

Malene Kyrkjebø Vinnes

**NTNU**  
Norges teknisk-naturvitenskapelige  
universitet  
Fakultet for naturvitenskap  
Institutt for biologi

Malene Kyrkjebø Vinnes

## Hvorfor dør humler under lindetrær?

Mai 2019





## Hvorfor dør humler under lindetrær?

Lektor i realfag

Innlevert: Mai 2019

Hovedveileder: Jan Ove Gjershaug

Medveileder: Frode Ødegaard

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Institutt for biologi



## Takk

*Jeg vil rette en stor takk til Jan Ove Gjershaug, først og fremst for et engasjement som smitter. Takk også for god oppfølging i arbeidet med denne oppgaven og en alltid åpen dør med rom for spørsmål og undring. Takk til Inger Marie Aalberg Haugen for gode innspill og idéer gjennom hele masterarbeidet. Jeg vil også takke Frode Ødegaard for konstruktive tilbakemeldinger og nyttige råd. Takk Ola Diserud for å tålmodig ha vist meg og latt meg forstå deler av statistikkens verden.*



## Sammendrag

At humler dør under blomstrende lindetrær er et svært kjent fenomen. Det er blitt foreslått mange forklaringer på hvorfor dette skjer, samtidig peker resultater i flere retninger. Kunnskap om årsaker til dette fenomenet er viktig for å bedre legge til rette for de sårbare og viktige pollinatorene i urbane strøk. Hensikten med denne oppgaven er å kartlegge hvorvidt giftig nektar, predasjon, naturlig død og sult kan bidra til å forklare hvorfor humler dør under lindetrær.

I alt 500 døde humler ble samlet inn under 24 parklindtrær *Tilia x europaea*. Innsamlingen ble gjort fire ganger om dagen gjennom hele blomstringssesongen i 2018. På samme tid ble antall levende humler oppe i hvert tre estimert. De døde humlene ble sortert til ulike alderskategorier, og skader på kropp ble registrert. For å kartlegge omfanget av sult blant de døde humlene ble et tilfeldig utvalg av jordhumler ( $n = 95$ ), tørket, målt og veid før de ble sammenliknet med to kontrollgrupper av oppdrettshumler (mørk jordhumle) som var henholdsvis sultet ( $n = 34$ ) og ikke sultet ( $n = 49$ ). For å undersøke om lindenektaren var skadelig ble oppdrettshumler ( $n = 10$ ) fôret utelukkende med lindenektar i en dag.

Totalt 36% av de døde humlene under lindetrærne ble klassifisert som gamle. Disse kan ha dødd som følge av generell fysisk svekkelse. Til sammen 51% av de døde insektene hadde skader som følge av at de var spist på. Funn tyder på at predasjon i seg selv kan stå for dødsårsaken til flere av disse humlene. Vekten til gruppen av ville døde humler er signifikant forskjellig fra vekten til gruppen av ikke-sultede oppdrettshumler og sultede oppdrettshumler når størrelse er korrigert for. Høy opplevd temperatur på asfalten hvor de ville humlene blir liggende kan ha medført at disse dør på et tidligere stadium enn humler som blir sultet i romtemperatur inne. Dette kan være årsaken til noe av avviket mellom de to gruppene. Lik vekt mellom mange ville humler og sultede oppdrettshumler indikerer at et stort antall av humlene funnet under lindetrærne har dødd av sult. Noen ville humler har derimot en vekt som ikke indikerer at de døde av sult. Forsøk viste at lindenektaren ikke var skadelig for humler fôret utelukkende på denne.

Denne studien viser at det er et komplekst samspill av mekanismer som forklarer funn av døde humler under blomstrende lindetrær. Både predasjon, alderdom og sult kan fungere som deler av en forklaring på fenomenet. Samtidig er det flere dødsfall som ikke tilstrekkelig lar seg beskrive av disse årsakene. Ytterligere kunnskap om nektarproduksjon hos lind og forekomst av ulike parasitter hos humler kan bidra til å videre utvide forståelsen av årsaken til humledød under lindetrær.





## Abstract in English

Bumblebees dying under flowering linden trees has, for a long time, been a phenomenon that scientists have not been able to fully explain. Linden trees constitutes a large portion of trees planted in urban areas. To preserve the important and vulnerable pollinators, more knowledge is needed. The aim of this study is to elaborate how the previously proposed mechanisms of poisonous nectar, predation, natural death and starvation might serve as explanations.

Dead bumblebees ( $n = 500$ ) lying under 24 common linden *Tilia x europaea* were collected four times a day during the whole flowering season of 2018. At the same time the number of flying bumblebees in the trees was estimated. The dead insects were sorted into different age groups, and signs of possible predation were registered. To map the extent of possible starvation, a random sample of dead bumblebees ( $n = 95$ ) were dried. The size and weight of each bumblebee was measured before being compared with control groups of farmed bumblebees that had been starved ( $n = 34$ ) and not starved ( $n = 49$ ). To examine the hypothesis of poisonous nectar, farmed bumblebees ( $n = 10$ ) were fed exclusively on linden nectar for one day.

Of the age classified bumblebees, 36 % were categorised as old. The death of these insects can be explained by reduced physical capacity. In all, 51% of the bumblebees had injuries consistent with having been partially eaten. This result suggest that predation might have been the main cause of death for many of these individuals. There is a significant difference between the weight of dead wild bumblebees and the two groups of reared bumblebees when their size was adjusted for. The wild bumblebees died under warmer conditions than the farmed bumblebees that were starved, which might have induced earlier death for the wild insects, and could be the reason for the differences in weight observed between these two groups. However, many of the farmed starved bumblebees and the wild ones had, more or less, the same weight. This may indicate that a huge number of the bumblebees found under the linden trees did die of starvation. The feeding experiments showed that the linden nectar was not harmful to the insects.

The result of this study suggests that there is a complex set of mechanisms that might explain the death of bumblebees under linden trees. Both predation, aging and starvation may contribute as parts of an explanation off the phenomenon. However, these are not sufficient to explain the death of all the bees. Further knowledge about the nectar production of linden trees and bumblebee-parasites dynamics is needed to further understand the phenomenon.



# Innhold

Figurliste: .....	xiii
Tabelliste: .....	xiv
1 Introduksjon .....	1
1.1 Lindetrær .....	1
1.2 Humler .....	3
1.3 Foreslåtte forklaringer på hvorfor humler dør under lindetrær.....	3
1.3.1 Giftig nektar .....	3
1.3.2 Predasjon.....	4
1.3.3 Naturlig død .....	4
1.3.4 Sult.....	4
2. Metode .....	7
2.1 Studieområde.....	7
2.2 Datainnsamling i felt .....	7
2.3 Arts og katebestemmelse .....	7
2.4 Laboratorieanalyser og eksperimentelt design .....	8
2.5 Statistisk analyse.....	11
2.5.1 Predasjon.....	11
2.5.2 Alder .....	11
2.5.3 Sult.....	12
2.5.4 Forklaringsvariabler for variasjon av antall døde .....	12
3. Resultat.....	15
3.1 Gifthytesen .....	15
3.2 Predasjon.....	15
3.3 Naturlig død- Aldersanalyse.....	16
3.3.1 Aldersfordeling blant uskadde humler .....	16
3.3.2 Aldersfordeling blant skadde humler .....	18
3.4 Sult.....	18
3.5 Temporær variasjon og sammenheng mellom antall døde og levende humler .....	20
4 Diskusjon.....	23
4.1 Materialer og metode .....	23
4.1.1 Aldersbestemmelse av insekt.....	23
4.1.2 Vurdering av kvaliteten på sulteksperiment og analyse .....	23
4.1.3 Estimering av antall døde og levende humler.....	24
4.2 Fôringsforsøk og nektaranalyse .....	24
4.3 Predasjon.....	24
4.4 Naturlig død og aldersanalyse.....	25

4.5 Sult.....	26
4.6 Temporær variasjon og sammenheng mellom antall døde og levende humler .....	27
4.7 Videre studier.....	28
4.7.1 Manipulasjonshypotesen .....	29
4.7.2 Gjæringshypotesen .....	29
4.7.3 Parasitthypotesen .....	29
5. Konklusjon.....	31
Referanser.....	33
Vedlegg A.....	39
Vedlegg B.....	40
Vedlegg C.....	41
Vedlegg D.....	42
Vedlegg E.....	43
Vedlegg F .....	44
Vedlegg G.....	45

## Figurliste:

Figur 1: Blad og blomsterkvast av lind.....	2
Figur 2: Bilde av deler av studieområdet.....	7
Figur 3: Telt med oppdrettsbol.....	8
Figur 4: Frem- og bakvinge av humle.....	11
Figur 5: Antall døde humler funnet gjennom sesongen.....	15
Figur 6: Andel spiste humler gjennom dagen.....	16
Figur 7: Aldersfordeling blant døde humler.....	17
Figur 8: Aldersfordeling blant døde humler gjennom sesongen.....	17
Figur 9: Humlens vekt <sup>1/3</sup> som funksjon av vingelengde <sup>1/2</sup> .....	19
Figur 10: Antall humler registrert for hvert besøkstidspunkt for dagen.....	20
Figur 11: Antall døde og levende humler funnet under og i lindetrærne gjennom sesongen.....	21
Figur 12: Antatt nektarproduksjon for lind gjennom dagen og antall døde på samme tidspunkt.....	22
Figur 13: Sammenhengen mellom antall døde og levende humler for hvert besøkstidspunkt.....	44

## Tabelliste:

Tabell 1: Oversikt over når studieområdet ble besøkt i løpet av dagen.....	7
Tabell 2: Kategorisering av alder basert på vinge- og behåringsslitasje.....	9
Tabell 3: Kastefordeling og antall skadde.....	15
Tabell 4: Prosentvis fordeling av vingelengde hos skadde og uskadde ville humler.....	18
Tabell 5: $R^2$ og antall frihetsgrader for lineær modell av $vekt^{1/3}$ som funksjon av $vingelengde^{1/2}$ .....	19
Tabell 6: Estimerte regresjonsparametere for ulike grupper hvor $vekt^{1/3}$ er en funksjon av $vingelengde^{1/2}$ .....	19
Tabell 7: AIC-verdier for modeller som kan forklare predasjon.....	39
Tabell 8: Estimer for modell som best forklarer variasjon av andel spiste humler.....	40
Tabell 9: AIC-verdier for modeller som kan forklare funn av døde humler (scenario 1).....	41
Tabell 10: AIC-verdier for modeller som kan forklare funn av døde humler (scenario 2).....	41
Tabell 11: Estimer for modell som best beskriver antall døde humler (scenario 1).....	42
Tabell 12: Estimer for modell som best beskriver antall døde humler (scenario 2).....	43

# 1 Introduksjon

Menneskenes velferd beror på sunne økosystemer og livskraftige insektsbestander, da disse gjør oss en rekke tjenester vi ikke kunne vært foruten (Scudder, 2009). Produksjon av over 30% av maten vi spiser er avhengig av pollinering av insekter, hvorav humlene gjør en viktig jobb (Goulson & Osborne, 2010; Klein et al., 2007). Rundt 14 % av verdens humlearter er påvist i Norge, og sammen med andre bier utgjør de en av de viktigste gruppene pollinatorer i denne delen av verden (Ødegaard et al., 2015b; Totland et al., 2013). Mens byer vokser endres også humlenes mattilgang, og viktigheten av gode habitat for pollinatorer i urbane områder blir tydelig (Baldock et al., 2015; Goulson & Darvil, 2009; Potts et al., 2010). For å best mulig legge til rette for sunne økosystem i byer, må vi ha kunnskap om hvordan ulike arter påvirker hverandre. Å være bevisst på hvordan grønne områder i byer påvirker våre pollinatorer kan være en del av løsningen i arbeidet med å bevare insektene (Baldock et al., 2015).

Nektarproduserende trær er en viktig næringskilde for pollinatorer i byer (Somme et al., 2016), hvorav arter i lindeslekta *Tilia* tåler vekstvilkårene på disse stedene godt (Håpnes & Hansejordet, 2017). Trær fra lindeslekta er de mest vanlige i nordiske byer (Sjöman, 2012). En undersøkelse publisert i 2002 viser at 70% av alle nyplantede trær i Oslos gater var parklind *Tilia x europaea* (Pauleit et al., 2002).

Samtidig som stadig flere lindetrær plantes i byer, blir det mer og mer bevissthet rundt det faktum at det hver sommer blir observert døde humler under disse trærne (Haugsvær, 2016; Kluge, 2014). Det har til tider vært snakk om såpass mange dyr at fenomenet blir omtalt i medier som massedød (Lindin, 2014). At humler dør under lindetrær har vært kjent lenge (Saunders & Saunders, 1907), og det er kommet mange forslag til forklaringer på fenomenet (Fossen et al., 2019; Koch & Stevenson, 2017). Likevel bærer temaet preg av mange løse tråder, og mange spørsmål står fremdeles ubesvart. Den norske vitenskapskomitéen for mat og miljø- (VKM) understreker behovet for at fenomenet blir sett nærmere på, og presenterer flere hypoteser som må undersøkes videre (VKM, 2017).

Hensikten med denne oppgaven er å undersøke flere av hypotesene som kan forklare hvorfor humler dør under lindetrær, i denne studien parklind. Disse hypotesene er:

- 1) Gifthyposen: Humlene blir forgiftet av treets nektar.
- 2) Predasjonshypotesen: Humlene dør av predasjon.
- 3) Naturligdød/Aldershypotesen: Humlene dør en naturlig død som følge av høy alder.
- 4) Sulthyposen: Humlene dør av sult.

## 1.1 Lindetrær

I Norge vokser det tre typer trær tilhørende lindeslekta. Blant disse er det kun kjent at vanlig lind *Tilia cordata* forekommer naturlig. Dette er et varmekrevende edelløvtré som er vanligst langs kysten opp til Møre, samt ganske vanlig i de sørlige delene av Østlandet (Håpnes & Hansejordet, 2017). Storlind *Tilia platyphyllos* er innført flere steder i landet og også forvillet på Sørlandet og sørlige deler av Østlandet (Lid et al., 2005). Parklind *Tilia x europaea* er en hybrid mellom storlind og vanlig lind (Pigott, 2012). Det er til nå ikke kjent at den setter spiredyktige frø og reproducerer naturlig i Norge (Grundt et al., 2015). Parklind er svært vanlig å finne i byer, hvor den er plantet. En undersøkelse har vist at 16% av alle trær i utvalgte nordiske byer er parklind (Sjöman, 2012).

Lindetrærne kan bli store, hvorav vanlig lind kan bli opp mot 20 – 30 meter høye. Trærne har hjerteformede blader og hvite blomster. Trærne kan skilles fra hverandre ved å se på kjennetegn på undersiden av bladene og antall blomsterkvaster. Storlind har en grønn farge på undersiden av bladene hvor de også er hårete, bladskaftene er lodne og bladene har tydelige nerver. Arten har blomsterstander med 2–5 blomster i hver. Dette skiller arten fra vanlig lind som har snau bladskaft, kun behåring i bladets nervevinkel, og en mer blågrønn underside. Parklind har, som storlind, grønn farge på undersiden av bladet, og tydelige nerver. Parklind og vanlig lind har blomsterkvaster med flere blomster enn storlind, på henholdsvis 5 – 10 og 4 – 15 blomster (Lid et al., 2005). Figur 1 viser blader og blomsterkvast av storlind, vanlig lind og parklind.



Figur 1: Blad og blomsterkvast av storlind (venstre), vanlig lind (høyre) og parklind (nederst) (Foto: Jan Ove Gjershaug).

