, 17–30.
- Dasgan HY, Ozdogan AO, Abak K, Kaftanoglu O (1999) Comparison of honey bees (*Apis mellifera* L.) and bumble bees (*Bombus terrestris*) as pollinators for melon (*Cucumis melo* L.) grown in greenhouses. *Acta Horticulturae* 492, 131–134.
- Delaplane, KS (2009) An evaluation of Fruit-Boost™ as an aid for honey bee pollination under conditions of competing bloom. *Journal of Apicultural Research* 48, 15–18.
- Delaplane KS, Mayer DR, Mayer DF (2000) Crop pollination by bees. CABI.
- de Miranda JR, Cordoni G, Budge G (2010a) The acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, S30–S47.
- de Miranda JR, Cornman RS, Evans JD, Semberg E, Haddad N, Neumann P, Gauthier L (2015) Genome characterization, prevalence and distribution of a Macula-like virus from *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Viruses* 7, 3586–3602.
- de Miranda JR, Dainat B, Locke B, Cordoni G, Berthoud H, Gauthier L, Neumann P, Budge GE, Ball BV, Stoltz DB (2010b) Genetic characterization of slow bee paralysis virus of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Journal of General Virology* 91, 2524–2530.
- de Miranda JR, Gauthier L, Ribière M, Chen YP (2012) Honey bee viruses and their effect on bee and colony health. In: *Honey Bee Colony Health: Challenges and Sustainable Solutions* (D Sammartaro och JA Yoder Eds); Chapter 8, pp 71–102. Taylor och Francis Group Ltd, Oxford, England.

- de Miranda JR, Genersch E (2010) Deformed wing virus. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, S48–S61.
- Dicks LV, Showler DA, Sutherland WJ (2010) Bee conservation: evidence for the effects of interventions. Exeter, UK: W.J. Pelagic Publishing.
- Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet J-L, Alaux C (2013) Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLOS ONE* 8, e72016.
- Dukas R, Dafni A (1990) Buzz-pollination in three nectariferous Boraginaceae and possible evolution of buzz-pollinated flowers. *Plant Systematics and Evolution* 169, 65–68.
- Dupont YL, Damgaard C, Simonsen V (2011) Quantitative historical change in bumblebee (*Bombus* spp.) assemblages of red clover fields. *PLOS ONE*, 6, e25172.
- Durrer S, Schmid-Hempel P (1994) Shared use of flowers leads to horizontal pathogen transmission. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 258, 299–302.
- Dutka A, McNulty A, Williamson SM (2015) A new threat to bees? Entomopathogenic nematodes used in biological pest control cause rapid mortality in *Bombus terrestris*. *PeerJ* 3, e1413
- Eeraerts M, Meeus I, Van Den Berge S, Smagghe G (2017) Landscapes with high intensive fruit cultivation reduce wild pollinator services to sweet cherry. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 239, 342–348.
- Ekroos J, Rundlöf M, Smith HG (2013) Trait-dependent responses of flower-visiting insects to distance to semi-natural grasslands and landscape heterogeneity. *Landscape Ecology* 28, 1283–1292.
- Elmstrom GW, Maynard DN (1990) Attraction of honey bees to watermelon with bee attractant. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 103, 130–133.
- Evison SEF, Roberts KE, Laurenson L, Pietravalle S, Hui J, Biesmeijer JC, Smith JE, Budge G, Hughes WHO (2012) Pervasiveness of parasites in pollinators. *PLOS ONE* 7, e30641.
- FAO (2017) Faostat. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Feltham H, Park K, Minderman J, Goulson D (2015) Experimental evidence that wildflower strips increase pollinator visits to crops. *Ecology and Evolution* 5, 3523–3530.
- Figueroa LL, Blinder M, Grincavitch C, Jelinek A, Mann EK, Merva LA, Metz LE, Zhao AY, Irwin RE, McArt SH, Adler LS (2019) Bee pathogen transmission dynamics: deposition, persistence and acquisition on flowers. *Proceedings of the Royal Society B* 286, e20190603.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vriegenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 3, 294–299

Forsgren E, Locke B, Semberg E, Laugen A, de Miranda JR (2017) Sample preservation, transport and processing strategies for honeybee RNA extraction: Influence on RNA yield, quality, target quantification and data normalization. *Journal of Virological Methods* 246, 81–89.

Forsgren E, Gröntoft M, Karlsson I, Kristiansen P, de Miranda JR, Pedersen TR (2020) Biologiska hot mot honungsbin. Rapport 2020:7, Jordbruksverket.

Francoso E, de Oliveira FF, Arias MC (2016) An integrative approach identifies a new species of bumblebee (Hymenoptera: Apidae: Bombini) from northeastern Brazil. *Apidologie* 47, 171–185.

Free JB (1993) *Insect pollination of crops*. London: Academic Press.

Friberg L, Haldén P (2016) Öka skörden – gynna honungsbin och vilda pollinerare. Jordbruksinformation 14-2016. Jordbruksverket.

Frison, TH (1926) Experiments in attracting queen bumblebees to artificial domiciles. *Journal of Economic Entomology* 19, 149–155.

Fürst MA, McMahon DP, Osborne JL, Paxton RJ, Brown, MJF (2014) Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature* 506, 364–366.

Fussell M, Corbet SA (1992) The nesting places of some British bumble bees. *Journal of Apicultural Research* 31, 32–41.

Földesi R, Kovács-Hostyánszki A, Kőrösi Á, Somay L, Elek Z, Markó V, Sárospataki M, Bakos R, Varga Á, Nyisztör K, Báldi A (2016) Relationships between wild bees, hoverflies and pollination success in apple orchards with different landscape contexts. *Agricultural and Forest Entomology* 18, 68–75.

Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Kremen C, Morales JM, Bommarco R, Cunningham SA, Carvalheiro LG, Chacoff NP, Dudenhöffer JH, Greenleaf SS, Holzschuh A, Isaacs R, Krewenka K, Mandelik Y, Mayfield MM, Morandin LA, Potts SG, Ricketts TH, Szentgyörgyi H, Viana BF, Westphal C, Winfree R, Klein A-M (2011) Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters* 14, 1062–1072.

Garibaldi, LA, Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R, Cunningham SA, Kremen C, Carvalheiro LG, Harder LD, Afik O, Bartomeus I, Benjamin F, Boreux V, Cariveau DP, Chacoff NP, Dudenhöffer JH, Freitas BM, Ghazoul J, Greenleaf SS, Hipólito J, Holzschuh A, Howlett BG, Isaacs R, Javorek SK, Kennedy CM, Krewenka KM, Krishnan S, Mandelik Y, Mayfield MM, Motzke I, Munyuli T, Nault BA, Otieno M, Petersen J, Pisanty G, Potts SG, Rader R, Ricketts TH, Rundlöf M, Seymour CL, Schüepp C, Szentgyörgyi H, Taki H., Tscharntke

- T, Vergara CH, Viana BF, Wanger TC, Westphal C, Williams NM, Klein AM (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* 339, 1608-1611.
- Garratt MPD, Breeze TD, Boreux V, Fountain MT, McKerchar M, Webber SM, Coston DJ, Jenner N, Dean R, Westbury DB, Biesmeijer JC, Potts SG (2016) Apple pollination: demand depends on variety and supply depends on pollinator identity. *PLOS ONE* 11, e0153889.
- Genersch E, Yue C, Fries I, de Miranda JR (2006) Detection of deformed wing virus (DWV), a honey bee viral pathogen, in bumble bees (*Bombus terrestris* and *Bombus pascuorum*) with wing deformities. *Journal of Invertebrate Pathology* 91, 61–63.
- Giacomini JJ, Leslie J, Tarpy DR, Palmer-Young EC, Irwin R, Adler LS (2018) Medicinal value of sunflower pollen against bee pathogens. *Scientific Reports* 8, e14394.
- Goulson D (2010) *Bumblebees: behaviour, ecology, and conservation*. Oxford University Press.
- Goulson D (2003) *Bumblebees – Their Behaviour and Ecology*. Oxford University Press, Oxford, England.
- Goulson D, Nicholls E, Botias C, Rotheray EL (2015) Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science* 347, e12559576229.
- Grab H, Blitzler EJ, Danforth B, Loeb G, Poveda K (2017) Temporally dependent pollinator competition and facilitation with mass flowering crops affects yield in co-blooming crops. *Scientific Reports* 7, 45296.
- Grab H, Poveda K, Danforth B, Loeb G (2018) Landscape context shifts the balance of costs and benefits from wildflower borders on multiple ecosystem services. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285, 20181102.
- Graystock P, Jones JC, Pamminger TJ, Parkinson F, Norman V, Blane EJ, Rothstein L, Wäckers F, Goulson D, Hughes WOH (2016) Hygienic food to reduce pathogen risk to bumblebees. *Journal of Invertebrate Pathology* 136, 68–73.
- Graystock P, Goulson D, Hughes WOH (2015) Parasites in bloom: flowers aid dispersal and transmission of pollinator parasites within and between bee species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282, e20151371.
- Graystock P, Jones JC, Pamminger T, Parkinson JF, Norman V, Blane EJ, Rothstein L, Wäckers F, Goulson D, Hughes WOH (2016) Hygienic food to reduce pathogen risk to bumblebees. *Journal of Invertebrate Pathology* 136, 68–73.
- Graystock P, Yates K, Darvill B, Goulson D, Hughes WOH (2013a) Emerging dangers: Deadly effects of an emergent parasite in a new pollinator host. *Journal of Invertebrate Pathology* 114, 114–119.

- Graystock P, Yates K, Evison SEF, Darvill B, Goulson D, Hughes WOH (2013b). The Trojan hives: pollinator pathogens, imported and distributed in bumblebee colonies. *Journal of Applied Ecology* 50, 1207–1215.
- Haldén P (2013) Gynna Mångfalden. *Jordbruksinformation* 4-2013. Jordbruksverket.
- Hanna HY (2004) Air blowers are less effective pollinators of greenhouse tomatoes than electric vibrators but cost less to operate. *HortTechnology* 14, 104–107.
- Hawkins, R. P. (1961) Observations on the pollination of red clover by bees. *Annals of Applied Biology* 49, 55–65.
- Hawkins RP (1969) Length of tongue in a honey bee in relation to the pollination of red clover. *The Journal of Agricultural Science* 73, 489–493.
- Herbertsson L, Jönsson AM, Andersson GKS, Seibel K, Rundlöf M, Ekroos J, Stjernman M, Olsson O, Smith HG (2018) The impact of sown flower strips on plant reproductive success in Southern Sweden varies with landscape context. *Agriculture, Ecosystems och Environment* 259, 127–134.
- Herbertsson L, Lindström SAM, Rundlöf M, Bommarco R, Smith HG (2016) Competition between managed honeybees and wild bumblebees depends on landscape context. *Basic and Applied Ecology* 17, 609–616.
- Herbertsson L, Rundlöf M, Smith HG (2017) The relation between oilseed rape and pollination of later flowering plants varies across plant species and landscape contexts. *Basic and Applied Ecology* 24, 77–85.
- Herrmann, M (2018) WAB – Mauerbienenzucht. <http://mauerbienen.com/>.
- Hobbs GA (1967) Obtaining and protecting red-clover pollinating species of *Bombus* (Hymenoptera: Apidae). *The Canadian Entomologist* 99, 943–951.
- Hokkanen HMT, Menzler-Hokkanen I, Lahdenperä M-L (2015) Managing bees for delivering biological control agents and improved pollination in berry and fruit cultivation. *Sustainable Agriculture Research* 4, e2015
- Holzschuh A, Dormann CF, Tscharntke T, Steffan-Dewenter I (2011) Expansion of mass-flowering crops leads to transient pollinator dilution and reduced wild plant pollination. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 278, 3444–3451.
- Holzschuh A, Dudenhöffer JH, Tscharntke T (2012) Landscapes with wild bee habitats enhance pollination, fruit set and yield of sweet cherry. *Biological Conservation* 153, 101–107.
- Houbraken J, Verweij PE, Rijs AJ, Borman AM, Samson RA (2010) Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. *Journal of clinical microbiology* 48, 2754–2761.
- Ihse M (1995) Swedish agricultural landscapes--patterns and changes during the last 50 years, studied by aerial photos. *Landscape and Urban Planning*, 31, 21–37.