Blomstringsperioden til lind varer som oftest to til tre uker (Kirk & Howes, 2012), og skjer i Norge i slutten av juli og starten av august. En studie gjort i Polen viser at storlind blomstrer en kort uke før parklind, som igjen blomstrer et par dager før vanlig lind (Weryszko-Chmielewska & Sadowska, 2010). Dette stemmer overens med registreringer gjort i Trondheim (Aalberg Haugen et al., 2018). Nektar skilles ut gjennom hele blomstringsperioden, men når et høydepunkt mot slutten idet blomsten når sitt hunnlige stadium (Kirk & Howes, 2012). Lindetrærnes nektar er lett tilgjengelig, og det genereres mer etter hvert som den fjernes (Anderson, 1976). Likevel produseres nektaren hovedsakelig tidlig på formiddagen, og det er ikke uvanlig at det er lite nektar å finne på ettermiddagen og kvelden når været er varmt og tørt. Den optimale temperaturen for nektarutskillelse regnes å være 20°C (Kirk & Howes, 2012). En studie fra Norfolk i England (52° N) viser at nektarproduksjonen på et tre som er intermediert mellom storlind og parklind tar seg opp igjen utover kvelden (Corbet & Prÿs-Jones, 1979). I Münster i Tyskland (51° N) viste både storlind og vanlig lind en synkende nektarproduksjon fra morgen til kveld (Illies & Mühlen, 2007).



## 1.2 Humler

Humler (*Bombus spp.*) utgjør en egen slekt, og tilhører langtungebiefamilien (Apidae) i vepseordenen (Hymenoptera). På verdensbasis finnes det ca. 250 ulike humlearter, hvorav 35 er observert i Norge. Langtungebiefamilien består utelukkende av eusosiale bier. Dette betyr at humler har en ikke-reproduserende arbeiderkaste. Koloniens dronning står utelukkende for reproduksjon av arbeidere og mot slutten av sesongen også hanner og nye dronninger (Goulson, 2009). Hos oss har humlekolonier en årlig livssyklus hvor alle individer, bortsett fra de nye dronningene, har dødd ved sesongens slutt. Insektsgruppen har en liten effektiv populasjonsstørrelse, noe som kan gjøre dem ekstra sårbare for endringer i landskapet (Goulson & Darvil, 2009). Humler lever utelukkende på nektar og pollen, og er avhengig av kontinuerlig tilgang på dette (Couvillon et al., 2014; Goulson, 2009).

En relativt høy andel av Norges humle- og biearter er kategorisert som truet eller nær truet og befinner seg derfor på den norske rødlista (Henriksen & Hilmo, 2015). Fem av Norges humlearter er på rødlista (Ødegaard et al., 2015a). Nedgang i verdens humlebestander er en generell trend hvorav den største årsaken i Europa er habitattap og endringer i kulturlandskapet (Goulson et al., 2008). Bruk av pesticidier er også vist å ha negativ effekt på tetthet av villbier, samt kolonivekst og reproduksjon hos humler (Rundlöf et al., 2015). Klimaendringer vil endre miljøet humlene oppholder seg i, og deres utbredelsesområder er forventet å reduseres kraftig (Rasmont et al., 2015). Samtidig er effekten av klimaendringene størst når humlene allerede er presset av andre faktorer, som for eksempel redusert mattilgang (Williams et al., 2007). Klimaendringene er også forventet å påvirke indirekte ved endret artssammensetning blant planter, endret konkurranse og nye sykdommer og parasitter (Ødegaard et al., 2015b).

Humler er verter for en rekke parasitter, parasitoider og patogener, hvilket inkluderer både insekter, sopp, bakterier, virus og protozoer (Goulson et al., 2015). Samtidig er kunnskapen om hvilke konsekvenser parasitter og sykdommer har for hver enkelt vert og populasjoner i sin helhet, svært mangelfull (Goulson & Brown, 2009). Forekomsten og utbredelsen av de ulike parasittene er hovedsakelig ukjent. De fleste arbeiderne i naturlige populasjoner er infisert av en eller annen parasitt, likevel viser vertene i utgangspunktet normal adferd (Moret & Schmid-Hempel, 2000; Schmid-Hempel, 1998).

## 1.3 Foreslåtte forklaringer på hvorfor humler dør under lindetrær

### 1.3.1 Giftig nektar

En av hypotesene knyttet til humledødfenomenet er at lindetrær produserer et giftstoff som humlene får i seg og dermed dør (VKM, 2017). Det har blitt foreslått at nektaren inneholder mannose, et monosakkarid som humler ikke er i stand til å bryte ned, hvorav inntaket av dette tar livet av dyrene (Geissler & Steche, 1962; Madel, 1977; Pawlikowski, 2010). Senere analyser viser derimot at lindenektar ikke inneholder mannose (T. Baal et al., 1991; Fossen et al., 2019).

Det er ikke uvanlig at planter produserer sekundære metabolitter som kan være giftige for pollinatorer (Adler, 2000). Kjemien til lindenektar er svært kompleks; i vanlig lind *Tilia cordata* har det blitt funnet nesten 500 forbindelser (Naef et al., 2004). Den biologiske virkningen av alle disse stoffene, alene og i kombinasjon, er ikke fullstendig kartlagt, men til nå er det ikke identifisert noen komponenter som er kjent å være giftige for humler (Fossen et al., 2019; Jacquemart et al., 2018).

Det er gjort flere forsøk på å fôre humler med lindenektar. Blant annet har humler i laboratorium blitt gitt nektar utelukkende fra sølvblind *Tilia tomentosa*, uten noen merkbare endringer i dyrenes adferd (T. Baal et al., 1994). Svekkede humler under lindetrær har også blitt fôret med nektar fra det samme treet for så å ha kviknet til igjen. Dersom nektaren hadde vært giftig, på kort eller lang sikt, skulle dette ikke vært mulig (Surholt et al., 1992).

### 1.3.2 Predasjon

Humler på jakt etter pollen og nektar er ikke kjent for å ha mange predatorer. I tempererte regioner er edderkopper og fugler trolig de predatorene som oftest tar humler (Goulson & Brown, 2009). Det har blitt rapportert om observasjoner av at kjøttmeis *Parus major* spiser på hvilende dronninghumler tidlig om våren (Forster Johnson, 2002). Det virker som om at humlene må være litt døsig for at fuglene skal klare dette, ettersom de da blir enklere å fange (Goulson & Brown, 2009). Det er også tidligere blitt observert at kjøttmeis forsyner seg av humler som samler seg i lindetrær (Saunders & Saunders, 1907).

En studie av rundt 3500 humler funnet døde eller døende under lindetrær i Tyskland viste at 54% av disse hadde skader på kroppen, hvorav en tredjedel av disse hadde tapt giftbrodd. Fugl ble foreslått som årsak til de observerte skadene (Mühlen et al., 1992). En annen studie fant at 76.1 % av 10 984 døde bier hadde skader som indikerte predasjon. Samtidig ble det funnet en høy variasjon i antall skadde mellom sesongene og mellom ulike trær. Det ble tolket som at predatorer som oftest angriper allerede døende eller døde humler, og at predasjon bare var en sekundær faktor (Mühlen et al., 1994). Fossen et al. (2019) fant at de fleste humlene funnet døde under parkblind *Tilia x europaea* i Bergen ikke hadde skader som kunne indikere predasjon.

### 1.3.3 Naturlig død

Lindetrær har mange blomster og lokker derfor til seg store mengder nektarspisende insekter i forhold til mindre planter. Lind blomstrer seint i sesongen på en tid hvor ikke mange andre nektarproduserende trær blomstrer (VKM, 2017). Arbeiderhumler har generelt kort levetid. Avhengig av art lever hvert kull fra to til seks uker. Slutten på syklusen for mange kolonier kan ofte finne sted i juli og august (Goulson, 2009). En koloni kan inneholde flere hundre individer (Ødegaard et al., 2015b). Det faktum at lindetrærne representerer et samlingspunkt for matsankende humler, i tillegg til en forventet høy dødelighet i denne perioden vil kunne bidra til en opphopning av døde humler under trærne. Dersom trærne vokser over asfalt, vil humler som dør av alderdom under dem være mer synlige enn humler som dør naturlig under trær som vokser i mer vegeterte områder.

Dødeligheten hos humler øker med alder (Rodd et al., 1980; Silva-Matos et al., 2000). Det er blitt foreslått at slitasje av vinger og kropp, generell degradering, hos eldre humler er grunnen til at disse dør (Rodd et al., 1980). Mühlen et al. (1994) sorterte 4013 døde humler i fem ulike alderskategorier basert på deres vinge- og behåringsslitasje. Gamle humler utgjorde kun 6% av det totale antallet, veldig unge humler utgjorde 8.7%.

### 1.3.4 Sult

Humler trenger svært mye næring for å opprettholde et normalt aktivitetsnivå. Det er blitt foreslått at de er et av dyrene i verden med høyest metabolsk rate (Goulson & Osborne, 2010). Humler vil etter kort tid uten energitilførsel ikke lenger være i stand til å fly, ettersom flyging er svært energikrevende. Baal et al. (1994) fant at halvdøde humler funnet under lindetrær kviknet til igjen etter at de ble fôret med nektar fra samme tre. Dette kan tyde på at årsaken til den reduserte formen var næringsmangel.

En mulig konsekvens av at lindetrær blomstrer seint i sesongen kan være at humler opplever en økt konkurranse om den gjenværende nektaren i området. I en studie hvor ulike lindearter i samme område ble sammenliknet ble det funnet betydelig flere døde humler under sølv lind enn under de andre lindeartene. Dette var også den arten som blomstret senest (Baal et al., 1994). Surholt & Baal (1995) registrerte at arbeidere sluttet å komme tilbake til bolet med nektar samtidig som produksjonen av nektar fra et lindetre i nærheten begynte å avta i midten av blomstringsperioden. Merkede dyr fra den samme kolonien ble på dette tidspunktet funnet døde under lindetreet. Etter noen dager døde kolonien angivelig av sult.

En studie gjennomført av Illies & Mühlen (2007) viser at det ikke er noen sammenheng mellom nektartilgang i treet og humlers besøksfrekvens, hverken gjennom dagen eller gjennom blomstringssesongen. Dette står i motsetning til honningbier, som i høyere grad responderer på nektartilgang gjennom sesongen. Det er også observert betydelig flere døde humler under trærne sammenliknet med honningbier (Illies & Mühlen, 2007). Honningbier har evne til å kommunisere med andre medlemmer av kolonien om hvor gode næringskilder befinner seg (Von Frisch, 1967). Humler har ikke utviklet en slik form for kommunikasjon. Dermed kan de ikke i like stor grad unngå dårlige fôringsplasser og står derfor i større fare for å dø av sult imens de leter etter mat (Illies & Mühlen, 2007).

Det er gjort observasjoner av at humler dør under lindetrær selv i områder hvor den generelle nektartilgangen er stor (Koch & Stevenson, 2017; Zucchi, 1996). Det har blitt spekulert i om lindetrærne manipulerer pollinatorene til å komme til seg, selv når de har lite nektar (Koch & Stevenson et al., 2017). Alkaloidet koffein er kjent for å kunne gjøre dette (Couvillon et al., 2015). Naef et al. (2004) detekterte koffein samt flere andre alkaloider i sine nektarprøver fra vanlig lind. Mathon et al. (2014) påviste koffein i te laget av lindeblomster (*Tilia* sp). Fossen et al. (2019) fant imidlertid ikke koffein eller andre alkaloider i nektar fra parklind i sine analyser.



## 2. Metode

### 2.1 Studieområde

Totalt 24 parklind *Tilia x europaea* ved en parkeringsplass på Lerkendal, Trondheim, fungerte som studieområde. Området ble valgt grunnet nær plassering til NINA-huset, hvor flere forsøk ble gjennomført parallelt med datainnsamlingen. I 2017 ble det foretatt en pilotstudie på samme plass. Lokaliteten var også gunstig med tanke på at trærne her hadde et relativt stort dekningsområde over asfalt (35%) i forhold til vegetasjon (Aalberg Haugen et al., 2018). Figur 2 viser deler av studieområdet på Lerkendal.



Figur 2: Deler av studieområdet på Lerkendal (Foto: Jan Ove Gjershaug).

### 2.2 Datainnsamling i felt

Studieområdet ble besøkt fire ganger om dagen i perioden 12. juli til 27. juli, da lindetrærne på lokaliteten blomstret, i 2018. Tabell 1 viser i hvilke tidsrom besøkene fant sted. Ved hvert besøk ble det gjort observasjoner ved hvert individuelle tre. Antall levende humler observert i trekronen i løpet av ett minutt ble telt og registrert. Døde humler funnet på det asfalterte området under trærne, ble tatt med til NINAs insektlaboratorium, hvor de ble lagt i frys før videre analyse ble gjennomført (se predasjon-, alders-, og sultanalyse). Temperatur ble registrert ved hvert besøk.

Tabell 1: Oversikt over når studieområdet ble besøkt i løpet av dagen.

Besøk nummer	Tidsrom	Generell henvisning til besøkstidspunkt
I	8.00–9.30	Morgen
II	11.00–14.00	Formiddag
III	16.00–17.00	Ettermiddag
IV	21.00–23.00	Kveld

### 2.3 Arts og katebestemmelse

Art ble bestemt med utgangspunkt i diagnostiske karakterer som fargemønster og behåring. Disse er beskrevet i Ødegaard et al. (2015b). Fordi det kan være krevende å

skille de ulike jordhumleartene fra hverandre (Carolan et al., 2012) ble disse behandlet som en gruppe.

Kaste ble bestemt basert på karakteristika beskrevet i Ødegaard et al. (2015b). Tilstedeværelse av pollenkrav (corbicula), brodd og hannlige genitalia indikerte humlens kjønn. Dyrets størrelse ble brukt for å skille mellom arbeider og dronning.

## 2.4 Laboratorieanalyser og eksperimentelt design

På NINAs insektlaboratorium ble humlene fra studieområdet bestemt til art og kaste. De ble også sortert til ulike alderskategorier (se aldersbestemmelse 2.4.3), og skader på kropp ble registrert (se predasjonsanalyse 2.4.2). Et tilfeldig utvalg av humlene ble tørket, målt og veid før de ble sammenliknet med kontrollgrupper (se sultanalyse 2.4.4).

Et bol med oppdrettede mørke jordhumler *Bombus terrestris* (fra BOMBUS AS) ble benyttet til fôringsforsøk (2.4.1), og som kontrollgrupper i sultanalyse (2.4.4). Bolet ble oppbevart på NINAs insektlaboratorium ved temperatur 20°C, og lysforhold tilsvarende naturlig daglengde. Bolet var satt i et telt med volum 75cm x 75cm x 115cm, og humlene hadde kontinuerlig tilgang på sukkervann (Figur 3). Alle humler brukt i eksperimenter beskrevet i denne oppgaven er tatt ut mens de summer ute i teltet, ikke direkte fra bolet. For videre utdyping av eksperimentene se fôringsforsøk- og sultanalyse (2.4.1 og 2.4.4).



Figur 3: Telt med oppdrettsbol. Bildet viser også skål med sukkervann (til venstre), og hån som ble benyttet da humlene skulle tas ut (Foto: Inger M. Aalberg. Haugen).

### 2.4.1 Fôringsforsøk

For å undersøke hvordan humler reagerte på lindenektar ble det gjort et fôringsforsøk der insektene utelukkende ble gitt lindenektar som næringskilde.

Humler fra oppdrettsbol ( $n = 10$ ) ble satt to og to i telt med et volum på 75x75x115 cm. Humlene hadde først et opphold i teltet på minst to timer uten tilgang på næring eller vann. Dette var for at dyrene skulle bli sultne, og motivert til å spise nektar da det ble introdusert. Grener med blomstrende parklind *Tilia x europaea* blomster ble satt i teltet, og humlene ble videre oppbevart der i minst 10,5 timer. Etter dette ble dyrenes fysiske form vurdert til god, nedsatt eller død ved observasjon.

For å sikre at blomstene som ble introdusert til oppdrettshumlene ikke var tømt for nektar av andre insekter, ble et finmasket nett tredd over grenene minst 24 timer før de ble klippet av treet. Det ble observert flere døde humler under parklinden som grenene var hentet fra.

### 2.4.2 Predasjonsanalyse

For å kartlegge omfanget av mulig predasjon ble alle døde humler fra studieområdet analysert for skader og hull på bakkropp. I tillegg ble det notert om dyrene manglet hode.

### 2.4.3 Aldersbestemmelse

Humlene som var funnet i studieområdet ble kategorisert til fem alderskategorier basert på vurdering av tilstand til vinger og behåring. Dette var basert på samme kriterier som brukt i Mühlen et al. (1994). Vingeslitasje ble vurdert til tre tilstander; ikke slitt (1), frynset (2) og svært slitt (3). På samme måte ble behåring vurdert til ikke slitt (1), litt slitt (2) og svært slitt (3). Tabell 2 viser hvordan de fem alderskategoriene (A-E), blir utledet fra de tre slitasjenivåene på de to karakterene. Alderskategori A indikerer et svært ungt individ, mens alderskategori E indikerer et svært gammelt individ.

Tabell 2: Kategorisering av alder (A-E) basert på vinge- og behåringsslitasje, hvor 1 er ingen slitasje og 3 er sterk slitasje.

		Vingeslitasje		
		1	2	3
Behåringsslitasje	1	A	B	C
	2	B	C	D
	3	C	D	E

Flere av de døde ville humlene hadde så store skader på forkroppen, at det ikke var mulig å eksakt bestemme behåringsslitasje ( $n = 192$ ). Blant disse hadde de fleste skader som utspist kropp mens noen få var skadet som følge av at de var tråkket på eller kjørt over. For svært skadde dyr ble kun vingeslitasje estimert, og individene ble holdt utenfor den generelle aldersanalysen.

Noen dyr var såpass skadet at det var umulig å estimere både behåringsslitasje og vingeslitasje ( $n = 10$ ). Disse ble helt utelatt fra aldersanalysen.

### 2.4.4 Sultanalyse

Honningmagen utgjør en stor del av humlens kropp og kan fylles med nektar slik at vekten øker med opptil 90% (Henrich, 2004). Det at nektaren kan utgjøre en så stor del av humlens vekt gjør det mulig å estimere hvor mye energi humler har tilgjengelig i det de dør. Ved å sammenlikne vekten av ville humler med ukjent dødsårsak med vekten av

oppdretts humler med kjent dødsårsak (som sult og momentan død), kan man få mer kunnskap om de ville humlenes energinivå da de døde.

Blant de døde humlene funnet i studieområdet ble et tilfeldig utvalg av dyr, som ble klassifisert som jordhumler og som i tillegg ikke hadde skader på kroppen, benyttet videre i sultanalysen ( $n = 95$ ).

Det ble laget to kontrollgrupper av humler fra oppdrettsbol. Den ene gruppen bestod av humler som var sultet til døde ( $n = 34$ ). Den andre kontrollgruppen bestod av humler som var tatt direkte fra teltet med bolet i og avlivet i fryser ( $n = 49$ ).

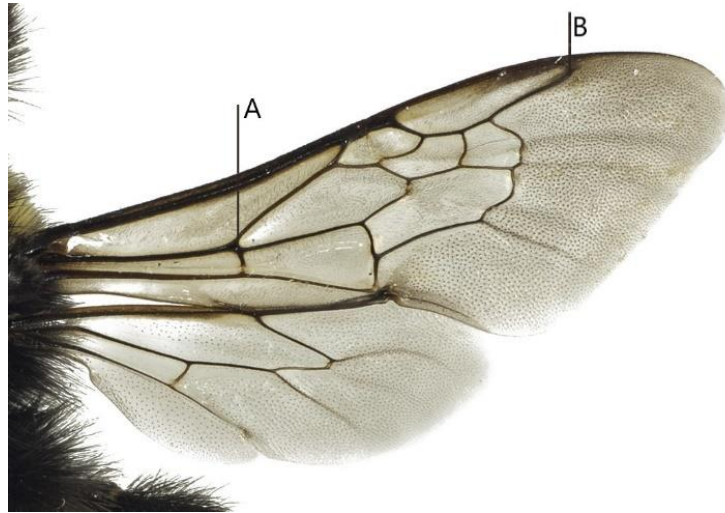
Det er vist at ulike humlearter har signifikant ulik form på vingene, og man kan dermed anta at også den relative avstanden mellom ulike punkter på vingene er forskjellig fra art til art (Aytekin et al., 2007). Kun jordhumler ble derfor brukt i denne analysen.

#### *Mål og vekt*

Humler mister mye vekt de første timene etter at de har dødd (Richards, 1946). Dette som følge av uttørking. Fordi det var knyttet usikkerhet rundt hvor lenge hver enkelt humle hadde ligget død før innssamling, og fordi innstråling fra solen varierte i felt, ble det bestemt å benytte tørrvekten til humlene i analysen. Alle humler ble tørket i varmeskap i 50°C i minst 40 timer. Denne tiden ble bestemt etter å ha utført en pilotstudie hvor fire humler ble tørket i varmeskap og veid ved jevne mellomrom for å finne ut når vekten stabiliserte seg på en nedre grense. Eventuelle pollensekker ble fjernet fra humlen før tørking. Etter tørking ble dyrenes vekt målt på mikrovækt (Metler toledo, AG285) med presisjonsnivå på 0.1mg.

Vingelengde korrelerer med tørrvekt (Schiestl & Barrows, 1999) og er derfor benyttet som et mål for størrelse i denne oppgaven. Dette er også blitt gjort i andre studier (Cumber, 1949; Richards, 1946). Richards (1946) og Cumber (1949) målte vingelengde fra innerst på vingen (tegula) til ytterst. I denne studien ble det vurdert som mer nøyaktig å måle avstanden mellom to celler i vingene da innerste del av vingen ofte blir ødelagt når vingen fjernes fra kroppen. Ytterste del av vingen er også ofte skadet. Målingen ble gjort fra punkt A, innerst på første medialcelle, til punkt B ytterst på marginalcellen i en av fremvingene til dyret (Figur 4). Avstanden mellom disse punktene blir senere referert til som vingelengde. Vingelengden ble målt med presisjonsnivå på 0.1mm ved hjelp av et måleokkular i stereolupe (Leica M205 C). Det er også mulig å bruke thoraxbredde som et mål for humlestørrelse (Del Castillo & Fairbairn, 2012; Goulson et al., 2002). Flere personer var involvert i som gjennomføring av målingene i denne studien. Estimering av vingelengde fremfor thoraxbredde ble valgt fordi denne målingen var enklere å standardisere.





Figur 4: Frem- og bakvinge av humle. I denne studien blir vingelengde definert som avstanden mellom punkt A og B på fremvingen (Foto: Arnestein Staverløkk).

## 2.5 Statistisk analyse

Alle statistiske analyser ble gjennomført i R versjon 3.5.1 (R Core Team, 2018). Plott ble laget ved hjelp av pakken ggplot2 (Wickham, 2016).

### 2.5.1 Predasjon

For å undersøke hvilke variabler som best forklarte funn av spiste humler ble generalisert lineær modell (GLM) med binomisk fordeling og logit funksjon benyttet. GLM ble benyttet fordi responsvariablen spist/ikke spist har en binomisk fordeling. Denne antar at hver humle har lik sannsynlighet for å bli spist. Modellen med lavest Akaike informasjons kriterie (AIC) ble vurdert til å være den mest forklarende modellen (Zuur et al., 2009). Om AIC-verdier mellom modeller hadde en forskjell på mindre enn 2 ( $\Delta AIC < 2$ ), ble den enkleste modellen valgt. Prediktorvarabler som ble inkludert var tid på dagen (kategorisk, 4 nivå), dag i sesongen (kategorisk, 16 nivå) og kaste (kategorisk, 2 nivå). Fordi de første dagene i sesongen var preget av lite data, ble den siste dagen i sesongen satt til å være referansedag. Dette for å sikre bedre sammenlikningsgrunnlag mellom dagene. Fordi blomstringssesongen til parklind *Tilia x europaea* ikke starter på samme dato hvert år, ble dag i sesongen benyttet som variabel fremfor den konkrete datoen for denne sommeren. Det antas at blomstringens relative tidsforløp har større betydning enn blomstringens nøyaktige dato. Sesongen starter på dag null som i 2018 tilsvarte 12. juli, og slutter på dag 15, tilsvarende 27. juli.

Jordhumler er en svært dominerende artsgruppe i denne studien. Derfor ble ikke art inkludert som variabel i modellene. I tillegg ble humlene som tilhørte dronningkaste ( $n = 4$ ) fjernet fra datasettet før analysen, da det lave antallet var antatt å kun introdusere støy til modellene. Humler med uidentifisert kaste ( $n = 15$ ) ble også fjernet før testing av modellene.

### 2.5.2 Alder

For å teste om aldersfordelingen blant de døde uskadde humlene endret seg gjennom sesongen ble de fem alderskategoriene delt i to nye grupper. Gamle dyr ble definert som humler tilhørende alderskategori D og E. Ikke-gamle dyr ble definert som humler tilhørende alderskategori A, B og C. Sesongen ble delt inn i tre perioder, start (dag 0–5) midten (dag 6–10) og slutt (dag 11–15). En to-utvalgstest for likhet mellom binomiske andeler ble gjennomført for å se om andel gamle var forskjellig i de ulike delene av sesongen.

For å sammenlikne vingeslitasjen mellom humler uten kategoriserbar behåringsslitasje, og humler med kategoriserbar behåringsslitasje ble uparet t-test (Løvås, 2018) benyttet.

### 2.5.3 Sult

For å kunne sammenlikne vekten til humler fra studieområdet med kontrollgruppene fra oppdrettsbol, ble dyrenes størrelse korrigeret for. Vingelengde ble brukt som et estimat for dyrets størrelse. For å ta hensyn til at vekt øker i tre dimensjoner, og vingestørrelse øker i to dimensjoner ble dataene transformert til å gjelde  $vekt^{1/3}$  og  $vingelengde^{1/2}$ . Det ble antatt et lineært forhold mellom disse (Likning I).

$$vekt^{1/3} = \beta_0 + \beta_1 vingelengde^{1/2} \quad \text{Likning I}$$

Her er  $\beta_0$  skjæringspunktet på y-aksen og  $\beta_1$  effektstørrelsen.

Det er ikke tatt hensyn til ulik fordeling av kaste i de tre gruppene. Dette fordi de ikke-sultede oppdrettshumlenes kaste ikke ble registrert. Det var relativt flere hanner i den sultede referansegruppen enn i gruppen med ville humler. Hanner hos mørk jordhumle er større enn arbeidere av samme art (Del Castillo & Fairbairn, 2012). Analysen antar at dyrene responderer på samme måte med hensyn til vektøkning og størrelse uavhengig av kaste.

For å teste om gruppe (sultet, mett og felt) hadde effekt på vekten av humlene ble det kjørt en analyse av kovarians (ANCOVA) (Sokal & Rohlf, 1995) hvor humlenes størrelse (vingelengde) ble korrigeret for. Interaksjonen mellom størrelse og gruppe hadde ikke en signifikant effekt og ble derfor utelatt fra videre analyser.

En lineær modell (LM) for  $vekt^{1/3}$  som funksjon av  $vingelengde^{1/2}$  og gruppe ble kjørt for å estimere hvor stor forskjellene mellom gruppene var. For å illustrere effekten vingelengde hadde for hver gruppe ble det for hver av dem separat kjørt en lineær modell. Effektstørrelsen av de ulike parameterne beregnet i de to ulike modelltilnærmingene var ikke signifikant forskjellig. Derfor visualiseres effekten av hver gruppe med en egen effektstørrelse (Figur 9), samtidig som det i Tabell 6 kun presenteres en effektstørrelse for  $vingelengde^{1/2}$ .

### 2.5.4 Forklaringsvariabler for variasjon av antall døde

Modelltesting ble også gjennomført for å undersøke hvilke variabler som best beskriver variasjon av antall døde ville humler. Dag i sesongen (kategorisk, 16 nivå), tid på dagen (kategorisk, 4 nivå) og antall levende ville humler (kontinuerlig) ble inkludert som variabler.

I modelltestingen ble det laget to scenarioer basert på to ekstremer med tanke på predasjon. Scenario 1 antar at dødsårsaken til alle humler i like stor grad kan knyttes opp mot antall levende insekt. Dermed at dyr som var blitt spist på, først var redusert av andre faktorer, og dermed at den proksimate dødsårsaken til disse aldri var predasjon. Scenario 2 antar at dødsårsaken til humlene i ulik grad skyltes antall levende insekt. Humler som var funnet spist på var predatert, hvorav deres dødsårsak ikke har sammenheng med antall levende dyr. Predators adferd er uavhengig av mengden humler i treet. Humlene med tegn etter predasjon er dermed ekskludert fra analysen

GLM ble benyttet fremfor lineær modell (LM) fordi plott av residualer mot tilpassede verdier fra LM indikerte heteroskedastisitet, altså et ikke-lineært forhold mellom varians og gjennomsnitt (Zuur et al., 2009). I tillegg kunne ikke transformasjon av dataene gjøres på en tilfredsstillende måte.

Selv om dataene baserer seg på tellinger viste beregninger en overspredning ved bruk av Poisson fordeling, derfor ble GLM med negativ binomisk fordeling benyttet. Pakken MASS i R ble brukt for å kjøre modellene (Venables & Ripley, 2002). Som i seksjon 2.5.1 ble modellen med lavest AIC benyttet. Om AIC-verdier mellom modeller hadde en forskjell på mindre enn 2 ( $\Delta AIC < 2$ ), ble den enkleste modellen brukt.

For å finne ut hvor mye av variasjonen i dataene den beste modellen beskriver ble *pseudo R* for GLM beregnet ut fra likning II (Zuur et al., 2009):

$$100\% \times \frac{(\text{Nullavvik} - \text{Residualavvik})}{\text{Nullavvik}} \quad \text{Likning II}$$

Uavhengig t-test ble benyttet for å se om de ulike tidspunktene på dagen skilte seg fra hverandre med hensyn på antall døde i scenario 1.



### 3. Resultat

#### 3.1 Gifthyposen

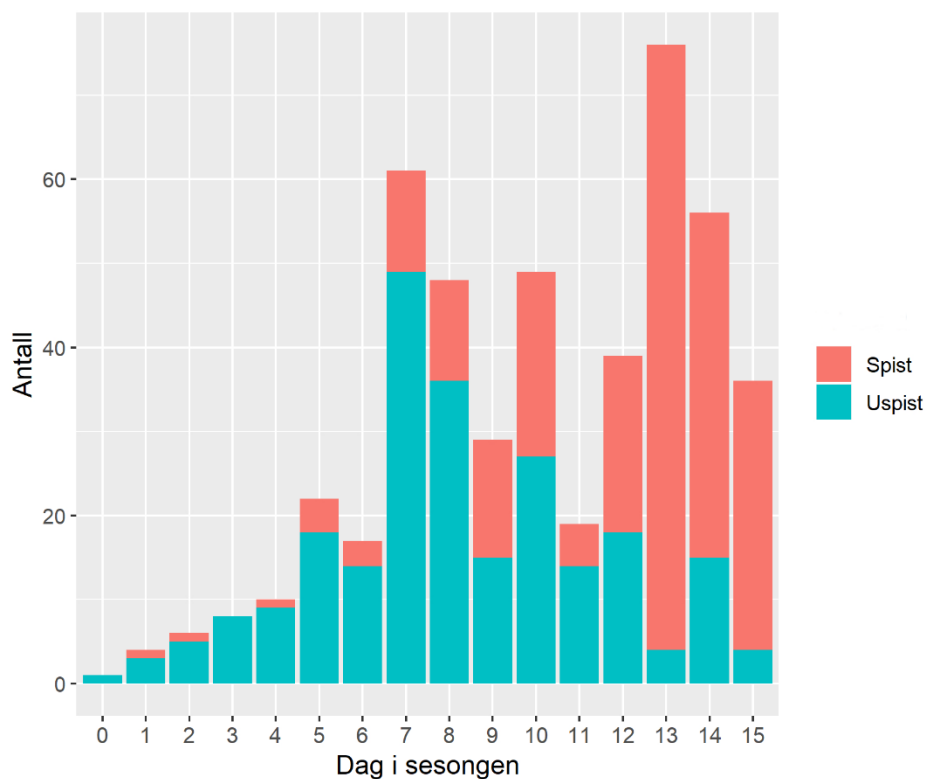
Det ble observert at oppdrettshumlene spiste nektar av lindeblomstene som ble introdusert. Alle ( $n = 10$ ) var i god form etter behandlingen.