- Ings TC, Ward NL, Chittka L (2006) Can commercially imported bumble bees out-compete their native conspecifics? *Journal of Applied Ecology* 43:940–948
- Inoue MN, Yokoyama J (2010) Competition for flower resources and nest sites between *Bombus terrestris* (L.) and Japanese native bumblebees. *Applied Entomology and Zoology* 45, 29–35.
- IPBES (2016) The assessment report on pollinators, pollination and food production of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services. eds. Potts SG, Imperatriz-Fonseca V, Ngo HT Bonn: Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services.
- Isaacs R, Kirk AK (2010) Pollination services provided to small and large highbush blueberry fields by wild and managed bees. *Journal of Applied Ecology* 47, 841–849.
- James RR, Pitts-Singer TL (2013) Health status of alfalfa leafcutting bee larvae (Hymenoptera: Megachilidae) in United States alfalfa seed fields. *Environmental Entomology* 42, 1166–1173.
- Jauker F, Diekötter T, Schwartzbach F, Wolters V (2009) Pollinator dispersal in an agricultural matrix: opposing responses of wild bees and hoverflies to landscape structure and distance from main habitat. *Landscape Ecology* 24, 547–555.
- Jayaramappa KV, Pattabhiramaiah M, Bhargava HR (2011) Influence of bee-attractants on yield parameters of ridge gourd (*Luffa acutangula* L.) (Cucurbitaceae). *World Applied Sciences Journal* 15, 457–462.
- Jenness SM, Goodreau SM, Morris M (2018). EpiModel: An R Package for Mathematical Modeling of Infectious Disease over Networks. *Journal of Statistical Software* 84, 1–47.
- Johansson LJ, Hall K, Prentice HC, Ihse M, Reitalu T, Sykes MT, Kindström M (2008) Semi-natural grassland continuity, long-term land-use change and plant species richness in an agricultural landscape on Öland, Sweden. *Landscape and Urban Planning* 84, 200–211.
- Jordbruksverket (2010) Så här gynnar du pollinerande insekter på din gård. Ett rikare odlingslandskap.
- Julier EH, Roulston TH (2009) Wild bee abundance and pollination service in cultivated pumpkins: farm management, nesting behavior and landscape effects. *Journal of Economic Entomology* 102, 563–573.
- Junqueira, CN, Yamamoto M., Oliveira PE, Hogendoorn K, Augusto SC (2013) Nest management increases pollinator density in passion fruit orchards. *Apidologie* 44, 729–737.
- Jönsson AM, Ekroos J, Dänhardt J, Andersson GK, Olsson O, Smith HG (2015) Sown flower strips in southern Sweden increase abundances of wild bees and hoverflies in the wider landscape. *Biological Conservation* 184, 51–58.

- Karise R, Muljar R, Smagghe G, Kaart T, Kuusik A, Dreyersdorff G, Williams IH, Mänd M. (2016) Sublethal effects of kaolin and the biopesticides Prestop-Mix and BotaniGard on metabolic rate, water loss and longevity in bumble bees (*Bombus terrestris*). *Journal of Pest Science* 89, 171–178.
- Keshlaf M, Mensah R, Nicetic O, Spooner-Hart R (2013) Effect of synthetic queen mandibular pheromone on pollination of cotton by honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Mellifera* 13, 21–29.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA (2008) *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). Wallingford, UK: CAB International.
- Klatt BK, Holzschuh A, Westphal C, Clough Y, Smit I, Pawelzik E, Tscharnkte T (2014) Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20132440.
- Klein A-M, Vaissière BE, Cane, JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharnkte, T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274, 303–313.
- Knapp JL, Bartlett LJ, Osborne JL (2017) Re-evaluating strategies for pollinator-dependent crops: How useful is parthenocarpy? *Journal of Applied Ecology* 54, 1171–1179.
- Kozmus P, Virant-Doberlet M, Meglic V, Dovc P (2011). Identification of *Bombus* species based on wing venation structure. *Apidologie* 42, 472–480.
- Kraus FB, Szentgyörgyi H, Rožej E, Rhode M, Moroń D, Woyciechowski M, Moritz RFA (2011) Greenhouse bumblebees (*Bombus terrestris*) spread their genes into the wild. *Conservation Genetics* 12, 187–192.
- Lindström SAM, Herbertsson L, Rundlöf M, Smith HG, Bommarco R (2016) Large-scale pollination experiment demonstrates the importance of insect pollination in winter oilseed rape. *Oecologia* 180, 759–769.
- Lindström SAM., Herbertsson, L., Rundlöf M., Bommarco R, Smith HG (2016) Experimental evidence that honeybees depress wild insect densities in a flowering crop. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283, 20161641..
- Lindström SAM (2020) Hambalar till humlor. Faktablad Ett rikare odlingslandskap. Jordbruksverket.
- Locke B, Forsgren E, Fries I, de Miranda JR (2012) Acaricide treatment affects viral dynamics in *Varroa* destructor-infested honey bee colonies via both host physiology and mite control. *Applied Environmental Microbiology* 78, 227–235.
- Lye GC (2009) Nesting ecology, management and population genetics of bumblebees: An integrated approach to the conservation of an endangered pollinator taxon. Stirling University.

- Ma WH, Shao YQ, Zhao HT, Tian SH, Meng J, Yang SS, Du YL, Jiang YS (2015) Using bee attractants to improve honeybee foraging on dangshan pear (*Pyrus communis* L.).
- Mader E, Spivak M, Evans E (2010) Managing alternative pollinators: a handbook for beekeepers, growers, and conservationists New York: Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service.
- MacIvor JS, Packer L (2015) 'Bee hotels' as tools for native pollinator conservation: a premature verdict? PLOS ONE 10, e0122126-e0122126.
- Manley R, Boots M, Wilfert L (2015) Emerging viral disease risk to pollinating insects: ecological, evolutionary and anthropogenic factors. Journal of Applied Ecology 52, 331–340.
- Manson, JS, Otterstatter, MC, Thomson, JD (2010) Consumption of a nectar alkaloid reduces pathogen load in bumble bees. Oecologia 162, 81–89.
- Martin SJ, Ball BV, Carreck N (2010) Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Journal of Apicultural Research 49, 72.
- Martin SJ, Brettell LE (2019) Deformed wing virus in honeybees and other insects. Annual Review of Virology 6, 49–69.
- Marzinzig B, Brünjes L, Biagioni S, Behling H, Link W, Westphal C (2018) Bee pollinators of faba bean (*Vicia faba* L.) differ in their foraging behaviour and pollination efficiency. Agriculture, Ecosystems och Environment 264, 24–33.
- McMahon DP, Fürst MA, Caspar J, Theodorou P, Brown MJF, Paxton RJ (2015) A sting in the spit: widespread cross-infection of multiple RNA viruses across wild and managed bees. Journal of Animal Ecology 84, 615–624.
- Meeus I, de Graaf DC, Jans K, Smagghe G (2010) Multiplex PCR detection of slowly-evolving trypanosomatids and neogregarines in bumblebees using broad-range primers. Journal of Applied Microbiology 109, 107–115.
- Meeus I, de Miranda JR, de Graaf DC, Wäckers F, Smagghe G (2014a) Effect of oral infection with Kashmir bee virus and Israeli acute paralysis virus on bumblebee (*Bombus terrestris*) reproductive success. Journal of Invertebrate Pathology 121, 64–69.
- Meeus I, Mosallanejad H, Niu J, de Graaf DC, Wäckers F, Smagghe G (2014) Gamma irradiation of pollen and eradication of Israeli acute paralysis virus. Journal of Invertebrate Pathology 121, 74–77.
- Menzler-Hokkanen I (2016) Safety of Prestop Mix to pollinators: a critical review of its properties and use in entomovectoring. Response to the article by Karise m.fl. (2015). Journal of Pest Science 89, 179–182.

- Meyer B, Jauker F, Steffan-Dewenter I (2009) Contrasting resource-dependent responses of hoverfly richness and density to landscape structure. *Basic and Applied Ecology* 10, 178–186.
- Mockler BK, Kwong WK, Moran NA, Koch H (2018) Microbiome structure influences infection by the parasite *Crithidia bombi* in bumble bees. *Applied and Environmental Microbiology* 84, e02335-17
- Mondet F, de Miranda JR, Kretzschmar A, Le Conte Y, Mercer AR (2014) On the front line: Quantitative virus dynamics in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies along a new expansion front of the parasite *Varroa destructor*. *PLoS-Pathogens* 10, e1004323.
- Mossberg B, Cederberg B (2012). Humlor i Sverige, 40 arter att älska och förundras över. Ljubljana Slovenien: Bonnier Fakta
- Nayak GK, Roberts SPM, Garratt MPD, Breeze TD, Tscheulin T, Harrison-Cripps J, Vogiatzakis IN, Stirpe MT, Potts SG (2015) Interactive effect of floral abundance and semi-natural habitats on pollinators in field beans (*Vicia faba*). *Agriculture, Ecosystems och Environment* 199, 58–66.
- Ollerton J, Winfree R, Tarran S (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120, 321–326, 2011.
- Olson, AR (1984) Structural aspects of pollination in *Amelanchier alnifolia* (Maloideae). *Canadian Journal of Botany* 62, 858–864.
- Ondov BD, Bergman NH, Phillippy AM (2011) Interactive metagenomic visualization in a Web browser. *BMC Bioinformatics* 12, 385.
- Otterstatter MC, Gegear RJ, Colla SR, Thomson JD (2005) Effects of parasitic mites and protozoa on the flower constancy and foraging rate of bumble bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 58, 383–389.
- Otterstatter MC, Thomson JD (2008) Does pathogen spillover from commercially reared bumble bees threaten wild pollinators? *PLoS ONE* 3, e2771.
- Otti O, Schmid-Hempel P (2007) *Nosema bombi*: A pollinator parasite with detrimental fitness effects. *Journal of Invertebrate Pathology* 96, 118–124.
- Palmer-Young EC, Sadd BM, Stevenson PC, Irwin RE, Adler LS (2016) Bumble bee parasite strains vary in resistance to phytochemicals. *Sci Rep* 6, e37087.
- Partap U, Ya T (2012) The human pollinators of fruit crops in Maoxian County, Sichuan, China. *Mountain Research and Development* 32, 176–186.
- Pascall DJ, Tinsley MC, Obbard DJ, Wilfert L (2020) Host evolutionary history predicts virus prevalence across bumblebee species. *BioRxiv preprints*, <https://doi.org/10.1101/498717>.

Patil JS, Mokate RB, Mupade RV, Kamate GS (2011) Role of bee attractants in pollination and productivity of onion (*Allium cepa* L.). Journal of Entomological Research 35, 127–131.

Paydas S, Eti S, Kaftanoglu O, Yasa E, Derin K (2000a) Effects of pollination of strawberries grown in plastic greenhouses by honeybees and bumblebees on the yield and quality of the fruits. In Proceedings of the XXVth International Horticultural Congress, Pt 3: Culture Techniques with Special Emphasis on Environmental Implications, eds. Fokkema, NJ, Beek MA, Van Steekelenburg NAM, Samyn G, Maas JL, Robinson TL, 443–451.

Paydas S, Eti S, Sevinç S, Yasa E, Derin K, Kaska N, Kaftanoglu O (2000b) Effects of different pollinators to the yield and quality of strawberries. Acta Horticulturae 522, 209–218.

Pedersen TR, Bommarco R, Ebbersten K, Falk A, Fries I, Kristiansen P, Kryger P, Nätterlund H, Rundlöf M (2009). Massdöd av bin – samhällsekonomiska konsekvenser och möjliga åtgärder. Rapport 2009:24. Jordbruksverket.

Peeler EJ, Reese RA, Thrush MA (2015). Animal disease import risk analysis – a review of current methods and practice. Transboundary and Emerging Diseases 62, 480–490.

Persson AS, Mazier F, Smith HG (2018) When beggars are choosers—How nesting of a solitary bee is affected by temporal dynamics of pollen plants in the landscape. Ecology and Evolution 8, 5777–5791.

Persson AS, Rundlöf M, Clough Y, Smith HG (2015) Bumble bees show trait-dependent vulnerability to landscape simplification. Biodiversity and Conservation 24, 3469–3489.

Persson AS, Smith HG (2013) Seasonal persistence of bumblebee populations is affected by landscape context. Agriculture, Ecosystems och Environment 165, 201–209.

Pfister SC, Eckerter PW, Krebs J, Cresswell JE, Schirmel J, Entling MH (2018) Dominance of cropland reduces the pollen deposition from bumble bees. Scientific Reports 8, 13873.

Pfister SC, Eckerter PW, Schirmel J, Cresswell JE, Entling MH (2017) Sensitivity of commercial pumpkin yield to potential decline among different groups of pollinating bees. Royal Society Open Science 4, 170102.

Pierre J (2001) The role of honeybees (*Apis mellifera*) and other insect pollinators in gene flow between oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). 47–52. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.

Plummer M (2003). JAGS: A Program for Analysis of Bayesian Graphical Models Using Gibbs Sampling, Proceedings of the 3rd International Workshop on Dist-

ributed Statistical Computing (DSC 2003), March 20–22, Vienna, Austria. ISSN 1609-395X.

Plummer M (2018). rjags: Bayesian Graphical Models using MCMC. R package version 4-8. <https://CRAN.R-project.org/package=rjags>

Potts SG, Imperatriz-Fonseca V, Ngo HT, Biesmeijer JC, Breeze TD, Dicks LV, Garibaldi LA, Hill R, Settele J, Vanbergen AJ (2016). The assessment report on pollinators, pollination and food production: summary for policymakers. Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany.

Potts SG, Neumann PB, Vaissière E, Vereecken NJ (2018) Robotic bees for crop pollination: Why drones cannot replace biodiversity. *Science of the Total Environment* 642, 665–667.

Praet J, Parmentier A, Schmid-Hempel R, Meeus I, Smagghe G, Vandamme P (2018) Large-scale cultivation of the bumblebee gut microbiota reveals an underestimated bacterial species diversity capable of pathogen inhibition. *Environmental Microbiology* 20, 214–227.

Quinn NF, Brainard DC, Szendrei Z (2017) Floral strips attract beneficial insects but do not enhance yield in cucumber fields. *Journal of Economic Entomology* 110, 517–524.

Rader R, Howlett BG, Cunningham SA, Westcott DA, Newstrom-Lloyd LE, Walker MK, Teulon DAJ, Edwards W (2009) Alternative pollinator taxa are equally efficient but not as effective as the honeybee in a mass flowering crop. *Journal of Applied Ecology* 46, 1080–1087.

Raine N, Chittka L (2005) Comparison of flower constancy and foraging performance in three bumblebee species (Hymenoptera: Apidae: *Bombus*). *Entomologia Generalis* 28, 81–89.

Ranta E, Lundberg H (1980) Resource partitioning in bumblebees: The significance of differences in proboscis length. *Oikos* 35, 298–302.

Rasmont P, Coopee A, Michez D, de Meulemeester T (2008). An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). *Annales de la Société Entomologique de France* 44, 243–250.

Ravoet J, De Smet L, Meeus I, Smagghe G, Wenseleers T, de Graaf DC (2014) Widespread occurrence of honey bee pathogens in solitary bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 122, 55–58.

Rehner SA, Minnis AM, Sung GH, Luangsa-ard JJ, Devotto L, Humber RA (2011) Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia* 103, 1055–1073.

- Retschnig G, Williams GR, Mehmman MM, Yañez O, de Miranda JR, Neumann P (2014) Sex-specific differences in pathogen susceptibility in honey bees (*Apis mellifera*). PLoS-ONE 9, e85261.
- Richardson, LL, Adler, LS, Leonard, AS, Andicoechea, J, Regan, KH, Anthony, WE m.fl. (2015) Secondary metabolites in floral nectar reduce parasite infections in bumblebees. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 282, e20142471.
- Ricketts TH, Regetz J, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Bogdanski A, Gemmill-Herren B, Greenleaf SS, Klein A-M, Mayfield MM, Morandin LA, Ochieng' A, Viana BF (2008) Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? Ecology Letters 11, 499–515.
- Riedinger V, Renner M, Rundlöf M, Steffan-Dewenter I, Holzschuh A (2014) Early mass-flowering crops mitigate pollinator dilution in late-flowering crops. Landscape Ecology 29, 425–435.
- Roberts, J.M.K., Anderson DL, Durr PA (2018) Metagenomic analysis of *Varroa*-free Australian honey bees (*Apis mellifera*) shows a diverse *Picornavirales* virome. Journal of Genetic Virology 99, 818–826.
- Ruiz-González MX, Brown MJF (2006) Males vs workers: Testing the assumptions of the haploid susceptibility hypothesis in bumblebees. Behavioral and Ecological Sociobiology 60, 501–509.
- Rundlöf M, Lundin O, Bommarco R (2018) Annual flower strips support pollinators and potentially enhance red clover seed yield. Ecology and Evolution 8, 7974–7985.
- Rundlöf M, Nilsson H, Smith HG (2008) Interacting effects of farming practice and landscape context on bumblebees. Biological Conservation 141, 417–426.
- Rundlöf M, Persson AS, Smith HG, Bommarco R (2014) Late-season mass-flowering red clover increases bumble bee queen and male densities. Biological Conservation 172, 138–145.
- Rundlöf M, Andersson G, Bommarco R, Fries I, Hederström V, Herbertsson L, Jonsson O, Klatt B, Pedersen TR, Yourstone J, Smith H (2015). Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. Nature 521, 77–80.
- Rundlöf M, Smith HG (2006) The effect of organic farming on butterfly diversity depends on landscape context. Journal of Applied Ecology 43, 1121–1127.
- Runkel C, Flenniken ML, Engel JC, Ruby JG, Ganem D, Andino R, DeRisi JL (2015) Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia*. PLoS ONE 6, e20656.

- Rutrecht ST, Brown MJF (2008) Within colony dynamics of *Nosema bombi* infections: disease establishment, epidemiology and potential vertical transmission. *Apidologie* 39, 504–514.
- Rutrecht ST, Brown MJF (2009) Differential virulence in a multiple-host parasite of bumble bees: resolving the paradox of parasite survival. *Oikos* 118, 941–949.
- Ruttner F (1988) Biogeography and taxonomy of honeybees.
- Sabara HA, Gillespie DR, Elle E, Winston ML (2004) Influence of brood, vent screening, and time of year on honey bee (Hymenoptera: Apidae) pollination and fruit quality of greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology* 97, 727–734.
- Sabara HA, Winston ML (2003) Managing honey bees (Hymenoptera: Apidae) for greenhouse tomato pollination. *Journal of Economic Entomology* 96, 547–554.
- Sachman-Ruiz B, Narváez-Padilla V, Reynaud E (2015) Commercial *Bombus impatiens* as reservoirs of emerging infectious diseases in central México. *Biological Invasions* 17, 2043–2053.
- Sadeh A, Shmida A, Keasar T (2007) The carpenter bee *Xylocopa pubescens* as an agricultural pollinator in greenhouses. *Apidologie* 38, 508–517.
- Samnegård U, Alins G, Boreux V, Bosch J, García D, Happe A-K, Klein A-M, Miñarro M, Mody K, Porcel M, Rodrigo A, Roquer-Beni L, Tasin M, Hambäck PA (2019) Management trade-offs on ecosystem services in apple orchards across Europe: Direct and indirect effects of organic production. *Journal of Applied Ecology* 56, 802–811.
- Sapir G, Baras Z, Azmon G, Goldway M, Shafir S, Allouche A, Stern R, Stern RA (2017) Synergistic effects between bumblebees and honey bees in apple orchards increase cross pollination, seed number and fruit size. *Scientia Horticulturae* 219, 107–117.
- Scheper J, Bommarco R, Holzschuh A, Potts SG, Riedinger V, Roberts SPM, Rundlöf M, Smith HG, Steffan-Dewenter I, Wickens JB, Wickens VJ, Kleijn D (2015) Local and landscape-level floral resources explain effects of wildflower strips on wild bees across four European countries. *Journal of Applied Ecology* 52, 1165–1175.
- Scheper J, Reemer M, van Kats R, Ozinga WA, van der Linden GTJ, Schaminée JHJ, Siepel H, Kleijn D (2014) Museum specimens reveal loss of pollen host plants as key factor driving wild bee decline in The Netherlands. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111, 17552–17557.
- Schmid-Hempel, P (1998) Parasites in social insects. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.

- Schmidt S, Schmid-Egger C, Morinière J, Haszprunar G, Hebert PDN (2015) DNA barcoding largely supports 250 years of classical taxonomy: identifications for Central European bees (Hymenoptera, Apoidea partim). *Molecular Ecology Resources* 15, 985–1000.
- Schoonvaere K, De Smet L, Smagghe G, Vierstraete A, Braeckman BP, de Graaf DC (2016) Unbiased RNA shotgun metagenomics in social and solitary wild bees detects associations with eukaryote parasites and new viruses. *PLoS ONE* 11, e0168456.
- Schoonvaere K, Smagghe G, Francis F, de Graaf DC (2018) Study of the meta-transcriptome of eight social and solitary wild bee species reveals novel viruses and bee parasites. *Frontiers in Microbiology* 9, e177.
- Schultheis JR, Ambrose JT, Bambara SB, Mangum WA (1994) Selective bee attractants did not improve cucumber and watermelon yield. *HortScience* 29, 155–158.
- Schulze J, Oeschger L, Gross A, Mueller A, Stoll P, Erhardt A (2012) Solitary bees – potential vectors for gene flow from cultivated to wild strawberries. *Flora – Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207, 762–767.
- Schüepp C, Herzog F, Entling MH (2014) Disentangling multiple drivers of pollination in a landscape-scale experiment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20132667.
- Seabra SG, Silva SE, Nunes VL, Sousa VC, Martins J, Marabuto E, Rodrigues ASB, Pina-Martins F, Laurentino TG, Rebelo MT, Figueiredo E, Paulo OS (2019) Genomic signatures of introgression between commercial and native bumblebees, *Bombus terrestris*, in western Iberian Peninsula – implications for conservation and trade regulation. *Evolutionary Applications* 12:679–691.
- Seidelmann K, Bienasch A, Pröhl F (2016) The impact of nest tube dimensions on reproduction parameters in a cavity nesting solitary bee, *Osmia bicornis* (Hymenoptera: Megachilidae). *Apidologie* 47, 114–122.
- Shaneyfelt T, Jamshidi MM, Agaian S (2013) A vision feedback robotic docking crane system with application to vanilla pollinations. *International Journal of Automation and Control* 7, 62–82.
- Sheffield CS, Kevan P, Westby S, Smith RF (2008) Diversity of cavity-nesting bees (Hymenoptera: Apoidea) within apple orchards and wild habitats in the Annapolis Valley, Nova Scotia, Canada. *The Canadian Entomologist* 140, 235–249.
- Shi M, Lin XD, Tian JH, Chen L, Chen X, Li C, Qin X, Li J, Cao J, Eden J, Buchmann J, Wang W, Xu J, Holmes EC, Zhang (2016) Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature* 540, 539–543.
- Shykoff JA, Schmid-Hempel P (1991) Incidence and effects of four parasites in natural populations of bumble bees in Switzerland. *Apidologie* 22, 117–125.