#### 3.2 Predasjon

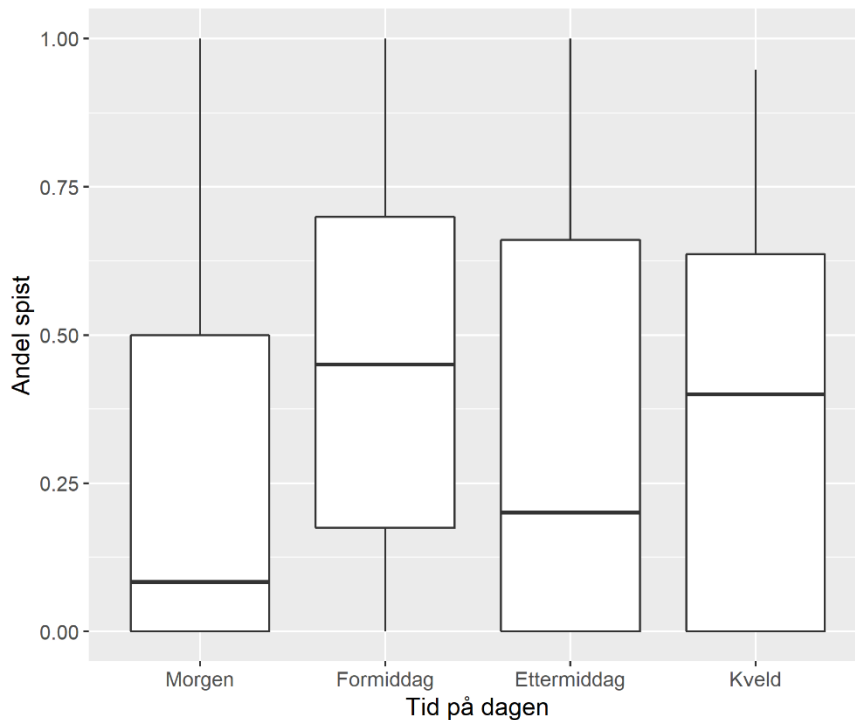
Av alle de innsamlede humlene ( $n = 500$ ) hadde 51% skader på bakkropp. Til sammen 82% av de skadde humlene hadde også skader i forkroppen eller manglet hode helt. Totalt 72% av hannene og 49% av arbeiderne hadde skader. Tabell 3 viser kastefordeling og antall skadde blant de ville humlene. Tid på dagen og dag i sesongen er de variablene som best forklarer funnene av skadde dyr (Tabell 7 i Vedlegg A).

Tabell 3: Kastefordeling og antall skadde blant disse hos ville humler.

Kaste	Totalt antall	Antall skadet
Arbeider	456	223
Hann	25	18
Dronning	4	1
Uidentifiserbar	15	3
Total	500	255



Figur 5: Antall døde humler funnet under lindetræerne gjennom sesongen. Fordeling av funntilstand er også markert: Spist (rød) og uspist (blå).



Figur 6: Andel spiste humler gjennom dagen.

Dag i sesongen har betydning for andel spiste. Det er signifikant en mindre andel humler som er spist på i begynnelsen og midten av sesongen enn helt mot slutten ( $p < 0.05$ , Tabell 8 i Vedlegg B, GLM). Dag 0 og dag tre er et unntak fra dette, på disse dagene er standardfeilen også beregnet til å være relativt høy. Figur 5 viser hvordan antall spiste humler øker i takt med antall døde humler utover i sesongen. Det er i tillegg en signifikant større andel som blir spist på formiddagen og om kvelden enn om morgenen ( $p < 0.05$ , Tabell 8 i Vedlegg B, GLM). Figur 6 viser at andelen spiste humler generelt er størst på formiddag og kveld, men at variasjonen er stor for alle tidspunkt.

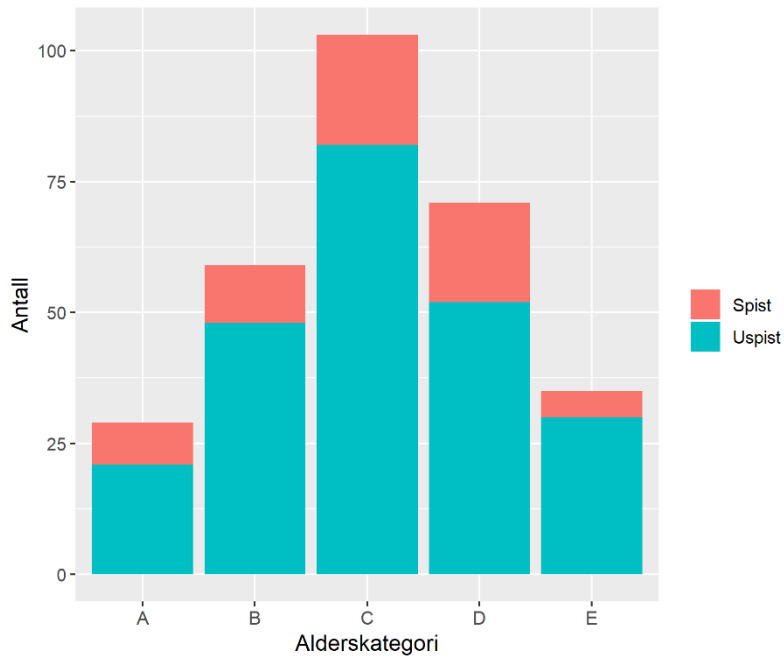
Modellutvelgelsen (Tabell 7 i Vedlegg A) viser at det basert på tilgjengelig data ikke er grunnlag for å si at kaste har betydning for om humlen blir spist eller ikke. Samtidig viser dataene at det var flere hanner enn arbeidere som ble spist (Tabell 3).

### 3.3 Naturlig død- Aldersanalyse

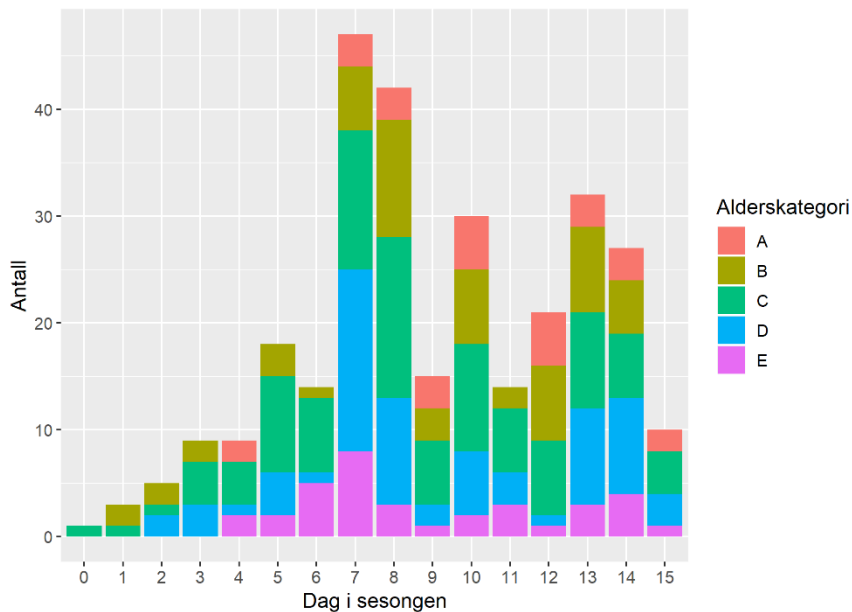
Aldersanalysen er delt inn i to deler. Den første baserer seg på fordeling av humlene som kunne alderskategoriseres på bakgrunn av vinge- og behåringsslitasje, samt endringen av aldersfordeling over tid. Den andre sammenlikner vingeslitasjen til de alderskategoriserte og de ukategoriserte dyrene, siden vingeslitasje kunne vurderes for nesten alle de ville humlene. Resultatene i del to koples senere opp mot predasjon.

#### 3.3.1 Aldersfordeling blant uskadde humler

Figur 7 Viser aldersfordelingen blant de ville humlene som var mulig å aldersbestemme. I alt ble 24% av dyrene kategorisert som gamle, mens 12% som svært gamle og 10% som svært unge.



Figur 7: Aldersfordeling blant aldersbestemte døde humler (n = 297) fra studieområdet. Humler tilhørende alderskategori A er yngst, E er eldst. Aldersfordelingen er som følger: A = 10%, B = 20%, C = 35%, D = 24% og E = 12%. Antall humler som er funnet spist på i hver alderskategori er markert i rødt.



Figur 8: Aldersfordeling av døde humler gjennom sesongen. Humler tilhørende alderskategori D og E er definert som gamle. Humler tilhørende alderskategori A er yngst.

De fem alderskategoriene ble igjen delt inn i to, gamle dyr er definert som alderskategori D og E, mens A, B og C representerer ikke-gamle dyr. Verken starten, midten eller slutten av sesongen skiller seg fra hverandre signifikant med hensyn på andel gamle dyr funnet ( $p > 0.05$ , binomisk andelstest). Figur 8 viser hvordan fordelingen av de ulike alderskategoriene er gjennom sesongen.

### 3.3.2 Aldersfordeling blant skadde humler

Av alle de innsamlede ville humlene var 41% så skadet at det ikke lot seg gjøre å bestemme alder ved hjelp av behåring og vingeslitasje. De fleste av disse var det likevel mulig å vurdere vingeslitasje på.

For å kunne sammenlikne de kategoriserte og de ukategoriserte humlene ble det bare sett på vingeslitasje. Gruppene skiller seg signifikant fra hverandre ( $p < 0.05$ ,  $df = 405$ , t-test). Det er flere med svært slitte vinger blant de skadde enn hos de uskadde ville humlene (Tabell 4).

Tabell 4: Prosentvis fordeling av vingeslitasje hos skadde og uskadde ville humler.

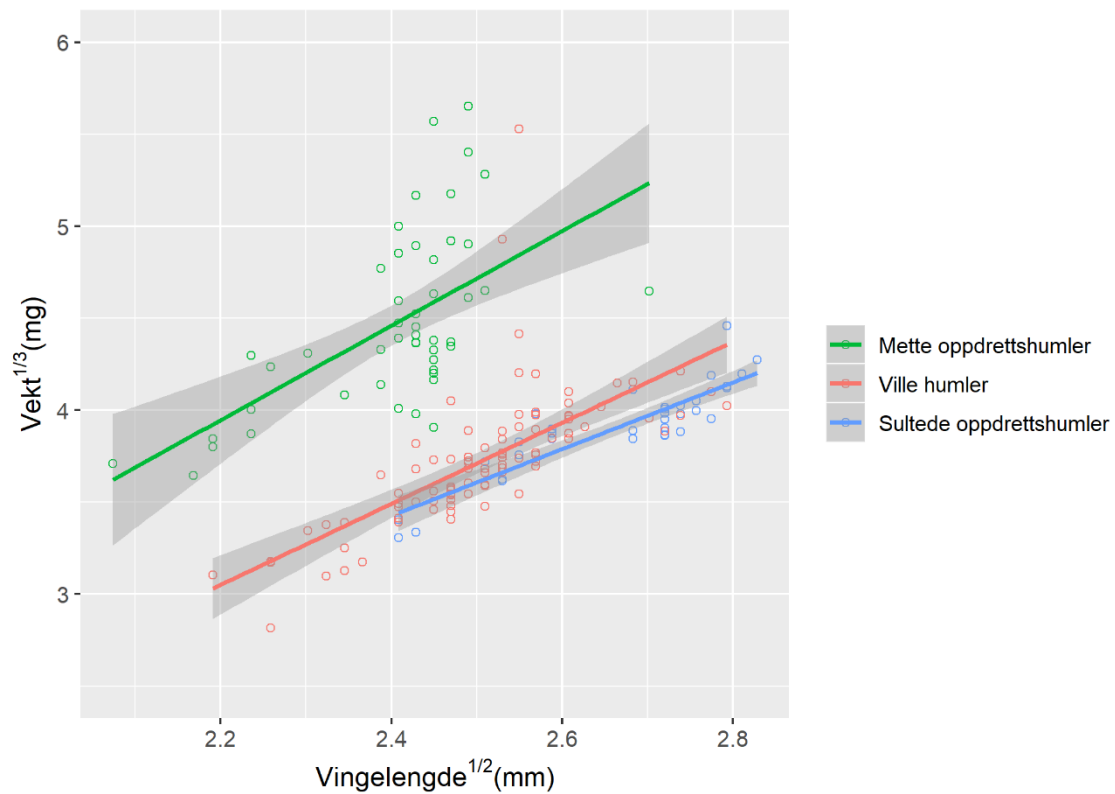
Vingeslitasje	Skadd ( $n = 192$ )	Uskadd ( $n = 297$ )
Ikke slitt	21%	26%
Frynset	40%	45%
Svært slitt	39%	29%

### 3.4 Sult

For å undersøke hvilken effekt sult har på humlenes vekt ble  $vekten^{1/3}$  til mette og sultede oppdrettshumler, samt  $vekten^{1/3}$  til ville humler plottet mot dyrenes  $vingelengde^{1/2}$ , hvor  $vingelengde^{1/2}$  fungerte som et mål på størrelse (Figur 9). Både vingelengde og hvilken testgruppe humlene tilhører har effekt på vekten deres ( $p < 0.05$ , ANCOVA). Begge gruppene av oppdrettshumler (mett og sultet) skiller seg signifikant fra de ville humlene når størrelse er korrigert for ( $p < 0.05$ , Tabell 6, LM). Figur 9 illustrerer at vekten til mange av de døde humlene ligger nært de sultede oppdrettshumlenes vekt. Ved noen størrelser kan de to gruppene ikke behandles som ulike, da det er overlapp mellom konfidensintervallene. De ville humlene med høyest  $vekt^{1/3}/vingelengde^{1/2}$  ratio, altså de som ligger lengst fra den estimerte trendlinjen for denne gruppen, tilhører alderskategori B ( $n = 2$ ), og C ( $n = 4$ ).

I gruppen med sultede oppdrettshumler er det meste av variasjonen i vekt forklart av dyrets størrelse. I den mette referansegruppen og dyrene fra felt er det i større grad andre faktorer som forklarer variasjonen (Tabell 5).





Figur 9: Humlenes vekt<sup>1/3</sup> som funksjon av vingelengde<sup>1/2</sup>. Heltrukken linje er estimert ved lineær regresjon, mørkegrå markering representerer estimatet med 95% konfidensintervall. Tre ulike grupper er presentert; sultede oppdrettshumler (blå), mette oppdrettshumler (grønn) og ville døde humler fra studieområdet (rød).