Singh R, Levitt AL, Rajotte EG, Holmes EC, Ostiguy N, vanEngelsdorp D, Lipkin WI, dePamphilis CW, Toth AL, Cox-Foster DL (2010) RNA viruses in hymenopteran pollinators: evidence of inter-taxa virus transmission via pollen and potential impact on non-*Apis* hymenopteran species. PLoS ONE 5, e14357.

Skou JP, Holm SN, Haas H (1963) Preliminary investigations on diseases in bumble bees (*Bombus latr.*). Kongelige Veterinaerskole og Landbohøjskole Denmark, 27–41.

SMHI (2018) Vårens ankomst 2018. <https://www.smhi.se/vadret/vadret-i-sverige/arstidskarta/ank.php?arstid=var&ar=2018>.

Spiegelhalter D, Pearson M, Short I (2011). Visualizing uncertainty about the future. Science 333, 1393–1400.

Steffan-Dewenter I, Münzenberg U, Bürger C, Thies C, Tscharntke T (2002) Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. Ecology 83, 1421–1432.

Steffan-Dewenter I, Schiele S (2008) Do resources or natural enemies drive bee population dynamics in fragmented habitats. Ecology 89, 1375–1387.

Stewart RIA, Andersson GKS, Brönmark C, Klatt BK, Hansson L-A, Zülsdorff V, Smith HG (2017) Ecosystem services across the aquatic–terrestrial boundary: Linking ponds to pollination. Basic and Applied Ecology 18, 13–20.

Strickler K (2014) Product information and suppliers for blue orchard bees, *Osmia lignaria*, and hornfaced bees, *Osmia cornifrons*, for orchard pollination. http://www.pollinatorparadise.com/Solitary_Bees/Supply.htm.

Stubbs CS, Drummond FA (1999) Pollination of lowbush blueberry by *Anthophora pilipes villosula* and *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Anthophoridae and Apidae). Journal of the Kansas Entomological Society 72, 330–333.

Sung GH, Hywel-Jones NL, Sung JM, Luangsa-Ard JJ, Shrestha B, Spatafora, JW (2007). Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. Studies in mycology 57, 5–59.

Tanner DA, González JM, Matthews RW, Bradleigh-Vinson S, Pitts JP (2011) Evolution of the courtship display of *Melittobia* (Hymenoptera: Eulophidae). Molecular Phylogenetic Evolution 60, 219–227.

Techer, M.A., Rane, R.V., Grau, M.L. Roberts J.M.K., Sullivan S.T., Liachko I., Childers A.K., Evans J.D., Mikheyev A.S. (2019) Divergent evolutionary trajectories following speciation in two ectoparasitic honey bee mites. Communications Biology 2, e357.

Tokarz R, Sameroff S, Tagliaferro T, Jain K, Williams SH, Cucura DM, Rochlin I, Monzon J, Carpi G, Tufts D, Diuk-Wasser M, Brinkerhoff J, Lipkin WI (2018) Identification of novel viruses in *Amblyomma americanum*, *Dermacentor variabilis*, and *Ixodes scapularis* ticks. mSphere 3, e00614-17.

- Toledo-Hernandez RA, Ruiz-Toledo J, Toledo J, Sanchez D (2016) Effect of three entomopathogenic fungi on three species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae) under laboratory conditions. *J Econ Entom* 109, 1015–1019.
- Totland Müller H (2016) Interaction between *Bombus terrestris* and honeybees in red clover fields reduces abundance of other bumblebees and red clover yield. Ås: Norwegian University of Life Sciences.
- Tsirakoglou V, Thrasyvoulou A, Hatjina F (1997) Techniques to increase the attractiveness of kiwi flowers to honey bees. 439–452. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.
- Tuohimetsä S, Hietaranta T, Uosukainen M, Kukkonen S, Karhu S (2014) Fruit development in artificially self- and cross-pollinated strawberries (*Fragaria × ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil and Plant Science* 64.5, 408–415.
- 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.
- Van Dyck H, Van Strien AJ, Maes D, Van Swaay CAM (2009) Declines in common, widespread butterflies in a landscape under intense human use. *Conservation Biology* 23, 957–965.
- van Heemert C, de Ruijter A, van den Eijnde J, van der Steen, J (1990) Year-round production of bumble bee colonies for crop pollination. *Bee World* 71, 54–56.
- Varoquaux F, Blanvillain R, Delseny M, Gallois P (2000) Less is better: new approaches for seedless fruit production. *Trends in Biotechnology* 18, 233–242.
- Velthuis H, Doorn A (2006) A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie* 37, 421–451.
- Venkataramgowda S (2013) Influence of bee attractants on pollination and yield in Pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) Mill.sp. *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 5, 194–198.
- Venkataramgowda S, Venkateshappa Jayaramappa K, Menon A, Ceballos R (2013) Use of bee-attractants in increasing crop productivity in Niger (*Guizotia abyssinica* L). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 56, 365–370.
- Venturini E, Drummond FA, Hoshida A, Dibble A, Stack LB (2017) Pollination reservoirs in lowbush blueberry (Ericales: Ericaceae). *Journal of Economic Entomology* 110, 333–346.
- Wermuth KH, Dupont YL (2010) Effects of field characteristics on abundance of bumblebees (*Bombus* spp.) and seed yield in red clover fields. *Apidologie*, 41, 657–666.

- Westphal C, Steffan-Dewenter I, Tscharnkte T (2009) Mass flowering oilseed rape improves early colony growth but not sexual reproduction of bumblebees. *Journal of Applied Ecology* 46, 187–193.
- Vieli L, Davis FW, Kendall BE, Altieri M (2016) Landscape effects on wild *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) queens visiting highbush blueberry fields in south-central Chile. *Apidologie* 47, 711–716.
- Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M (2016) Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science* 351, 594–597.
- Wilkanić Z, Radajewska B (1997) Solitary bee *Osmia rufa* L (Apoidea, Megachilidae) as pollinator of strawberry cultivated in an unheated plastic tunnel. In *Third International Strawberry Symposium*, Vols. 1 and 2, eds. van der Scheer, H. A. T., Lieten F., Dijkstra, J. 489–493.
- Williamson J, Adams C, Isaacs R, Gut LJ (2018) Evaluation of nasonov pheromone dispensers for pollinator attraction in apple, blueberry, and cherry. *Journal of Economic Entomology* 111, 1658–1663.
- Wintermantel D, Locke B, Andersson GKS, Semberg E, Forsgren E, Osterman J, Pedersen TR, Bommarco R, Smith HG, Rundlöf M, de Miranda JR (2018) Field-level clothianidin exposure affects bumblebees but generally not their pathogens. *Nature Communications* 9, e5446.
- Woodard SH, Lozier JD, Goulson D, Williams PH, Strange JP, Jha S (2015) Molecular tools and bumble bees: revealing hidden details of ecology and evolution in a model system. *Molecular Ecology* 24, 2916–2936.
- Yañez O, Jaffé R, Jarosch A, Fries I, Moritz RFA, Paxton RJ, de Miranda JR (2012) Deformed wing virus and drone mating in the honey bee (*Apis mellifera*): implications for sexual transmission of a major honey bee virus. *Apidologie* 43, 17–3
- Yousef S, Al-Abbadi A (2009) Efficiency of different pollination treatments on Solanaceae yields grown in plastic house. *Journal of Biological Sciences* 9, 464–469.
- Ärfstād L (2012) Determining genetic relatedness in honey bees, *Apis mellifera*, using microsatellite analysis. MSc thesis, Uppsala University.
- Öckinger E, Smith HG (2006) Landscape composition and habitat area affects butterfly species richness in semi-natural grasslands. *Oecologia* 149, 526–534.
- Öckinger E, Smith, HG (2007) Semi-natural grasslands as population sources for pollinating insects in agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology* 44, 50–59.

Bilaga 1

B.1 Statistisk analys av införda och direktfrysta samhällen

Förekomst av var och en av de screenade parasiterna eller patogenerna beskrivs med prevalens (hur stor andel individer som är infekterade angivet i procent) och mängd, smittämne om individen är infekterad (hur mycket dna-markörer det finns i provet i ppm). Prevalens och mängd, inklusive effekten av införda humlor på dessa, skattades med hjälp av statistiska modeller. Eftersom variabler för respons är ett antal respektive en mängd använde vi oss av generaliserade linjära mixade modeller. Modellen för prevalens var en logistisk regression med fasta och slumpmässiga faktorer.

En patogen eller parasit hos individ l från koloni j och uppfödningssanläggning i förekommer med en prevalens θ_{ij}

$$z_{ijl} \sim \text{Be}(\theta_{ij})$$

Prevalens för patogen eller parasit beror på en generell hantering av sanitet på uppfödningssanläggningen (β_i , fix effekt) och vilken koloni man tillhör (π_{ij} , slumpmässig effekt).

$$\text{logit}(\theta_{ij}) = \mu_{z,i} + \pi_{z,ij}$$

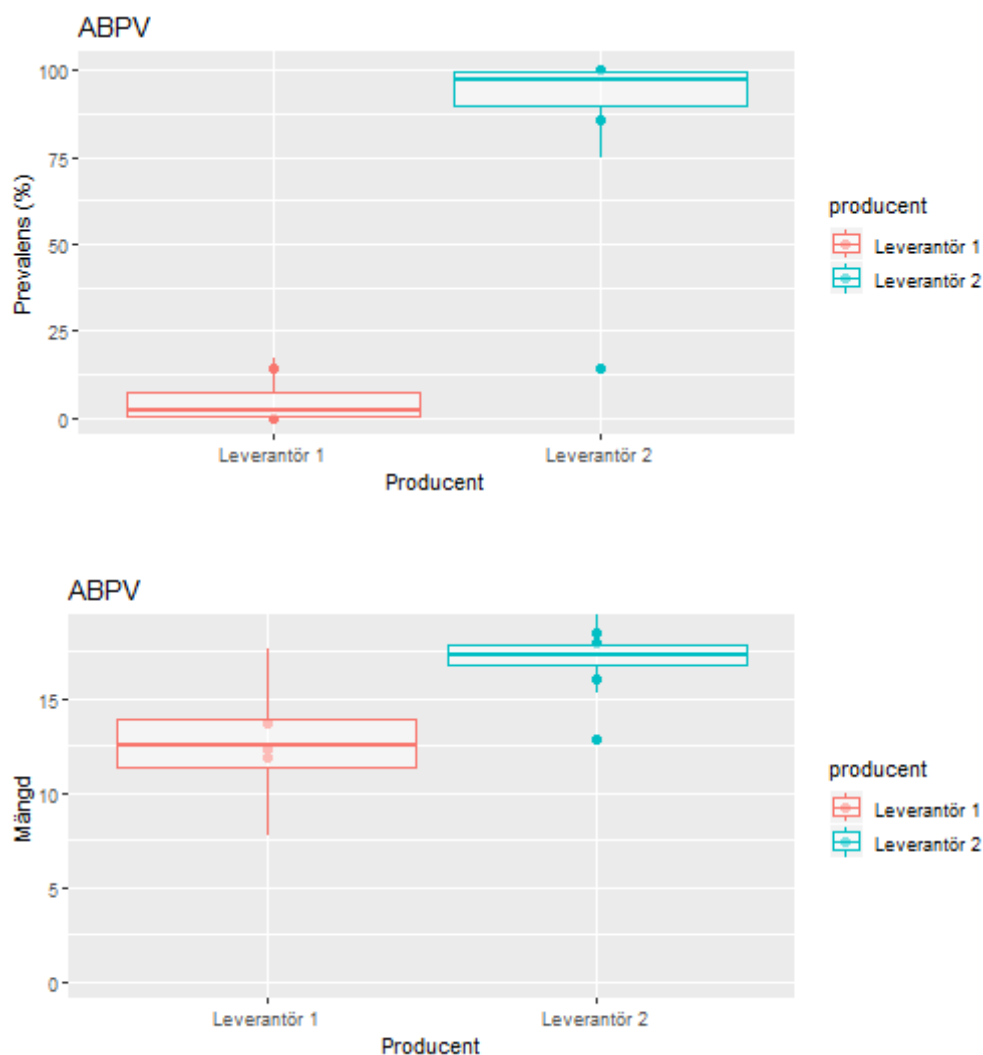
Mängd skattades med en så kallad hurdle-modell som kombinerar den logistiska regressionen med en regression för mängden. Mängden av DNA som parasiten eller patogenen som finns hos en individ l är x_{ijl} (uppmätt som log parts per million) antas följa en normalfördelning

$$x_{ijl} / z_{ijl} = 1 \sim N(\mu_{x,i}, \sigma_i)$$

Även mängd av patogen eller parasit tilldelas fixa och slumpmässiga effekter.

$$\mu_{ij} = \mu_{x,i} + \pi_{x,ij}$$

De statistiska modellerna analyserades med Bayesiansk statistisk inferens med hjälp av R-paketet brms (Bürkner 2018). En Bayesiansk statistisk analys leder till osäkerhet i parametrar som beskrivs med sannolikhetsfördelningar. Dessa sannolikhetsfördelningar kan sammanfattas med medelvärden, spridningsmått, osäkerhetsintervall eller percentiler. Det är också möjligt att beräkna och väga in osäkerhet i flera skattade parametrar eller prediktioner från samma analys. I detta fall sammanfattade vi prevalens och mängd om infekterad med 2,5 %, 25 %, 50 %, 75 % och 97,5 % percentiler. I [figur B1](#) beskrivs en sammanfattning av prevalens och mängd om humlorna är infekterade med ABPV uppdelad på de två humleproducenterna. Kolonispecifika skattningar visas som prickar.



Figur B1. Prevalens och mängd av ABPV uppdelad på de två humleleverantörerna. Kolonispecifika skattningar visas som prickar.

B.2 Statistisk analys av humlor i fält

Den statistiska modellen används för att skatta prevalens och mängd med samma metoder som för den statistiska modellen för inköpta samhällen, det vill säga en logistisk regression och en hurdle-modell med normalfördelad responsvariabel. Prevalens och mängd skattades med hjälp av statistiska modeller baserat på data från alla landskap i ett steg (till skillnad från att göra skattningar i varje landskap för sig). Dessa modeller utgör ett robust alternativ till att skatta prevalens och mängd i varje landskap och art separat, vilket för en del kombinationer har ett mycket litet dataunderlag. De statistiska modellerna formulerades för att innehålla parametrar för effekt av införda humlor för de två typerna av odlingsformer.

Modellen för humlor i fält skattar prevalens av parasit eller patogen i landskap i och individ j . Koloninivå finns inte med eftersom det inte är möjligt att veta vilka humlesamhällen individerna kommer ifrån. Skillnader i landskap är inbyggd i modellen genom att skatta effekt av olika landskapsvariabler på prevalens och mängd.

Prevalens i landskap i och individ j , θ_{ij} , är parametrar i en Bernoulli-fördelad variabel, z_{ij} som antar värdet 0 om parasiten eller patogenen inte finns på individen och 1 om den finns.

$$z_{ij} \sim Be(\theta_{ij})$$

Symbolen " $\sim$ " (läses som tilde) betyder "fördelad som". Prevalens modelleras genom att tilldela dess logit-transformation en normalfördelning.

$$\text{logit}(\theta_{ij}) \sim N(\mu_z + \beta_{z,beh} + \delta_{z,i} + \pi_{z,i}, \sigma_z)$$

där skillnad i prevalens beskrivs med ett intercept μ_z och effekt av behandling $\beta_{z,beh}$. Variation mellan studielandskap uttrycks med slumpmässiga effekter för studielandskap $\pi_{z,i}$. För artgrupperna med vilda humlor, det vill säga fälthumlor, jordhumlor och övriga humlor, ingår även slumpmässiga effekter från par i i försöksdesignen, $\delta_{z,i}$, i modellen. Spridning i mängd, σ_z , antas vara samma för alla landskap.

Om individen var infekterad analyserades mängd med en hurdle-modell. Mängden partiklar på individ j i landskap i , x_{ij} , som har en parasit eller patogen (det vill säga när $z = 1$) antas vara normalfördelad (på log-skalan).

$$x_{ij} | z_{ij} = 1 \sim N(\mu_{ij}, \sigma_x)$$

Denna normalfördelning beror på vilka faktorer som råder i det studielandskap individen har provtagits.

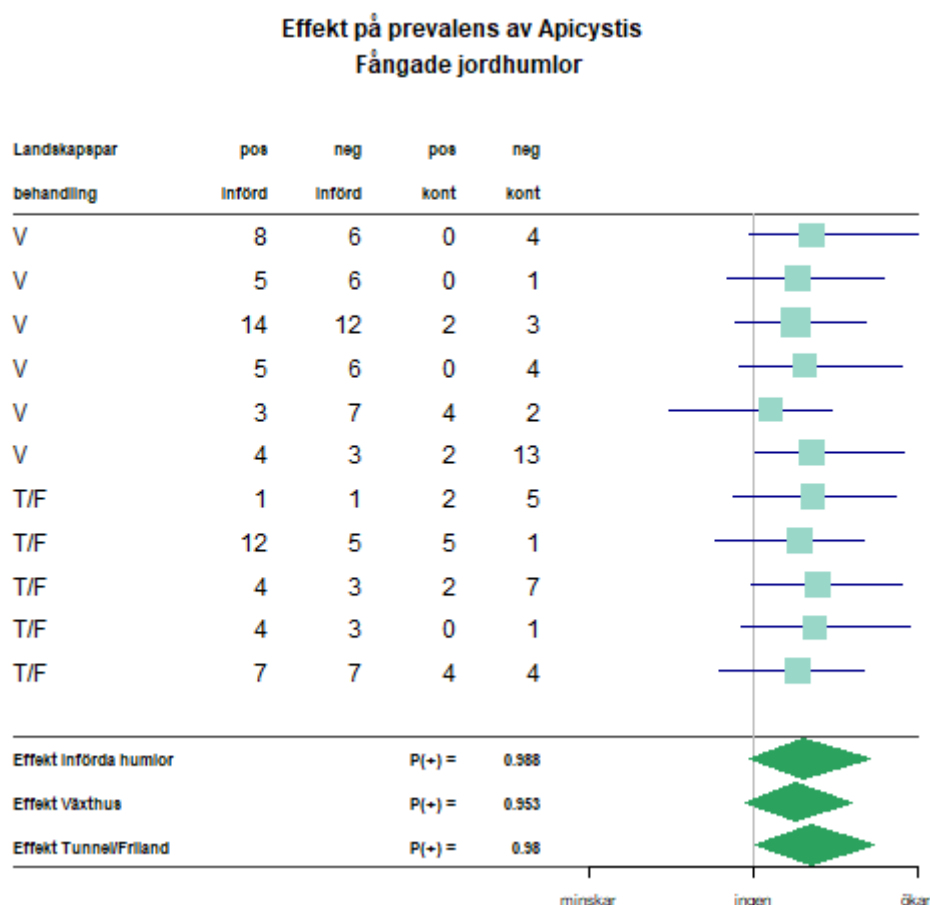
$$\mu_{ij} = \mu_x + \beta_{x,beh} + \delta_{x,i} + \pi_{x,i}$$

För vilda humlor, fångar effekt-parametrarna $\beta_{x,V}$ och $\beta_{x,TF}$ en systematisk skillnad mellan landskap med och utan införda humlor för växthus respektive tunnel/frilandsodling, med hänsyn tagen till variation mellan par av landskap δ och landskap i allmänhet π . För utplacerade införda humlor ingick endast effekt-parametern $\beta_{x,TF}$ för skillnad i odling mellan växthus och tunnel/friland och det fanns ingen slumpmässig faktor för landskapspar.

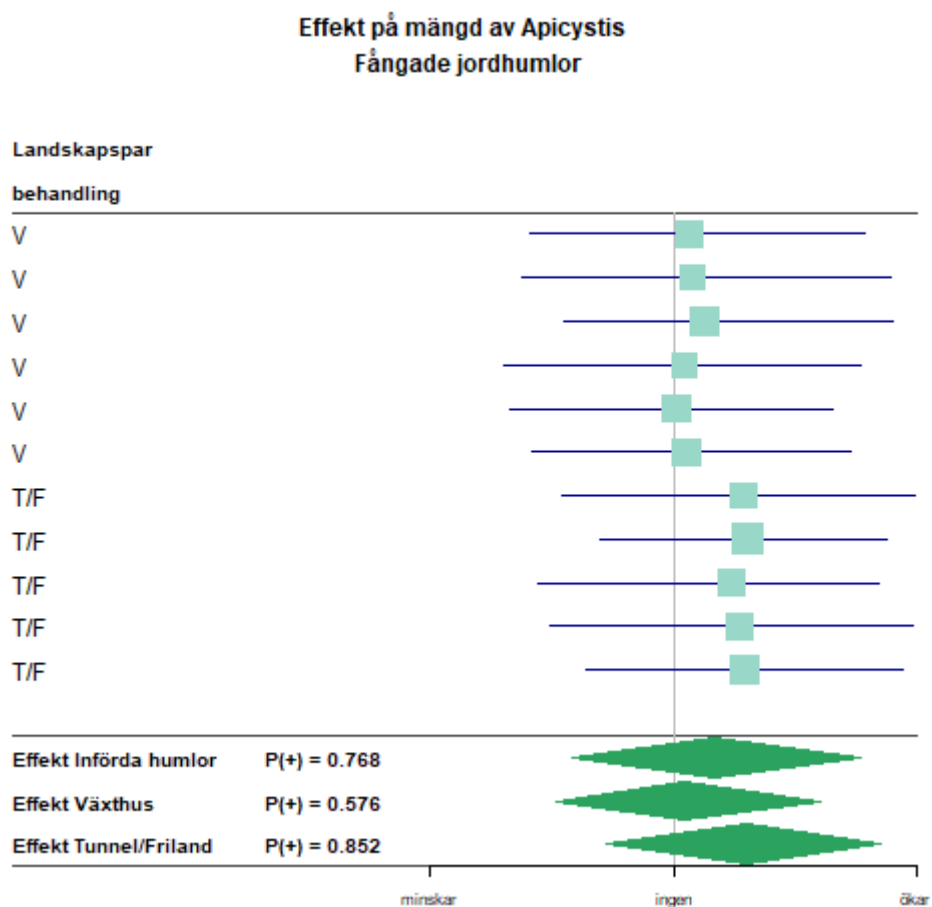
Analyser av prevalens nära noll eller 100 eller mängd där prevalens är nära noll bedömdes som ej tillförlitliga för att skatta effekt av odling. Detta förekom i några av analyserna för införda humlor (markeras med grå färg i [tabell 5.1](#) och 5.2).