Tabell 5: R<sup>2</sup> og antall frihetsgrader (df) for lineær modell av vekt<sup>1/3</sup> som funksjon av vingelengde<sup>1/2</sup>. R<sup>2</sup> beskriver hvor stor andel av dataen som er forklart av modellen.

Gruppe	R <sup>2</sup>	df
Ville humler	0.46	91
Sultede oppdrettshumler	0.78	32
Mette oppdrettshumler	0.35	48

Tabell 6: Estimerte regresjonsparametere ( $\beta$ ), standardfeil, t-verdi og p-verdi for lineær modell hvor humlenes vekt<sup>1/3</sup> er responsvariabel, vingelengde<sup>1/2</sup> og gruppe er prediktorvariabel. Skjæringspunkt inkluderer humler fra studieområdet.

Forklaringsvariabel	Estimat ( $\beta$ )	Standardfeil (SE)	t-verdi	p-verdi
Skjæringspunkt	-1.82	±0.48	-3.75	<0.001
Vingelengde <sup>1/2</sup>	2.21	±0.19	11.47	<0.001
Mette oppdrettshumler	0.97	±0.05	17.95	<0.001
Sultede oppdrettshumler	-0.17	±0.07	-2.603	<0.05

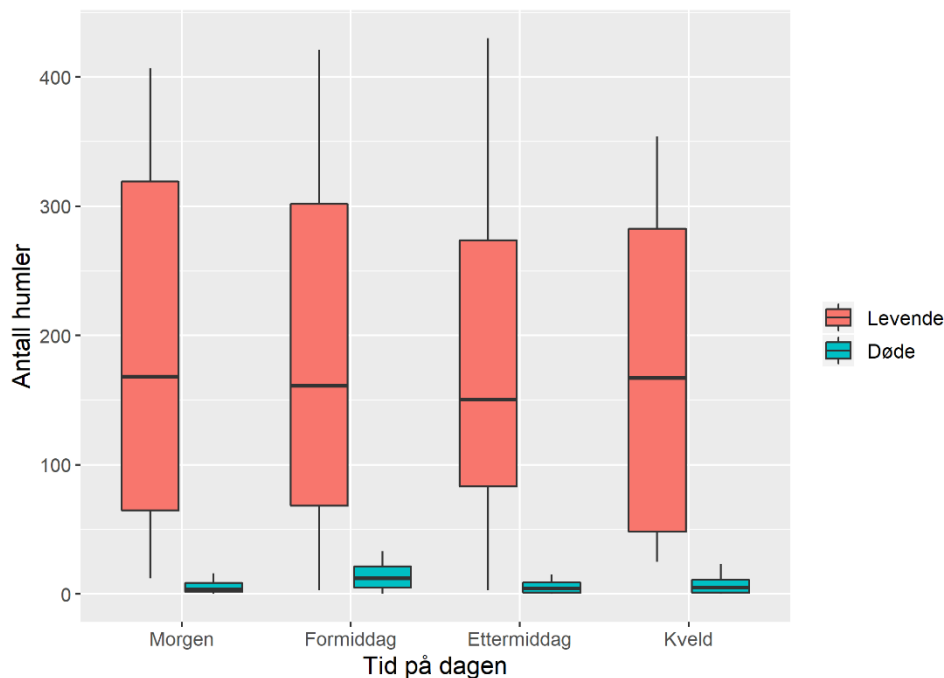
### 3.5 Temporær variasjon og sammenheng mellom antall døde og levende humler

For å få mer kunnskap om hvilke faktorer som påvirker variasjonen av antall døde humler ble to ulike utvalg utsatt for samme modelltesting. I det første utvalget ble alle døde humler inkludert i modellen (scenario 1). Det antas dermed at alle døde humler i like stor grad har vært påvirket av mengderelaterte faktorer, hvor antall aktive humler i treet er et mål på dette. I det andre utvalget ekskluderes humler som er funnet spist på (scenario 2). Det antas at dødsfallene til disse ikke kan knyttes opp mot antall aktive humler i treet. Ved å kjøre modelltestingen på to utvalg kan man få mer innblikk i sammenhengen mellom de ulike faktorene som predasjon og sult.

*Scenario 1: Dødsfallene til humlene kan i like stor grad knyttes opp mot mengderelaterte faktorer*

Når man antar at dødsårsaken til alle humler i like stor grad kan knyttes opp mot samme parametere viser modelltesting at dag i sesongen og tid på dagen best forklarer variasjonen av antall døde humler (Tabell 9 i Vedlegg C, GLM binomisk fordeling). Disse variablene beskriver 76% av variasjonen som blir observert (Vedlegg G). Ut fra modellutvelgelsen finnes det ikke grunnlag for å si at antall levende humler i treet har betydning for hvor mange humler som dør (Tabell 9 i Vedlegg C, Figur 13 a i Vedlegg F).

Det er signifikant flere humler som dør på formiddagen enn om morgenen ( $p < 0.05$ , Tabell 11 i Vedlegg D, Figur 10, GLM). Det er også signifikant forskjell på formiddag og morgen, og formiddag og ettermiddag, med hensyn på antall døde humler ( $p < 0.05$ , t-test). Mellom de andre tidspunktene på dagen er det ikke signifikante forskjeller (t-test).



Figur 10: Antall humler registrert for hvert besøksstidspunkt for dagen. Røde bokser er levende humler observert oppe i trærne. Grønne er døde humler funnet under trærne.

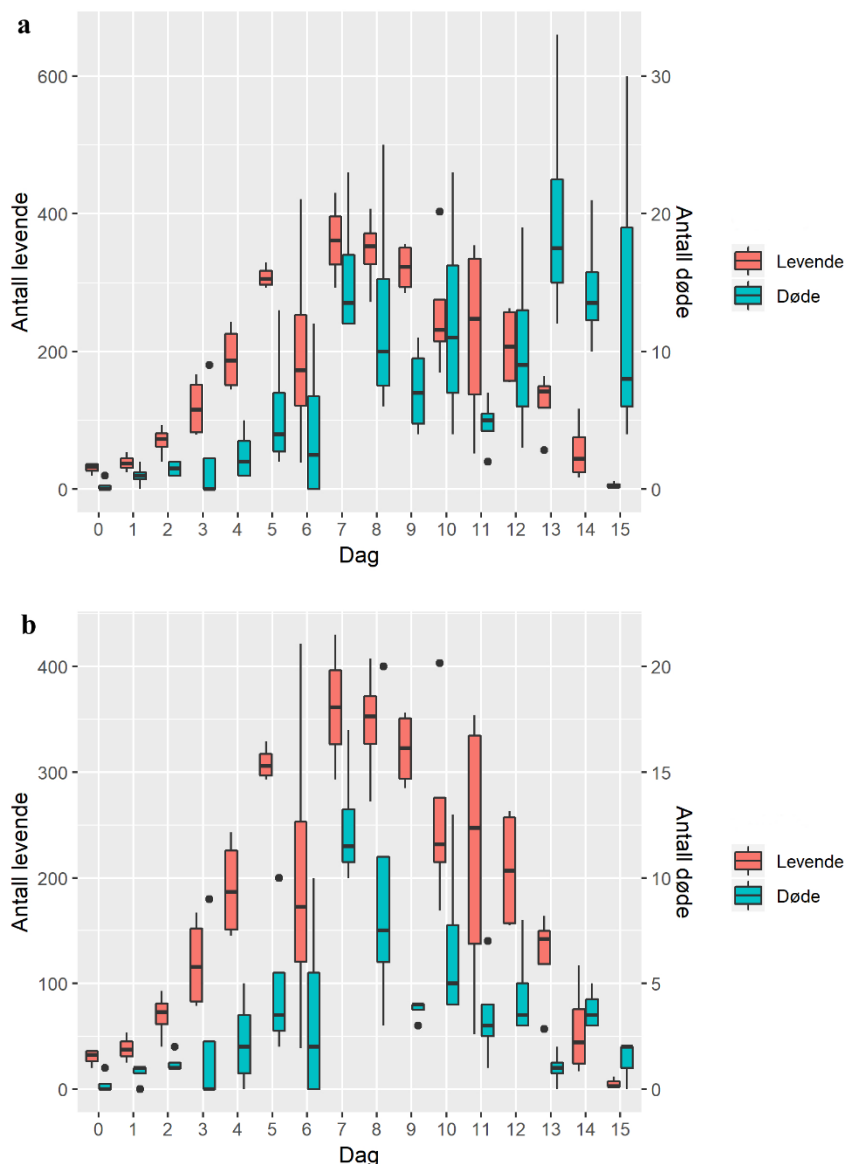
*Scenario 2: Dødsfallene til humlene kan ikke i like stor grad knyttes opp mot mengderelaterte faktorer*

Når man tar utgangspunkt i at spiste humler utelukkende har dødd av predasjon, og at dødsårsakene til disse ikke kan knyttes opp mot nektartilgang, konkurranse eller andre mengderelaterte faktorer, kommer andre sammenhenger til syne. Modelltesting viser at

antall levende humler best forklarer variasjonen av antall døde (Tabell 9 i Vedlegg C, Figur 13 i Vedlegg F, GLM). Denne variabelen beskriver 59% av den observerte variasjonen (Vedlegg G).

*Temporær variasjon for scenario 1 og 2*

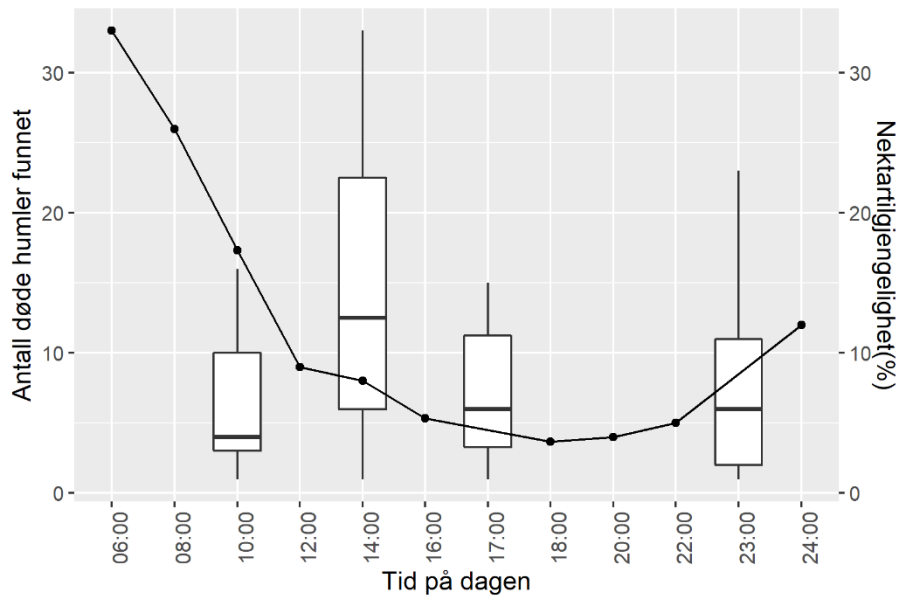
Figur 11 viser hvordan antall humler observert oppe i lindetrærne og antall døde under varierer gjennom blomstringssesongen. For scenario 1 har dag i sesongen mye å si og det er signifikant færre humler som dør tidlig i sesongen, sammenliknet med den siste dagen i sesongen ( $p < 0.05$ , Tabell 7 i Vedlegg C, GLM). For begge scenarioene, med unntak av de siste dagene, er det registrert svært mange flere levende humler oppe i trærne enn døde under gjennom sesongen. Den siste dagen i sesongen ble det telt flere døde enn levende humler.



Figur 11: Antall døde (grønn) og levende (rød) humler funnet under og i lindetrærne gjennom sesongen. Alle døde humler er inkludert i a (scenario 1), humler som er spist på er ekskludert fra b (scenario 2).

*Variasjon av antall døde gjennom døgnet og antatt nektartilgjengelighet*

Figur 12 viser antall døde humler funnet gjennom dagen og teoretisk nektartilgjengelighet (%) i trærne på alle tidspunkt. Alle døde humler er inkludert. Antatt nektartilgjengelighet er basert på Illies & Mühlen (2007) og Corbet & Prÿs-Jones (1979).



Figur 12: Antatt nektarproduksjon for lind gjennom dagen. Nektartilgjengelighet (%) fra kl. 06:00 til 18:00 er snittet av nektartilgjengeligheten i to storlind *Tilia platyphyllos* og en vanlig lind *Tilia cordata* målt av Illies & Mühlen (2007). Nektartilgjengelighet fra kl. 20:00 til 24:00 er basert på Corbet & Prÿs-Jones (1979) funn som indikerer at produksjonen av nektar tar seg opp igjen utover kvelden. Antall døde humler gjennom dagen er basert på tellinger på de ulike besøkstidspunktene vist i Tabell 1. Klokkeslett for besøk er rundet opp til siste time.

## 4 Diskusjon

Resultatene i denne oppgaven er sammensatte og komplekse. Etter at ulike aspekter ved metodene brukt i denne studien er diskutert vil gifthypotesen, predasjonshypotesen, aldershypotesen og sulthypotesen bli drøftet hver for seg. Deretter vil det bli sett på hvordan kombinasjonen av flere forklaringsvariabler kan påvirke antall døde humler, og kunnskap rundt nektartilgjengelighet vil bli drøftet. Mot slutten av diskusjonen vil alternative hypoteser bli presentert og satt i sammenheng med funnene gjort i denne studien.

### 4.1 Materialer og metode

#### 4.1.1 Aldersbestemmelse av insekt

Når et insekts alder estimeres i felt er det nesten alltid snakk om insektets fysiologiske alder som bestemmes, hvorav denne avhenger av dyrets kroppslige slitasje. Dette estimatet står i kontrast til insektets kronologiske alder, som gjerne defineres som tid siden kjønnsmodent stadium er nådd (Hayes & Wall, 1999; Lehane, 1985). Vingeslitasjen hos insekter øker med alderen, samtidig er det flere andre faktorer som spiller inn på slitasjenivået. Blant disse er for eksempel predasjon, værforhold, adferd og vegetasjonstype insektet oppholder seg i (Allsopp, 1985; Burkhard et al., 2002; Foster & Cartar, 2011). Det tenkes dermed at denne økte slitasjen bidrar til å redusere dyrets evne til å unngå predatorer og sanke mat effektivt. Det finnes flere ulike former for vingeslitasje og skader, manglende områder og dype rifter er ofte et tegn på predasjon eller predasjonsforsøk (Burkhard et al., 2002). Det er vist at vingeslitasje er en proksimat faktor for økt dødelighet hos gamle humler (Cartar, 1992). Dette bidrar til å legitimere bruken av vingeslitasje som et mål på alder, selv om insektenes kronologiske alder kan variere med slitasje.

I denne studien er det humlenes relative fysiologiske alder som er estimert, dette må ikke forveksles med dyrenes kronologiske alder, som studien ikke har grunnlag for å si noe om. Aldersestimeringen som er gjort er likevel svært hensiktsmessig da det i denne studien er den kroppslige slitasjen som er mest interessant, og hvor slitasjedistribusjonen blant de døde sier noe om den relative tilstanden til dyrene.

#### 4.1.2 Vurdering av kvaliteten på sulteksperiment og analyse

Når gjennomføringen av sulteksperimentet og analysen sees i retrospekt blir det tydelig at noen momenter kunne vært gjort annerledes. For det første kunne humlene ha vært tørket lenger og på høyere temperatur. Brown et al. (2000) tørket humler på 70°C i tre dager. Selv om pilotstudien som ble gjort i forkant av dette forsøket indikerte at 50°C i 42 timer var tilstrekkelig, kan det ikke utelukkes at resultatene ville blitt noe annerledes om humlene hadde vært tørket lenger eller ved høyere temperatur. Dette ville eventuelt gitt en ytterligere vektreduksjon hos de spesielt store dyrene og dyr med mye nektar igjen i magen. Samtidig ville dette antakeligvis ikke endret de endelige resultatene i denne oppgaven, da det til en viss grad vil ramme de ulike gruppene likt. For det andre er det mulig at størrelsen på humlene bedre beskrives ved hjelp av andre parametere enn vingelengde, blant disse er for eksempel hode- eller thoraxbredde. Disse kan være et bedre estimat for honningmagens kapasitet. Et annet mål for størrelse kan gi annerledes fordeling av humlens vekt langs størrelsesgradienten, og dermed eventuelt vise svakere eller sterkere likheter mellom de tre ulike gruppene. Som nevnt tidligere ble vingelengde som mål på størrelse valgt fremfor thoraxbredde fordi dette var enklere å standardisere. Disse to tekniske detaljene ved denne delstudien kan tenkes å ha endret resultatene noe, men ville antakeligvis ikke gitt store nok endringer til at trendene ville blitt annerledes.

### 4.1.3 Estimering av antall døde og levende humler

Det er tidligere forklart at de døde humlene under lindetrærne kun ble funnet på et område tilsvarende 30% av det totale dekningsområdet til lindetrærne (Aalberg Haugen et al., 2018). Det faktiske antallet døde humler i perioden er derfor forventet å være mer enn tre ganger så høyt enn det som er oppgitt i denne oppgaven. Når det gjelder estimatet av antall levende humler oppe i trærne er dette mer usikkert. Å systematisk telle alle aktive humler man kan se i et tre i løpet av ett minutt gir ikke et nøyaktig estimat for hvor mange humler som faktisk befinner seg i treet. Tilfeldigheter kan avgjøre hvor mange humler som faktisk er synlige i det tidsrommet tellingen pågår, og ulike personer kan komme til ulikt antall i samme tidsrom. Selv om estimatet av antall levende humler er så usikkert i denne oppgaven er en sammenlikning av antall humler på ulike tidspunkt mulig. Dette skyldes at tall fra alle trærne ( $n = 24$ ) er slått sammen, og at store tall lettere synliggjør generelle trender samt minsker effekten av tilfeldigheter. Antall døde humler utgjør rundt 4% av alle humler registrert i og under trærne i perioden. Fordi antallet døde utgjør en brøkdel av antall humler oppe i trærne kan tilfeldigheter føre til at faktiske trender og sammenhenger mellom disse variablene ikke blir registrert.

## 4.2 Fôringsforsøk og nektaranalyse

Resultatene i dette delforsøket var entydige. Lindenektaren svekket ikke humlene. Dette samsvarer med funn fra andre studier (Baal et al., 1994; Surholt et al., 1992). Om det hadde vært gift i nektaren ville man forvente at det rammet alle humler likt. Derfor kan et lavt antall forsøksdyr være tilstrekkelig for å forkaste hypotesen om giftig nektar. Nektar fra lindetrærne i denne studien ble sendt til universitetet i Bergen og analysert av Torgils Fosen på samme måte som beskrevet i Fossen et al. (2019). Ingen komponenter som er kjent giftige for humler ble registrert.

## 4.3 Predasjon

Mer enn halvparten av de døde humlene i denne studien hadde skader som indikerte at de var spist på (Tabell 3). Resultatene sier likevel ingenting om at disse dyrene døde som følge av predasjon eller om de ble spist på da de allerede var død eller døende. Det ble ikke observert noen fugler som spiste på humler liggende på bakken da datainnsamlingen ble gjennomført. Lindetrær har en tett trekrone. Det er fullt mulig at fuglene jakter humler inne i trekronen, og deretter slipper insektene ned på bakken når de er ferdig med dem.

En større andel hanner enn arbeidere hadde skader som indikerte predasjon (Tabell 3). Hanner er i utgangspunktet lettere å fange da de ikke har giftbrodd til å forsvare seg med og generelt har en treigere adferd. Andelsforskjellen kan tyde på at en del av humlene ble drept før de var veldig redusert. Samtidig kan forskjellen i vingeslitasje hos skadde og uskadde humler også underbygge påstanden om at en del av humlene ble predatert før de var døde eller døende (Tabell 4). Humler med mer slitte vinger er generelt mer fysisk degraderte, og det er foreslått at disse da kan være enklere å predatere enn yngre dyr (Cartar, 1992). Den ulike fordelingen av vingeslitasje blant skadde og uskadde humler skyldes mest sannsynlig ulik fysiologisk alder, ikke ulikt predasjonstrykk i seg selv. Dette fordi det var sjeldent å observere dype rifter og store manglede områder på vingene, skader som er tegn på predasjon eller predasjonsforsøk (Burkhard et al., 2002). Selv om det kan virke forklarende at mer slitte humler har større sannsynlighet for å bli spist, vil dette ikke være en forklaring med åpenbar støtte. Figur 7 viser ingen klar sammenheng mellom alderdom og predasjon, og det ser ut til at predatorer velger bytte helt uavhengig av alder.

Modelltesting viser at tid på sesongen og tid på dagen er mest avgjørende for andel predaterte humler (Tabell 7). Kaste er dermed ikke en faktor som i stor grad forklarer funn av spiste dyr. Den store forskjellen i antall hanner og arbeidere funnet i studien reduserer den statistiske styrken til denne faktoren. Redusert statistisk styrke innebærer at sannsynligheten for å finne en effekt, når effekten finnes, reduseres (Løvås, 2018). Et relativt lite antall hanner kan bidra til at kaste ikke inkluderes i beste modell.

Andelen spiste humler øker svært mye utover sesongen (Figur 5, Tabell 8 i Vedlegg B) Hva som forårsaker denne trenden er vanskelig å si med sikkerhet. En forklaring kan være at predatorerne (fuglene) lærer seg hvordan de mer effektivt kan ta humler utover sesongen. Samtidig kan andre faktorer i miljøet endre seg under blomstringssesongens gang. Dette kan for eksempel være at den generelle nektartilgangen i området går ned. Insektene kan være enklere å predatere når de allerede er i en presset situasjon, for eksempel som følge av redusert næringstilgang (Goulson & Brown, 2009), eller økt konkurranse. Dette vil diskuteres videre i delkapittel 4.6.

Det er en større andel spiste humler midt på dagen og om kvelden sammenliknet med morgen og ettermiddag (Figur 6, Tabell 8 i Vedlegg B). Hva som forklarer denne trenden er det ikke grunnlag for å si noe om i denne studien, men predators dagsrytme kan tenkes å være delaktig i dette. Nektarproduksjon endres også gjennom døgnet, med et bunnpunkt midt på dagen (Corbet & Prŷs-Jones, 1979; Kirk & Howes, 2012). Det er vanskelig å sette antall spiste og antall døde i sammenheng med denne, noe som vil bli nærmere belyst i seksjon 4.6.

Det er altså flere faktorer som har påvirkning på andelen spiste humler under lindetrærne. Tid på dagen og tidspunkt i sesongen har mest å si. Vi vet ikke om humlene ble spist på før eller etter at de var døde eller døende. Ulik fordeling av andel spiste i hver kaste, og ulik vingeslitasje hos skadde og uskadde humler kan tale for at en del av de spiste humlene, ble tatt oppi trærne, og at predasjon hos disse var den faktiske årsaken til død. Predators adferd kan bidra til å forklare viktigheten av tidspunkt på andel predaterte humler. Det er tidligere registrert at det er en mellomårsvariasjon i andelen spiste dyr (Mühlen et al., 1994). Selv om flere av humlene kan ha dødd som følge av predasjon kan dette alene ikke forklare alle funn av døde humler, da 49% av dyrene ikke hadde tegn til skade på kroppen.

#### 4.4 Naturlig død og aldersanalyse

Det er ikke en overvekt av gamle humler blant de døde, noe som samsvarer med tidligere funn (Mühlen et al., 1994). Samtidig er andelen gamle humler ikke ulik gjennom sesongen (Figur 7, Figur 8). En generell aldring blant humlepopulasjonene kan dermed ikke forklare den økte mengden døde dyr utover i sesongen.

Det er vist at gamle humler har større sannsynlighet for å dø enn unge (Rodd et al., 1980). Samtidig er det vanskelig å si nøyaktig hvor degradert og slitt et dyr kan bli før det faktisk påvirker dens overlevelsessevne. Det er uklart hvor sikkert det er at det kun er humler i kategori D og E som er redusert nok til at alderdom er en proksimat årsak til død. Slitasjen hos humler i alderskategori C kan kanskje være tilstrekkelig til å hemme dem i så stor grad at de burde kategoriseres som gamle. Om humler i kategori C også hadde vært definert som gamle ville det vært en overvekt av dyr med høy alder under treet. Cartar (1992) fant at humler med indusert vingeslitasje tilsvarende slitasjekategori 3 hadde signifikant redusert livslengde. Hvorvidt mindre slitte vinger medfører større sannsynlighet for å dø er uvisst. Den generelle aldersfordelingen til de døde humlene sier likevel ikke så mye uten å sette den i sammenheng med aldersfordelingen til humlene som flyr oppe i treet. Ideelt sett skulle tilsvarende aldersanalyse blitt gjort på et tilfeldig utvalg av humler

fanget i trærne. Da ville det blitt tydelig om de døde humlene var relativt eldre enn den generelle populasjonen. Dette kunne bidratt til å støtte aldershypotesen. Av praktiske grunner ble det ikke gjort en slik undersøkelse av de levende humlene oppe i trærne. Fossen et al. (2019) konkluderer med at forklaringen på alle de døde humlene under parklinden i Bergen skyldes generell aldring. Dette på bakgrunn av at alle andre hypoteser så ut til å ikke stemme. I denne studien er det vist at noen av humlene kan ha dødd som følge av generell aldring, men dette gjelder ikke for flertallet. På tross av manglende kunnskap om aldersfordelingen blant de levende humlene oppe i trærne, viser resultatene at det var mange døde humler som nesten ikke var slitt. Generell aldring blant humlene alene er dermed ikke en tilstrekkelig forklaring på fenomenet.

## 4.5 Sult

Det er stor forskjell mellom vekten til de mette oppdrettshumlene og de døde ville humlene når størrelse er korrigert for ( $p < 0.05$ , Figur 9, Tabell 6). Samtidig er det også en signifikant vektforskjell mellom de sultede referansehumlene og de ville døde humlene ( $p < 0.05$ , Figur 9, Tabell 6). Om forskjellen mellom de tre testgruppene sammenliknes blir det tydelig at vekten til de sultede oppdrettshumlene og de døde ville humlene er relativt lik, selv om dette ikke kan underbygges statistisk.

At mange av de døde humlene fra studieområdet har høyere vekt enn de sultede oppdrettshumlene kan ha flere forklaringer. De sultede humlene døde under kontrollerte forhold hvor temperaturen var relativt lav i forhold til det den kan ha vært på asfalten ute under trærne. Når underlaget er mørkt og innstrålingen fra sola høy, kan det tenkes at den opplevde temperaturen fort overstiger 20°C. Det finnes en øvre temperaturgrense på litt over 50°C hvor humler dør som følge av dette selv om de har tilstrekkelig nektar i magen til å ikke eksplisitt ha dødd av sult (Oyen & Michael, 2018). Humlene fra studieområdet kan ha dødd av overoppheting før de har dødd av sult, men likevel vært redusert som følge av lite nektar. Dette kan bidra til å forklare at disse har signifikant mer sukker i magen. Selv om gruppen med døde ville humler og gruppen med sultede oppdrettshumler har signifikant forskjellig vekt, ser det ut til at mange individer fra de to gruppene er nær nok hverandre til at de på individnivå kan regnes som like (Figur 9). Det er derfor rimelig å anta at flere av humlene funnet under lindetrærne døde av sult. Samtidig er det en del dyr i den samme gruppen som har så høy vekt at disse ikke kan ha dødd av mangel på næring. Disse trekker også snittet opp, og gjør at gruppen med humler fra studieområdet som helhet er ulik oppdrettshumlene. Mange av dyrene kan dermed ha dødd av sult, men sulthypotesen i seg selv er ikke tilstrekkelig for å forklare hvorfor alle har dødd. Koch & Stevenson (2017) konkluderer i sin artikkel med at sult kan være en god forklaring på humledødfenomenet, men kan ikke i seg selv forklare alt.

Størrelse forklarer i mindre grad vekten til de ikke sultede oppdrettshumlene enn den gjør for de to andre gruppene (Tabell 5). Vektvariasjonen her skyldes mest sannsynlig ulik mengde nektar i magen. Dette stemmer godt med teori: Humler returnerer til bolet sitt med vekt av nektar og pollen tilsvarende mellom 20% og 100% av kroppsvekten sin (Allen et al., 1978) (Figur 9). Mye tyder på at mange av humlene funnet på studieområdet har dødd av sult. Man kan likevel ikke utelukke helt at andre forhold enn redusert nektartilgjengelighet også kan ha hemmet humlen i dens næringssøk. Selv om sult ser ut til å være den direkte dødsårsaken, er det ikke nødvendigvis dette som er den bakenforliggende årsaken til mange av humlenes død.



## 4.6 Temporær variasjon og sammenheng mellom antall døde og levende humler

Sammenhengen mellom antall døde humler under lindetreet og antall levende i treet, blir forskjellig avhengig om man antar at humlene med tegn på at de er blitt predatert ble spist på før, eller etter, de døde eller ble svekket. Om man tar utgangspunkt i at alle dyr med skader på bakkropp fikk disse etter at de var svekket eller døde (Scenario 1), har ikke antall humler oppe i treet stor betydning for antall døde humler under trærne. Derimot beskrives variasjonen av antall døde dyr best av tid på dagen og dag i sesongen (Tabell 9 i Vedlegg C). Om man antar at alle humler som er spist på har dødd som følge av predasjon, og dermed utelukker disse insektene fra modellen (Scenario 2), er det sterk sammenheng mellom antall levende og døde dyr (Tabell 10 i Vedlegg C). Tid på dagen og dag i sesongen har da ikke stor betydning. At ekskluderingen av spiste humler har så stor effekt på viktigheten av ulike parametere er en sterk indikasjon på at dødsårsaken til humlene med skader og humlene uten skader i stor grad er ulike. Det blir dermed rimelig å anta at en stor del av de spiste humlene døde som direkte følge av predasjon. Som tidligere funnet har tid på dagen og dag i sesongen stor effekt på om humlene er spist på eller ikke. Funnene gjort i denne modellen kan videre indikere at predators døgnrytme, og muligens også evne til å lære med tid, kan være av betydning for trendene som blir observert.

Det er vanskelig å se for seg at antall predaterte humler overhodet ikke har en sammenheng med antall levende dyr i treet, og det er viktig å huske at de to scenarioene er en forenkling som er laget for å tydeliggjøre trender. Resultatene i de to scenarioene fungerer heller ikke som en forklaring på all variasjon som er observert. I scenario 1 forklarer tid på dagen og dag i sesongen 76% av variasjonen av antall døde dyr. I scenario 2 forklarer antall levende humler 59% av antall døde dyr (Vedlegg G). Det er mulig at kombinasjonen av alle tre faktorer sammen best vil forklare variasjonen av antall døde, og at virkeligheten ligger et sted mellom de to scenarioene. I utvelgelse av modell for både scenario 1 og 2 hadde modellene med både tid på dagen, dag i sesongen og antall levende en  $AIC \Delta < 2$  sammenliknet med beste modell. Økt kompleksitet i denne modellen gjorde likevel at den ikke ble valgt til å være den mest forklarende. Det ikke utenkelig at flere komponenter enn det som er målt også kan være avgjørende for å forstå hele bildet.