I analysen är man intresserad av om effekt-parametrarna är större än noll. Resultat från en Bayesiansk inferens är simulerade slumpstal från en skattad sannolikhetsfördelning över modellens parametrar (en så kallad posteriori-fördelning). Sannolikheten att en effektparameter är större än noll beräknades genom att räkna hur många gånger motsvarande parameter var högre än noll i den

samlade posteriori-fördelningen. Det betyder att sannolikheten är nära 0,5 när det inte finns någon effekt. Vi beräknade även om det är någon systematisk skillnad mellan landskap med och utan införda humlor genom att ta medelvärdet av de två effektparametrarna. Skattade effekter och sannolikhetsvärden sammanställdes i så kallade "forestplots" som visar effekter i enskilda landskapspar/behandlingar och den sammanvägda effekten. Nedan visas figurer för *Apicystis*. Figurer från samtliga patogener finns på Lunds universitet.

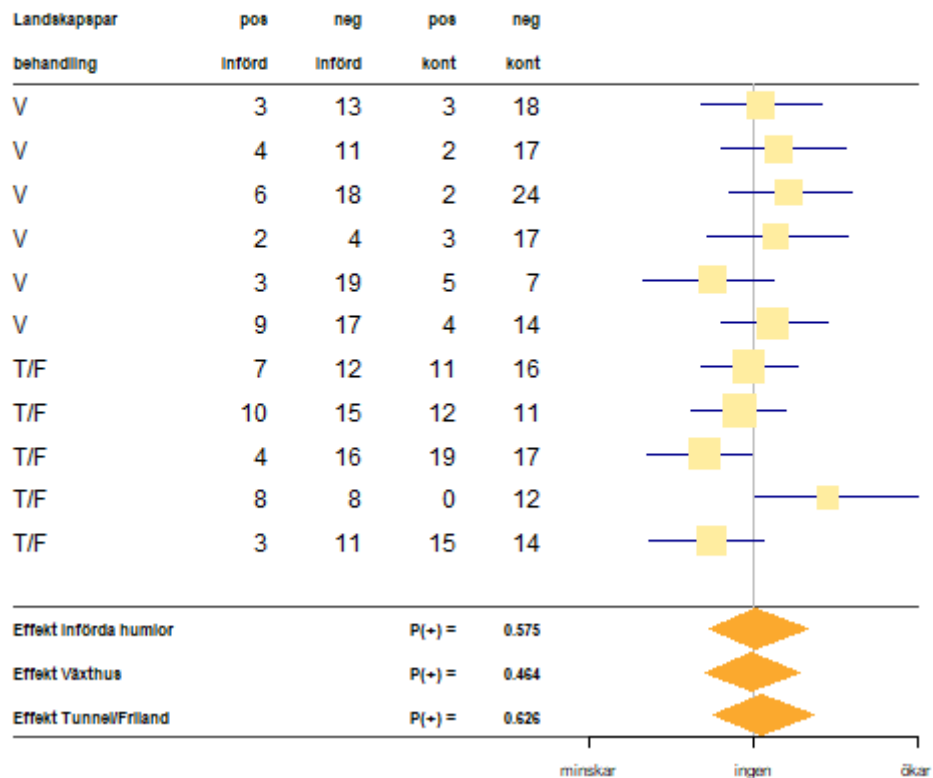


Figur B2. Effekt av införda humlor på prevalens av patogenen *Apicystis* hos fångade jordhumlor. Effekt för varje par av studielandskap (behandling jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95-procentigt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95-procentigt sannolikhetsintervall, uppdelad i effekt för odling i växthus och odling i tunnel eller friland, separat. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos) eller inte (neg) i landskap med införda humlor (införd) och kontrolllandskap (kont).

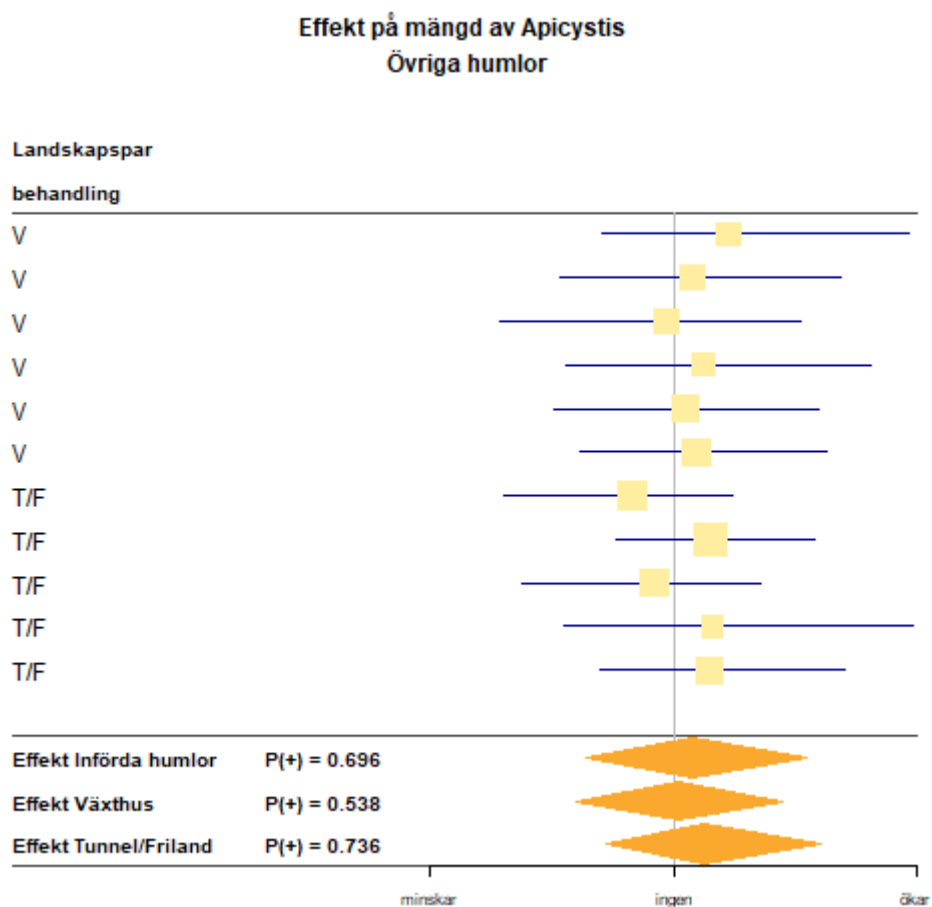


Figur B3. Effekt av införda humlor på mängd av patogenen *Apicystis* hos fångade och infekterade jordhumlor. Effekt för varje par av studielandskap (behandling jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95-procentigt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95-procentigt sannolikhetsintervall, uppdelad i effekt för odling i växthus och odling i tunnel eller friland, separat. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll).

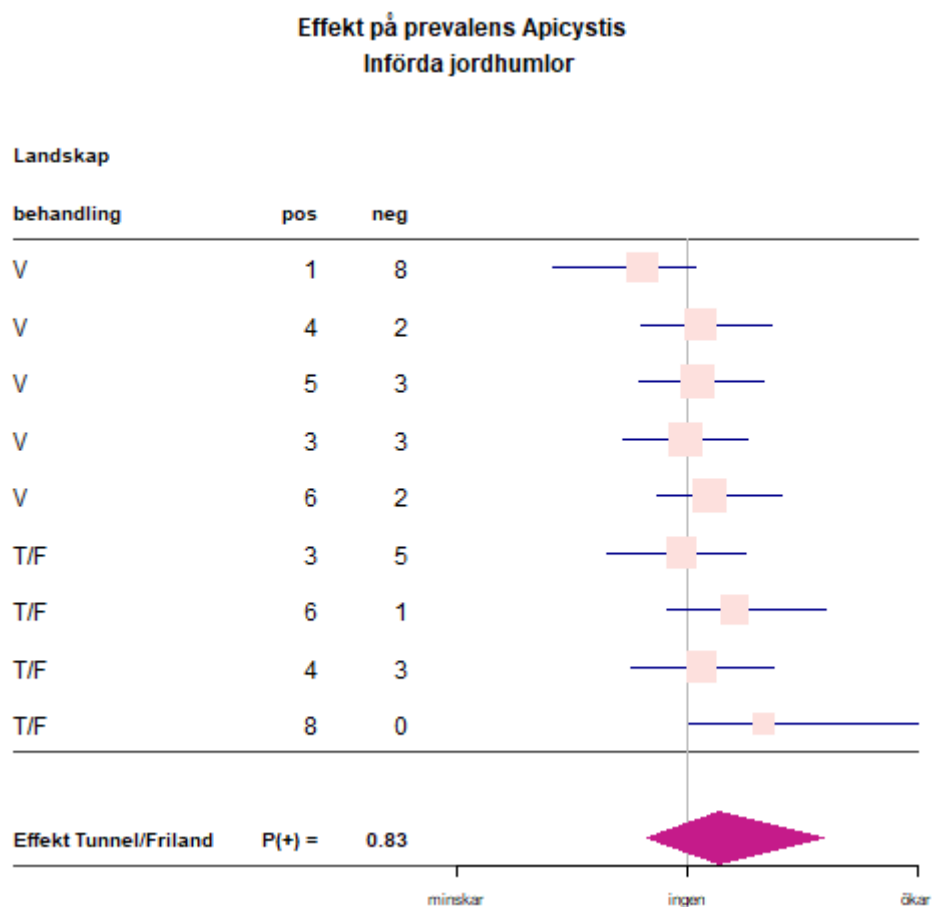
Effekt på prevalens av *Apicystis*
Övriga humlor