Denne studien viser at det er mange flere aktive humler oppe i trærne, enn humler som er funnet døde på bakken under trærne (Figur 10). Det er med andre ord ikke snakk om noen massedød, som fenomenet tidligere har blitt omtalt som. Sommert opp blir det likevel funnet en del døde, tilsynelatende unge humler, hvor dødsårsaken utgangspunktet er ukjent. Det er tidligere vist at mange av de døde humlene hadde relativt tomme nektarmager da de døde (Figur 9). At det var mangel på næring som forhindret dem i å fortsette å søke etter mat kan være en forklaring på hvorfor de ikke levde lenger. De har da tilsynelatende dødd av sult rett under matfatet. Stor konkurranse om den tilgjengelige nektaren kan forklare at noen humler dør av sult. Surholt et al. (1992) fôret reduserte humler under lindetrær med lindennektar, disse kviknet etter hvert til. Dette kan tyde på at lite næring var årsaken til at humlene befant seg nede på bakken. Det hadde vært interessant å måle nektarinnholdet i honningmagen til humlene som er aktive oppe i trærne i forhold til de døde under trærne og referansegruppene. Om levende ville humlers honningmage også er relativt tom, kan det være en indikasjon på konkurranse om ressursene (man må da anta at humlene er relativt like effektive i sitt næringssøk). Ved sterk konkurranse vil det være en sammenheng mellom antall summende humler i treet og antall døde, hvorav det er rimelig å anta at flere levende, vil gi forholdsvis flere døde. Sammenhengen mellom antall døde og levende humler i scenario 2 kan indikere at det er

snakk om konkurranse om ressursene. Om man antar en sammenheng mellom antall levende humler i treet og nektartilgang vil sammenhengen funnet for scenario 2 kunne indikere en konkurranse om varierende mengde nektar, og dermed støtte sulthypotesen. Illies & Mühlen (2007) fant derimot ikke en kobling mellom nektartilgjengelighet og antall levende humler i treet. På bakgrunn av dette kan det ikke konkluderes med at varierende mengde nektar i treet forklarer variasjonen av antall døde.

Som følge av en svært tørr og varm sommer ble det i løpet av datainnsamlingen dessverre ikke mulig å måle nektarmengden i lindetrærne hverken gjennom dagen eller gjennom sesongen. Det er dermed vanskelig å med sikkerhet si når humlene opplevde mer konkurranse om ressursene og dermed mer stressede forhold. Samtidig blir det vanskelig å med sikkerhet si at det er samsvar mellom nektartilgang og dødelighet. Mot slutten av sesongen avtar antall levende dyr, samtidig som antall døde øker. Illies & Mühlen (2007) finner samme trend i sin studie og trekker frem det faktum at humler, i motsetning til honningbier, mangler evnen til å kommunisere informasjon om hvor det finnes næring. Dermed er det en større fare for at humler dør av sult mens de leter etter mat. Kombinasjonen av ekstremt høy metabolsk rate og manglende kommunikative ferdigheter kan dermed virke dødelig. Likevel er det relativt få døde dyr i forhold til hvor mange levende humler som tidligere er observert i trærne. Det ser ut til at de fleste dyrene enten har dødd andre steder eller har registrert at lindetrærne ikke lenger er en god næringskilde og dermed søkt seg mot en bedre. Mot slutten av sesongen øker predasjonen (Figur 5, Tabell 8 i Vedlegg B). Det er ikke usannsynlig at humlene som returnerer til trærne i utgangspunktet er redusert, som følge av lavt energinivå eller andre årsaker, og dermed blir et enkelt bytte for sultne fugler. Reduksjon i nektartilgang kan ikke alene forklare den økte dødeligheten, da antall døde mer eller mindre øker gjennom hele sesongen, og nektartilgjengeligheten er antatt å ha hatt en topp på en av disse dagene.

Figur 12 viser teoretisk nektartilgjengelighet i lindetrærne gjennom dagen plottet mot antall døde humler funnet under trærne på samme tid. Ved besøkstidspunkt 2, på formiddagen, øker antall døde dyr samtidig som nektartilgjengeligheten går ned. Dette er som forventet om sulthypotesen skal stemme. Ved besøkstidspunkt 3 og 4, på ettermiddagen og kvelden, reduseres antall døde, på tross av at den teoretiske nektartilgjengeligheten nå når et bunnpunkt, og antall levende humler oppe i trærne er mer eller mindre uendret (Figur 10). Om sulthypotesen skulle stemme overens med den teoretiske nektartilgjengeligheten, skulle enten antall levende humler blitt redusert, eller antall døde humler registrert under treet økt utover dagen. Den teoretiske nektarkurven er basert på målinger gjort i Tyskland og England (på 51° N og 52° N), og det kan tenkes at nektarproduksjon hos lindetrær på mer nordlige breddegrader, som Trondheim (> 63° N), ikke har lik utvikling som lenger sør. Skal sulthypotesen stemme må nektarkurven for trærne i dette studiet være annerledes enn det Illies & Mühlen (2007) og Corbet & Prýs-Jones (1979) presenterer. Om det skal gjøres videre studier på sammenhengen mellom faktisk nektartilgang og antall døde humler, må antall predaterte tas hensyn til i analysen.

#### 4.7 Videre studier

Det er så langt i diskusjonen vist at årsakene til at humler dør under lindetrær ser ut til å være sammensatte. Predasjon, naturlig død og sult kan forklare hvorfor mange av humlene dør, men det er også tydelig at disse tre forklaringene til sammen ikke gir et fullstendig svar på hvorfor humler dør under lindetrær. Det er imidlertid uvisst i hvilken grad andre hypoteser kan være med å forklare fenomenet. Videre studier bør forsøke å identifisere, separere og kvantifisere disse årsaksmekanismene.

#### 4.7.1 Manipulasjonshypotesen

Det er svært mange kjemiske forbindelser i lindenektar (Naef et al., 2004). Hvorvidt noen av disse kan virke skadelig på humlene er det ikke tilstrekkelig kunnskap om. Det er tidligere presentert forskning som indikerer at bier kan bli avhengig av alkaloider og trekkes mot trær som produserer disse, selv om de ikke nødvendigvis har tilstrekkelig nektar tilgjengelig (Couvillon et al., 2015). Om lindenektar inneholder en slik avhengighetsskapende forbindelse, og det tar tid å utvikle en avhengighet til denne, kan dette bidra til å forklare hvorfor flere dyr dør mot slutten av sesongen, da flere er antatt å utvikle en avhengighet og velger å komme tilbake til treet selv om det ikke lenger tilbyr tilstrekkelig nektar. Slike komponenter i nektaren kan også bidra til at det er ganske mange dyr i treet gjennom dagen, selv om nektarmengden er forventet å avta. Koch & Stevenson (2017) understreker også viktigheten av mer forskning på lindetrærs evne til å manipulere humler.

#### 4.7.2 Gjæringshypotesen

Det har vært rapportert at humler under blomstrende lindetrær har hatt en adferd som kan minne om at de er etanolforgiftet (VKM, 2017). Det er dokumentert at insekter kan bli forgiftet av etanol (Berger et al., 2004). Tidligere er det identifisert mikroorganismer i orkidénektar som er i stand til å produsere etanol med sukker tilgjengelig (Ehlers & Olesen, 1997). Disse mikroorganismene ble transportert fra blomst til blomst ved hjelp av insekter og vind. Produksjon av etanol vil variere både romlig og temporært og vil kunne forklare en slik variasjon av antall døde humler under lindetrær, dersom alkoholproduserende organismer også er å finne på lind. Etanol er ikke detektert i lindenektar (Fossen et al., 2019; Naef et al., 2004), samtidig kan det være vanskelig å måle slike flyktige stoffer nettopp fordi de er så temporære. I denne studien ble det ikke observert tegn til at reduserte humler var forgiftet av etanol. Likevel kan det ikke utelukkes at etanolforgiftning kan forklare deler av fenomenet. Surholt et al. (1992) løftet reduserte humler funnet under lindetrær opp til lindeblomster med nektar i, hvor humlene etter en stund kom seg. Denne observasjonen taler mot hypotesen om etanol i lindenektar. VKM (2017) konkluderer i sin rapport om at det er svært lite kunnskap knyttet rundt denne hypotesen, og at usikkerheten knyttet til den er høy.

#### 4.7.3 Parasitthypotesen

Baal et al. (1991) har foreslått at døde humler under blomstrende lindetrær forklares av en kombinasjon av ulike faktorer. Resultatene i denne studien bygger opp under dette. Samtidig er årsakene predasjon, alderdom og sult ikke tilstrekkelige for å forklare hele fenomenet. Noen av de døde individene hadde ikke skader som indikerte predasjon, var unge og hadde tilsynelatende relativt full honningmage. Parasitter, parasitoider og patogener spiller en økologisk signifikant rolle ved at deres tilstedeværelse, i tillegg til å påvirke verten, også får ringvirkninger ut i systemet verten er en del av (Gegear et al., 2006; Goulson & Brown, 2009; Moret & Schmid-Hempel, 2000). Å inkludere kunnskap om parasitters innvirkning på humlers adferd kan være en naturlig vei å gå for å komme et skritt nærmere en større forståelse av humledødfenomenet. Ikke bare med tanke på hvorfor noen dør av sult, alderdom og predasjon og ikke andre, men også som en vei å gå for å forklare dødsfallene til de resterende humlene.

Schmid-Hempel & Schmid-Hempel (1990) har funnet en sammenheng mellom infiserte (av vepseflue, Conopidae) og ikke-infiserte humlers valg av nektarproduserende blomster. En blomsterart med lettere tilgjengelig nektar hadde besøk av flere infiserte humler enn en annen sammenliknbar blomst med nektar som var mer utilgjengelig. Lindetrærne har lett tilgjengelig nektar, og kan med dette tiltrekke seg relativt flere infiserte humler enn andre nektarkilder gjør på det samme tidspunktet. Det er også vist at humler infisert av bakterier

og protozoer (*Crihidia bombi*), fortere døde av sult enn ikke-infiserte dyr (Brown et al., 2000; Moret & Schmid-Hempel, 2000). Med tilstrekkelig næring var humlene ikke påvirket av et mer aktivert immunforsvar (Moret & Schmid-Hempel, 2000). Effekten av parasitter øker dermed under stressede forhold.

Otterstatter et al. (2005) har vist at humler infisert av protozoen *C. bombi* besøker færre blomster pr minutt, og dermed er mindre effektive i matsanking, enn uinfiserte dyr. Dette gjør at de i en situasjon hvor det allerede er sterk konkurranse om næringen, vil være mer utsatt for å sulte. Det er også vist at kognitiv ytelse reduseres når humler er infisert av *C. bombi*. Humler brukte lenger tid på å lære seg å skille mellom ulike blomsterfarger (Gegear et al., 2006). Om humlers hukommelse reduseres ved infeksjon vil dette kunne bidra til å forklare hvorfor humler kommer tilbake til lindetreet selv om det ikke nødvendigvis tilbyr tilstrekkelig nektar lenger. Figur 11 viser at antall døde mot slutten av sesongen overgår antall summende humler i treet. Dette trenger nødvendigvis ikke ha noe med den generelle mattilgangen i landskapet å gjøre, men har muligens å gjøre med humlenes begrensede evne til å huske at lindetreet ikke lenger er en god næringskilde. Hvorvidt døde dyr under blomstrende lindetrær i større grad er infisert av parasitter enn levende dyr i de samme trærne må undersøkes ytterligere.

## 5. Konklusjon

Denne studien viser at mange av de døde humlene funnet under lindetrærne mest sannsynlig har dødd av sult. Samtidig er det tydelig at ikke alle dyrene kan ha dødd av dette, da vekten til noen av de døde ville humlene ligger langt over en sultet humles vekt. Fysisk degradering kan forklare at en liten del av humlene dør, men heller ikke naturlig død gir en helhetlig forklaring på fenomenet. Rundt halvparten av alle innsamlede dyr hadde skader som viste at humlene var spist på. I hvilken grad dette skjedde før insektene var begynt å bli redusert og falt på bakken er uvisst. Funn tyder likevel på at en del av humlene mest sannsynlig har dødd som følge av predasjon mens de var aktive i treet. Studien gir ikke støtte til at giftig nektar kan forklare humledød.

Selv om både sult, aldring og predasjon gir en viss støtte som forklaring på funn av døde humler under blomstrende lindetrær, viser det seg at disse hypotesene sammen ikke er tilstrekkelig til å forklare alle dødsfall. Noen dyr var uspist, ikke kategorisert som gammel, og hadde heller ikke vekt som indikerte sult. Det er derfor nødvendig å se på alternative hypoteser og å studere samvariasjonen mellom dem nærmere for å kunne forstå fenomenet bedre. Denne studien indikerer at det fremdeles er flere ubesvarte spørsmål i forbindelse med humledød under lindetrær, men også at et samspill mellom flere kjente årsaksmekanismer trolig er sterkt medvirkende forklaringer.



## Referanser

- Aalberg Haugen, I. M., Vinnes, K. M. & Gjershaug, J. O. (2018). *Kartlegging av humledød og lindetrær i Trondheim 2018* (NINA prosjektnotat 100). *Trondheim*.
- Adler, L. S. (2000). The ecological significance of toxic nectar. *Oikos*, *91*(3), 409 – 420.  
<https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.910301.x>
- Allen, T., Cameron, S., McGinley, R. & Heinrich, B. (1978). The Role of Workers and New Queens in the Ergonomics of a Bumblebee Colony (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of the Kansas Entomological Society*, *51*(3), 329 – 342.
- Allsopp, R. (1985). Wing fray in *Glossina morsitans centralis* Machado (Diptera:Glossinidae). *Bulletin of entomological research*, *75*, 1 – 11.
- Anderson, G. J. (1976). The pollination biology of *tilia*. *American Journal of Botany*, *63*(9), 1203 – 1212. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1976.tb13205.x>
- Aytekin, A., Terzo, M., Rasmont, P. & Çagatay, N. (2007). Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus* Vogt (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille). *Annales- Societe Entomologique de France*, *43*(1), 95 – 102.  
<https://doi.org/10.1080/00379271.2007.10697499>
- Baal, T., Denker, B., Muehlen, W., Popp, M., Riedel, V. & Surholt, B. (1991, 26-28 Mar). *Physiological, ethological and ecological questions on the death of insects visiting late flowering lime trees*. Innlegg presentert ved Arbeitsgemeinschaft der Institute fuer Bienenforschung, Celle (Germany, F.R.).
- Baal, T., Denker, B., Muehlen, W. & Surholt, B. (1994). Die ursachen des massenstrebens von hummeln unter spätblühenden Linden. *Natur und Landschaft*, *9*, 412 – 418.
- Baldock, K. C. R., Goddard, M. A., Hicks, D. M., Kunin, W. E., Mitschunas, N., Osgathorpe, L. M., Potts, S. G., Robertson, K. M., Scott, A. V., Stone, G. N., Vaughan, I. P. & Memmott, J. (2015). Where is the UK's pollinator biodiversity? The importance of urban areas for flower-visiting insects. *Proceedings. Biological sciences*, *282*.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2849>
- Berger, K. H., Heberlein, U. & Moore, M. S. (2004). Rapid and Chronic: Two Distinct Forms of Ethanol Tolerance in *Drosophila*. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *28*(10), 1469 – 1480. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000141817.15993.98>
- Brown, M. J. F., Loosli, R. & Schmid-Hempel, P. (2000). Condition-Dependent Expression of Virulence in a Trypanosome Infecting Bumblebees. *Oikos*, *91*(3), 421 – 427.
- Burkhard, D. U., Ward, P. I. & Blanckenhorn, W. U. (2002). Using age grading by wing injuries to estimate size-dependent adult survivorship in the field: a case study of the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria*. *Ecological Entomology*, *27*(5), 514 – 520.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2002.00453.x>
- Carolan, J. C., Murray, T. E., Fitzpatrick, Ú., Crossley, J., Schmidt, H., Cederberg, B., McNally, L., Paxton, R. J., Williams, P. H., Brown, M. J. F. & Steinke, D. (2012). Colour Patterns Do Not Diagnose Species: Quantitative Evaluation of a DNA Barcoded Cryptic Bumblebee Complex (Cryptic European Bumblebees). *PLoS ONE*, *7*(1), e29251.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029251>
- Cartar, R. V. (1992). Morphological senescence and longevity: an experiment relating wing wear and life span in foraging wild bumble bees. *Journal of Animal Ecology*, *61*(1), 225 – 231.  
<https://doi.org/10.2307/5525>
- Corbet, S. & Prÿs-Jones, O. (1979). Humidity, nectar and insect visit to flowers, with special reference to *Crataegus*, *Tilia* and *Echium*. *Ecological Entomology*, *4*(1), 9 – 22.
- Couvillon, M. J., Al Toufaily, H., Butterfield, T. M., Schrell, F., Ratnieks, F. L. W. & Schürch, R. (2015). Caffeinated Forage Tricks Honeybees into Increasing Foraging and Recruitment Behaviors. *Current Biology*, *25*(21), 2815 – 2818.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.08.052>
- Couvillon, M. J., Schürch, R. & Ratnieks, F. L. W. (2014). Waggle dance distances as integrative indicators of seasonal foraging challenges. *PLoS ONE*, *9*(4), e93495.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093495>
- Cumber, R. A. (1949). The biology of humble-bees, with special reference to the production of the worker caste. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, *100*(1), 1 – 45.