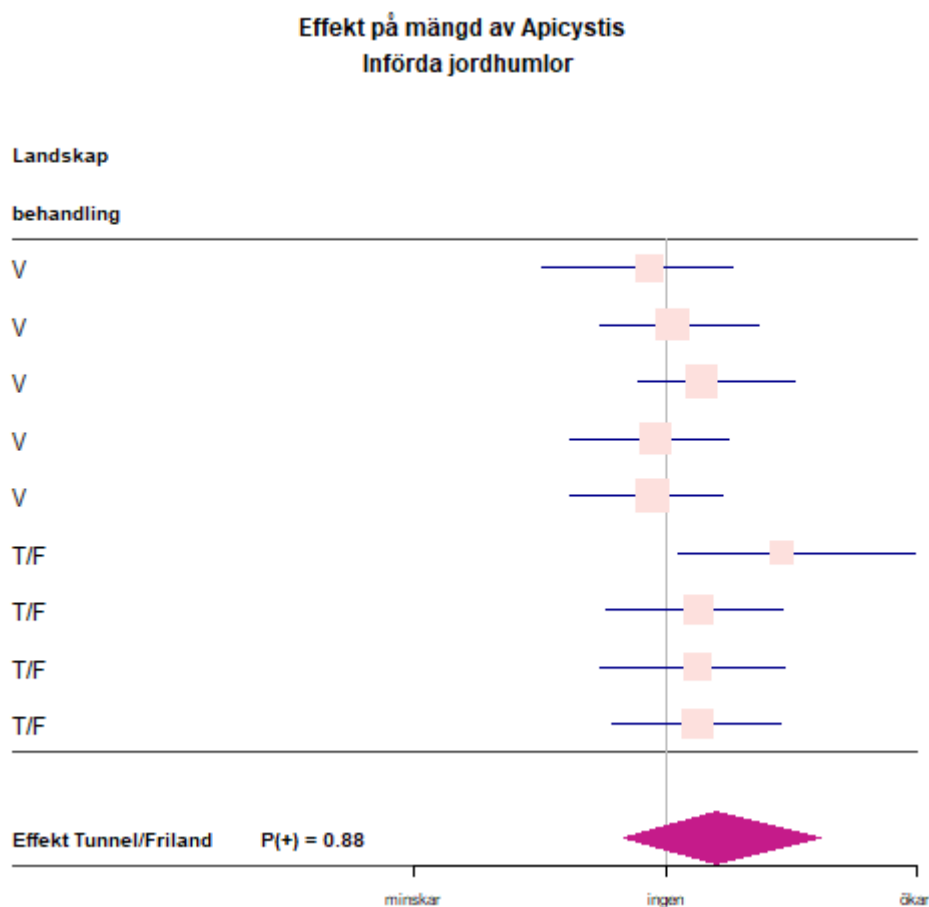
Figur B4. Effekt av införda humlor på prevalens av patogenen *Apicystis* hos humlor (ej jordhumlor) fångade i studielandskap. Effekt för varje par av studielandskap (behandling jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95-procentigt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95-procentigt sannolikhetsintervall, uppdelad i effekt för odling i växthus och odling i tunnel eller friland, separat. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos) eller inte (neg) i landskap med införda humlor (införd) och kontroll-landskap (kont).



Figur B5. Effekt av införda humlor på mängd av patogenen *Apicystis* hos infekterade humlor (ej jordhumlor) fångade i studielandskap. Effekt för varje par av studielandskap (behandling jämfört med kontroll) visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95-procentigt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av införda humlor visas med en romb som visar ett 95-procentigt sannolikhetsintervall, uppdelad i effekt för odling i växthus och odling i tunnel eller friland, separat. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll).

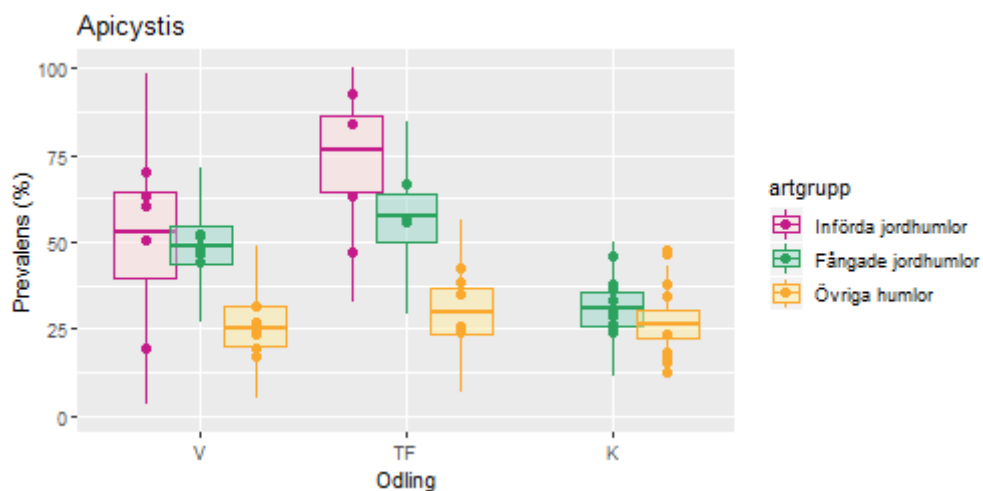


Figur B6. Effekt av typ av odling på prevalens av patogenen *Apicystis* hos införda och utställda jordhumlor. Effekt för studielandskap visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95-procentigt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av odling med införda humlor visas med en romb som visar ett 95-procentigt sannolikhetsintervall, uppdelad i effekt för odling i växthus och odling i tunnel eller friland, separat. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos) eller inte (neg).

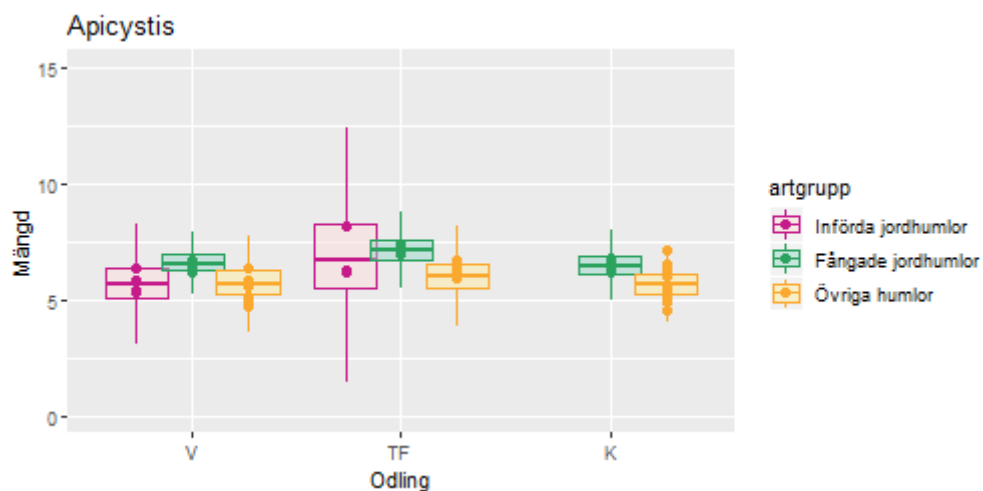


Figur B7. Effekt av typ av odling på mängd av patogenen *Apicystis* hos infekterade införda och utställda jordhumlor. Effekt för studielandskap visas med förväntat värde (kvadrat vars storlek ökar ju fler individer som har observerats) och 95-procentigt sannolikhetsintervall. Den sammanvägda förväntade effekten av odling med införda humlor visas med en romb som visar ett 95-procentigt sannolikhetsintervall, uppdelad i effekt för odling i växthus och odling i tunnel eller friland, separat. "P(+)" är den beräknade sannolikheten att effekten i genomsnitt är positiv (det vill säga större än noll). Siffror visar antal individer som är infekterade (pos) eller inte (neg).

För varje landskap skattade vi prevalens och mängd i den infekterade individen genom att för varje landskap extrahera medelvärdet av $\theta_{ij} * 100$ respektive μ_{ij} . Skattning av prevalens och mängd om infekterad i studielandskapen markeras med en punkt i figurerna nedan. Den förväntade prevalensen respektive mängden om infekterad för en individ i ett nytt landskap sammanfattades genom att använda motsvarande uttryck fast med simulerade slumpmässiga effekter. Prevalens och mängd i nya landskap beskrivs med en boxplot i figuren nedan. Mängd beskrivs på logskalan (naturliga logaritmen). Nedan visas figurer som sammanfattar skattad prevalens och mängd om infekterad för *Apicystis*. Figurer för samtliga patogener finns på Lunds universitet.



Figur B8. Skattning av prevalens av *Apicystis* hos utställda införda jordhumlor, fångade jordhumlor och övriga humlor i landskap där införda humlor används i växthusodling (V), för odling i tunnel eller friland (TF) eller där det inte finns införda humlor (K). Prickar visar skattad prevalens i 22 studielandskap. Boxplot visar mer fem percentiler fördelningen för prevalens i ett nytt landskap.



Figur B9. Skattning av mängd av patogenen *Apicystis* hos infekterade individer från utställda införda jordhumlor, fångade jordhumlor och övriga humlor i landskap där införda humlor används i växthusodling (V), för odling i tunnel eller friland (TF) eller där det inte finns införda humlor (K). Prickar visar skattad prevalens i varje studielandskap. Boxplot visar mer fem percentiler fördelningen för prevalens i ett nytt landskap.

B.3 Beräkningsmodell för att skatta import på länsnivå

Syftet med den regionala importanalysen är att skatta hur många samhällen som importerar till olika län. Importdata från åren 2016–2018 visar hur många samhällen som köps av de tre företagen som distribuerar importsamhällen till odlare i Sverige, $M_j = \sum_{i=1}^2 N_{i,j}$, där $j = 1, 2, 3$. Uppgifter på postnummer från företag som köper införda humlor under samma period visar att det finns en stor variation i hur många humlor som kommer till olika delar av landet. Det är dock inte känt hur många samhällen olika odlare köper och hur många odlare som finns i varje postnummer.

Antalet humlor som importerar i olika län skattas genom att ta hänsyn till förekomsten av tomatodlingar och odlingar av bär på friland och tunnlar. Varje importör har uppskattat hur stor andel av deras köpare som är tomatodlare. Antal samhällen för tomatodling a_{tomat} antas vara 3 gånger högre i ett genomsnittligt växthus (motsvarande 200 m² yta tomatodling) jämfört med ett hektar odling på friland $a_{friland}$, det vill säga, $a_{tomat} = 3a_{friland}$. Baserat på ett antagande att snittarean på växthus är 200 m², skattas antal växthus för tomatodling per län genom att dela arean tomatodling med antal företag och area per växthus inom varje län.

Andel tomat jämfört med andel bärodling i varje län (t_r , där $r = 1, \dots, 21$) skattas med statistik från Jordbruksverket. Antal postnummer per län ger en underskattning av hur stor andel av företag j 's import ($j=1, 2, 3$) som går till odlare i olika per län. Genom att vikta andel postnummer med hur många tomat- och bärodling det finns i olika län sett till landet totalt så får man att relativa antalet samhällen använda för tomatodling i län r är

$$\frac{w_{tomat,r,j}}{\sum_{r=1}^{21} w_{tomat,r,j}} \text{ där } w_{tomat,r,j} = n_{r,j} b_{tomat,j} t_r \text{ och } \frac{w_{friland,r,j}}{\sum_{r=1}^{21} w_{friland,r,j}} \text{ där } w_{friland,r,j} = n_{r,j} (1 - b_{tomat,j}) (1 - t_r)$$

för tomatodling respektive bär på friland. Relativa antalet samhällen till respektive län beräknas genom att vikta ihop det relativa antalet enheter av tomat och frilandsodling med antalet humlesamhällen per enhet:

$$q_{r,j} = a_{tomat} \frac{w_{tomat,r,j}}{\sum_{r=1}^{21} w_{tomat,r,j}} + a_{friland} \frac{w_{friland,r,j}}{\sum_{r=1}^{21} w_{friland,r,j}}$$

Antal införda samhällen till varje län beräknas genom att vikta ihop det relativa antalet samhällen för tomat och frilandsodling inom varje importör med antal samhällen införda av de tre företagen per år:

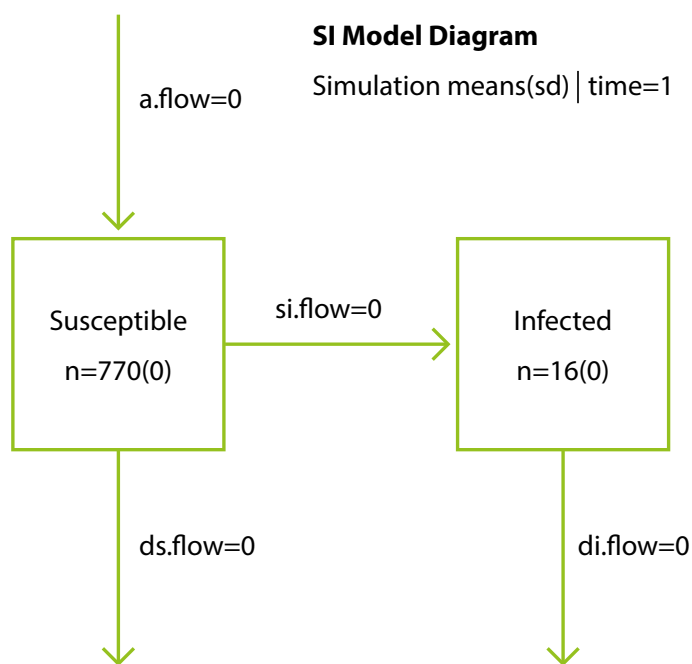
$$N_r = \sum_{j=1}^3 \frac{M_j q_{r,j}}{\sum_{r=1}^{21} M_j q_{r,j}}$$

Skattningen bygger på en del antaganden och förenklingar eftersom vi inte har tillgång till information om vem som köper införda humlor och hur många.

Eftersom det finns flera källor till osäkerhet och antagande bakom skattning kan det verkliga antalet införda samhällen till varje län variera något. Vi bedömer dock att det framräknade medelvärdet är stabilt eftersom det totala antalet samhällen hålls konstant och motsvarar verkliga data.

B.4 Teoretisk spridningsmodell

En modell för spridning av en patogen eller parasit bland humlor i ett landskap antar att individuella humlor antingen är mottagliga för en patogen eller virus (S) eller infekterade (I) ([figur B10](#)). Dessa bin befinner sig i ett landskap, men rör på sig. Varje dag kommer det in och försvinner bin i landskapet med samma hastighet (som sattes till ett bi per dag). Denna så kallade SI-modellen finns implementerad i R-paketet EpiMod (Jenness et al. 2018) i vilket man simulerar förändring av antal infekterade och mottagliga individer givet initialvärden, hur ofta smittotillfällen äger rum och hur sannolikt det är att smitta sker vid varje tillfälle. Spridning undersöks för patogener eller parasiter som går på både införda humlor och vilda pollinatörer.



Figur B10. Den epidemiologiska modellen delar in individer som mottagliga (S) och infekterade (I). Dynamiken uppstår från ett flöde från S till I (si) samt att individer kommer in och lämnar systemet med en viss hastighet (a, ds och di). Figuren är genererad av programmet EpiMod i R och visar initialvärden vid en modellkörning för ett landskap med 796 individer.

Modellen kalibrerades för ett scenario motsvarande den period på våren då det finns flygande humledrottningar i landskapet och ett eller flera införda humlesamhällen sätts ut. Periodens längd sattes till 60 dagar. Antalet vilda och införda humlor antas vara konstant under denna period. Antal infekterade

individer uppnår således så småningom en jämvikt ([figur B11](#)). Genom att dra bort antal införda individer, kan vi skatta antalet infekterade vilda individer.

$$I_{vilda} = \text{prevalens}_{vilda} N_{vilda}$$

$$I_{införda} = \text{prevalens}_{införda} N_{införda}$$

Antal infekterade individer beräknades som summan av antalet infekterade vilda och antalet infekterade införda bin.

Sannolikheten att smitta sker vid ett visst kontakttillfälle, π , beräknades som ett viktat medelvärde av de två gruppernas specifika smittosannolikheter (det är rimligt att anta att det kan vara skillnad eftersom de kan vara mer eller mindre mottagliga för smitta).

$$\pi = \frac{N_{vilda}\pi_{vilda} + N_{införda}\pi_{införda}}{N_{vilda} + N_{införda}}$$

Modellen simulerar spridningen flera gånger för att fånga slumpmässigheten i hur ofta bin träffas och hur troligt det är ett visst bi går från mottagligt till infekterat vid varje smittotillfälle. För varje iteration (upprepning) beräknades antalet infekterande vilda humlor som antal infekterade i modellsimuleringen efter att det totala antalet införda humlor tagits bort. För att fånga skillnader i spridningshastighet och skillnader i antal infekterade under jämvikt, beräknades ett medelvärde av antalet infekterade vilda bin under 60 dagar, $\bar{I}_{vilda}$.

Modellen kördes för landskap med olika nivåer på antal införda humlor och för landskap utan införda humlor (kontroll).

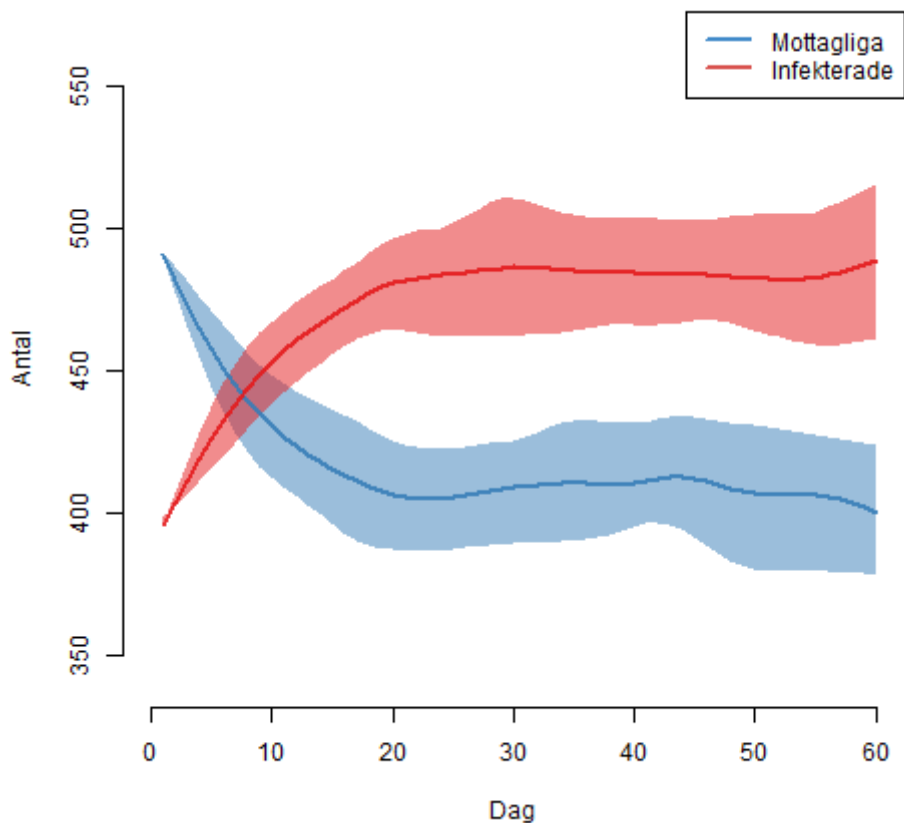
För varje modellkörning beräknades relativ risk, det vill säga relativt större andel infekterade i landskap med införda humlor jämfört med landskap utan införda humlor:

$$RR(N_{införda}) = \frac{\bar{I}_{vilda}(N_{införda})}{\bar{I}_{vilda}(N_{införda}=0)}$$

och prevalensrisk, det vill säga hur många fler infekterade vilda humlor som finns i landskap med införda humlor:

$$PR(N_{införda}) = \bar{I}_{vilda}(N_{införda}) - \bar{I}_{vilda}(N_{införda} = 0)$$

Ingen effekt av införda humlor motsvarar $RR = 1$ och $PR = 0$.



Figur B11. Den epidemiologiska modellen simulerar antal mottagliga och infekterade under 60 dagar. Så småningom uppnås jämvikt. Det totala antalet är konstant.

Två av modellens parametrar beror på egenskaper i landskapet i vilket spridning sker. Antal vilda humlor beräknades som produkten av antal vilda humlebon per yta humlehabitat, andel humlehabitat i landskapet (habitat), landskapets area (baserat på en radie av 1 000 m) och en reduceringsfaktor beroende på andel blomresurser i landskapet. Reduceringsfaktorn sattes så att den var 1,0 för en referensnivå på blomresurser och kunde gå så långt ner som 0,3 för en mycket låg andel blomresurser. Det förväntade antalet möten en individuell humla har per dag, λ , beräknades utifrån hur många blommor ett bi besöker per dag, hur många blommor det finns i landskapet och det totala antalet bin i landskapet förutom ett bi:

$$\lambda = \frac{\text{blommor per dag}}{\text{blomtäthet} \cdot \text{area}} (N_{\text{vilda}} + N_{\text{införda}} - 1)$$

Antal blommor per dag sätts till 100 och är en förenkling av verkligheten vilket motiveras av att modellen är en förenkling av verkligheten. Vi antar att alla bin kan träffas och avstånd mellan blommor och avstånd mellan humlehabitat eller plats för importhumlor inte spelar någon roll. Vi har inte heller tagit hänsyn till att upprepade besök till samma blomma av olika humlor kan minska på grund av doftämnen från tidigare besökare.

Sannolikhet för smitta vid kontakt är en parameter i modellen som styr spridningsförloppet. Det är rimligt att risken för smitta ökar med mängd av en parasit eller patogen som sitter på ett bi. Vi undersöker hur spridningshastighet påverkas av att införda humlor har en högre respektive lägre mängd jämfört med vilda bin under ett scenario att sannolikheten för smitta är låg (lägre än 10 %).

Betydelse av antal införda humlesamhällen, prevalens och smittospridnings-sannolikhet, mängd habitat och blomresurser i landskap undersöktes med känslighetsanalys.

Känslighetsanalys 1: Betydelse av antal införda humlesamhällen

Scenarior införda humlor 0–500 (motsvarar 6 samhällen med cirka 80 individer i varje samhälle)

Simuleringar kördes för följande kombinationer av parametervärden:

- Prevalens vilda bin 2 % eller 5 %
- Prevalens införda humlesamhällen 2 % eller 5 %
- Sannolikhet för smitta vid kontakt 1 % eller 4 %
- Habitat 5 % och blomresurser 0,01 blomma per m² habitat i landskapet.

Resultaten sammanfattades genom att illustrera antal smittade vilda bin över antal införda humlor under olika scenarior.

Känslighetsanalys 2: Betydelse av resurser i landskapet

Scenario med prevalens införda humlor 1 % eller 5 % och prevalens för vilda humlor 1 % eller 5 %

Simuleringar kördes för parametervärden slumpade från följande intervall:

- Antal införda humlor mellan 200 och 300 stycken
- Smittosannolikhet vilda bin mellan 1 % och 5 %
- Smittosannolikhet införda humlor mellan 1 % och 5 %
- Habitat mellan 1 % och 20 %
- Blomresurser mellan 0,001 och 0,1 blomma per m²
- Täthet av boplatser av vilda humlor begränsas av tillgång på habitat och minskar med minskande blomresurser

Resultaten sammanfattades genom att anpassa andragradspolynommodeller med avseende på habitat och blomresurser och rita upp responsytan under olika scenarier.

Publikationer inom samma område

1. Biologiska hot mot honungsbin. Rapport 2020:7. Jordbruksverket.
2. Massdöd av bin – *samhällsekonomiska konsekvenser och möjliga åtgärder*. Rapport 2009:24. Jordbruksverket



Europeiska jordbruksfonden för
landsbygdsutveckling: Europa
investerar i landsbygdsområden

Jordbruksverket
551 82 Jönköping
Tfn 036-15 50 00 (vx)
Fax 036 34 04 14
E-post: jordbruksverket@jordbruksverket.se
www.jordbruksverket.se