- Del Castillo, R. C. & Fairbairn, D. J. (2012). Macroevolutionary patterns of bumblebee body size: detecting the interplay between natural and sexual selection. *Ecology and Evolution*, 2(1), 46 – 57. <https://doi.org/10.1002/ece3.65>
- Ehlers, B. K. & Olesen, J. M. (1997). The fruit-wasp route to toxic nectar in *Epipactis* orchids? *Flora*, 192(3), 223 – 229. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30787-9](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30787-9)
- Forster Johnson, A. P. (2002). Bumblebee queen form part of the spring diet of the Great tit (*Parus major* L.) in southern Finland. *Entomologists monthly magazine*, 138, 138 – 138.
- Fossen, T., Holmelid, B. & Øvstedal, D. O. (2019). Bumblebee death associated with *Tilia x europaea* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 82, 16 – 23. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.11.001>
- Foster, D. J. & Cartar, R. V. (2011). What causes wing wear in foraging bumble bees? *Journal of Experimental Biology*, 214(11), 1896-1901. <https://doi.org/10.1242/jeb.051730>
- Gegear, R. J., Otterstatter, M. C. & Thomson, J. D. (2006). Bumble-bee foragers infected by a gut parasite have an impaired ability to utilize floral information. *Biological Sciences*, 273(1590), 1073 – 1078. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3423>
- Geissler, G. & Steche, W. (1962). Signs of poisoning in honeybees and bumblebees caused by natural sources. *Zeitschrift fuer Bienenforschung*, 6, 77 – 92.
- Goulson, D. (2009). *Bumblebees: Behaviour, Ecology, and Conservation* (2. utg.). United Kingdom: Oxford University Press.
- Goulson, D. & Brown, M. J. F. (2009). Natural Enemies. I *Bumblebees: Behaviour, Ecology, and Conservation* (2. utg., s. 57 – 79). Oxford: Oxford University Press.
- Goulson, D. & Darvill, B. (2009). Conservation. I *Bumblebees: behaviour, ecology, and conservation* (2. utg., s. 177 – 217). Oxford: Oxford University Press.
- Goulson, D., Hughes, W., Derwent, L. & Stout, J. (2002). Colony growth of the bumblebee, *Bombus terrestris*, in improved and conventional agricultural and suburban habitats. *Oecologia*, 130(2), 267 – 273. <https://doi.org/10.1007/s004420100803>
- Goulson, D., Lye, G. C. & Darvill, B. (2008). Decline and Conservation of Bumble Bees. *Annual Review of Entomology*, 53(1), 191 – 208. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093454>
- Goulson, D., Nicholls, E., Botias, C. & Rotheray, E. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229). <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Goulson, D. & Osborne, J. L. (2010). Foraging Economics. I *Bumblebees: behaviour, ecology, and conservation* (2. utg., s. 81 – 99). Oxford: Oxford University Press.
- Grundt, H. H., Brysting, A. K. & Elven, R. (2015). Storlind *Tilia platyphyllos* i Østfold og Norge: Rød eller svart? *Blyttia*, 73(1), 13 – 22.
- Håpnes, A. & Hansejordet, Å. (2017). *Trær i Norge: arter, kjennetegn, utbredelse*. Oslo: Stenersens forl.
- Haugsvær, N. (2016, 23. juli). Dette vanlige bytreet dreper tusenvis av humler. *Aftenposten*. Hentet fra <https://www.aftenposten.no/osloby/i/VQEKr/Dette-vanlige-bytreet-dreper-tusenvis-av-humler> (26.05.19)
- Hayes, E. J. & Wall, R. (1999). Age-grading adult insects: a review of techniques. *Physiological Entomology*, 24(1), 1 – 10. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1999.00104.x>
- Henrich, B. (2004). *Bumblebee Economics* (3. utg.). Cambridge, Massachusetts.
- Henriksen, S. & Hilmo, O. (2015). Mange pollinerende insekter på Rødlista. *Artsdatabanken*. Hentet fra <http://www.artsdatabanken.no/Rodliste/PollinerendeInsekter> (03.04.19)
- Illies, I. & Mühlen, W. (2007). The Foraging Behaviour of Honeybees and Bumblebees on Late Blooming Lime Trees (*Tilia spec*) (Hymenoptera: Apidae). *Entomol. Gener*, 30(2), 155 – 165. <https://doi.org/10.1127/entom.gen/30/2007/155>
- Jacquemart, A. L., Moquet, L., Ouvrard, P., Quetin-Leclercq, J., Herent, M. & Quinet, M. (2018). *Tilia* trees: toxic or valuable resources for pollinators? *Apidologie*, 49(5), 538 – 550. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0581-3>
- Kirk, W. D. J. & Howes, F. N. (2012). *Plant for bees*. International Bee Research Association.
- Klein, A., Vaissiere, B., Cane, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C. & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops.



- Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303 – 313.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Kluge, L. (2014, 17. juli). Ett av Norges vanligste bytrær dreper humler. *Aftenposten*. Hentet fra <https://www.aftenposten.no/norge/i/7lxdv/Ett-av-Norges-vanligste-bytrar-dreper-humler> (26.02.19)
- Koch, H. & Stevenson, P. C. (2017). Do linden trees kill bees? Reviewing the causes of bee deaths on silver linden (*Tilia tomentosa*). *Biology Letters*, 13(9).  
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2017.0484>
- Lehane, M. J. (1985). Determining the age of an insect. *Parasitology Today*, 1(3), 81 – 85.  
[https://doi.org/10.1016/0169-4758\(85\)90048-1](https://doi.org/10.1016/0169-4758(85)90048-1)
- Lid, J., Lid, D. T., Elven, R. & Alm, T. (2005). *Norsk flora* (7. utg.). Oslo: Samlaget.
- Lindin, I.-K. (2014, 1. aug). Massedød blant humler på grunn av parktre. *NRK Møre og Romsdal*. Hentet fra <https://www.nrk.no/mr/massedod-pa-grunn-av-parktre-1.11857523> (26.06.19)
- Løvås, G. G. (2018). *Statistikk for universiteter og høyskoler* (4. utg.). Oslo: Universitetsforlaget.
- Madel, G. (1977). Vergiftungen von Hummeln durch den Nektar der Silberlinde *Tilia tomentosa* Moench. *Bonner zoologische Beiträge : Herausgeber: Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn.*, 28(1/2), 149 – 154.
- Mathon, C., Patrick, E., Christen, P. & Bieri, S. (2014). Unexpected Occurrence of Caffeine in Sleep-Inducing Herbal Teas. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 68(10), 705-709.  
<https://doi.org/10.2533/chimia.2014.705>
- Moret, Y. & Schmid-Hempel, P. (2000). Survival for immunity: The price of immune system activation for bumblebee workers. *Science (Washington)*, 290(5494), 1166 – 1168.  
<https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1166>
- Mühlen, W., Riedel, V., Baal, T., Denker, B. & Surholt, B. (1992). The mortality rate of insects foraging on late flowering lime trees. Analysis with regard to species, caste and sex. *Apidologie*, 23(4), 329 – 331.
- Mühlen, W., Riedel, V., Baal, T. & Surholt, B. (1994). Insektensterben unter blühenden Linden. *Natur und Landschaft*, 69(3), 95 – 100.
- Naef, R., Jaquier, A., Velluz, A. & Bachofen, B. (2004). From the Linden Flower to Linden Honey – Volatile Constituents of Linden Nectar, the Extract of Bee-Stomach and Ripe Honey. *Chemistry & Biodiversity*, 1(12), 1870 – 1879. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200490143>
- Otterstatter, M., Gegear, R., Colla, S. & Thomson, J. (2005). Effects of parasitic mites and protozoa on the flower constancy and foraging rate of bumble bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 58(4), 383 – 389. <https://doi.org/10.1007/s00265-005-0945-3>
- Oyen, J. & Michael, D. (2018). Critical thermal limits of bumblebees (*Bombus impatiens*) are marked by stereotypical behaviors and are unchanged by acclimation, age or feeding status. *Journal of Experimental Biology*, 221(8), jeb165589.  
<https://doi.org/10.1242/jeb.165589>
- Pauleit, S., Jones, N., Garcia-Martin, G., Garcia-Valdecantos, J. L., Rivière, L. M., Vidal-Beaudet, L., Bodson, M. & Randrup, T. B. (2002). Tree establishment practice in towns and cities – Results from a European survey. *Urban Forestry & Urban Greening*, 1(2), 83 – 96.  
<https://doi.org/10.1078/1618-8667-00009>
- Pawlikowski, T. (2010). Pollination activity of bees (*Apoidea: Aipiformes*) visiting the flowers of *Tilia cordata* Mill. And *Tilia tomentosa* Moench in an urban environment. *Journal of Apicultural Science*, 54(2), 73 – 79.
- Pigott, D. (2012). *Lime-trees and Basswoods: A Biological Monograph of the Genus Tilia*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345 – 353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- R Core Team. (2018). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Hentet fra <https://www.R-project.org/>
- Rasmont, P., Franzén, M., Lecocq, T., Harpke, A., Roberts, S. P. M., Biesmeijer, J., Castro, L., Cederberg, B., Dvůrák, L., Fitzpatrick, Ú., Gonseth, Y., Haubruge, E., Mahé, G., Manino, A., Michez, D., Neumayer, J., Ødegaard, F., Paukkunen, J., Pawlikowski, T., Potts, S. G.,

- Reemer, M., Settele, J., Straka, J. & Schweiger, O. (2015). Climatic risk and distribution atlas of European bumblebees. *BioRisk*, 10, 1 – 236. <https://doi.org/10.3897/biorisk.10.4749>
- Richards, O. W. (1946). Observations on *Bombus Agrorum* (Fabricius) (Hymen., Bombidae). *Proceedings of the Royal Entomological Society*, 21, 66 – 71.
- Rodd, F. H., Plowright, R. C. & Owen, R. E. (1980). Mortality rates of adult bumble bee workers(Hymenoptera: Apidae). *Canadian Journal of Zoology*, 58(9), 1718 – 1721. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/z80-236>
- Rundlöf, M., Andersson, G. K. S., Bommarco, R., Fries, I., Hederström, V., Herbertsson, L., Jonsson, O., Klatt, B. K., Pedersen, T. R., Yourstone, J. & Smith, H. G. (2015). Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature*, 521(7550), 77 – 80. <https://doi.org/10.1038/nature14420>
- Saunders, E. & Saunders, C. A. (1907). *Wild Bees, Wasps and Ants and Other Stinging Insects*. London: G. Routledge & Sons.
- Schiestl, F. P. & Barrows, E. M. (1999). Queen and forager sizes of *Bombus Affinis* cresson (Hymenoptera: Apidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 101(4), 880 – 886.
- Schmid-Hempel, P. (1998). *Parasites in social insects*. New Jersey, USA: Princeton University Press.
- Schmid-Hempel, P. & Schmid-Hempel, R. (1990). Endoparasitic larvae of conopid flies alter pollination behavior of bumblebees. *Naturwissenschaften*, 77(9), 450 – 452. <https://doi.org/10.1007/BF01135951>
- Scudder, G. G. E. (2009). The Importance of Insects. I R. G. Footitt & P. H. Adler (Red.), *Insect Biodiversity* (s. 7 – 32). Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Silva-Matos, d., Euncine, V. & Garófalo, C. A. (2000). Worker life tables, survivorship, and longevity in colonies of *Bombus (Fervidobombus) atratus* (Hymenoptera: Apidae). *Revista de Biología Tropical*, 48(2 – 3), 657 – 664.
- Sjöman, H. (2012). *Trees for Tough Urban Sites* (Doktorgradavhandling).The Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995). *Biometry : the principles and practice of statistics in biological research* (3. utg.). New York: Freeman.
- Somme, L., Moquet, L., Quinet, M., Vanderplanck, M., Michez, D., Lognay, G. & Jacquemart, A.-L. (2016). Food in a row: urban trees offer valuable floral resources to pollinating insects. *Urban Ecosystems*, 19(3), 1149 – 1161. <https://doi.org/10.1007/s11252-016-0555-z>
- Surholt, B. & Baal, T. (1995). Die Bedeutung blühender Silberlinden für Insekten im Hochsommer. *Natur und Landschaft*, 70(2), 252 – 258.
- Surholt, B., Denker, B., Baal, T. & Muehlen, W. (1992). Is the nectar of silver lime trees toxic to bumble bees? Video-recorded outdoor experiments. *Apidologie*, 23(4), 335 – 337.
- Totland, Ø., Hovstad, K. A., Ødegaard, F. & Åström, J. (2013). Kunnskapsstatus for insektpollinering i Norge - betydningen av det komplekse samspillet mellom planter og insekter. *Artsdatabanken, Norge*.
- Venables, W. N. & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (4. utg.). New York: Springer.
- VKM. (2017). Assessment of the potential connection between Tilia trees and bumblebee death. *Vitenskapskomiteen for mat og miljø*. <https://doi.org/978-82-8259-272-7>
- Von Frisch, K. (1967). *The Dance Language and Orientation of Bees*. Cambridge: MA: Harvard University Press.
- Weryszko-Chmielewska, E. & Sadowska, D. A. (2010). The phenology of flowering and pollen release in four species of linden (*Tilia* L.). *Journal of Apicultural Science*, 54(2), 99 – 108.
- Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. Hentet fra <http://ggplot2.org>
- Williams, P. H., Araújo, M. B. & Rasmont, P. (2007). Can vulnerability among British bumblebee (*Bombus*) species be explained by niche position and breadth? *Biological Conservation*, 138(3), 493 – 505. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.001>

- Zucchi, H. (1996). Ist die Silberlinde rehabilitiert? Zur Diskussion um das Hummelsterben an spätblühenden Linden. *Natur und Landschaft*, 71(2), 47 – 50.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N., Saveliev, A. A. & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. New York: Springer New York.
- Ødegaard, F., Endrestøl, A. & Roth, S. (2015a). Norsk rødliste for arter 2015. I S. Henriksen & O. Hilmo (Red.), *Artsdatabanken, Norge*.
- Ødegaard, F., Staverløkk, A., Gjershaug, J. O., Bengtson, R. & Mjelde, A. (2015b). *Humler i Norge: kjennetegn, utbredelse og levesett*. Trondheim: Norsk institutt for naturforskning.



## Vedlegg A

Tabell 7 viser modeller som ble testet i forbindelse predasjonshypotesen tilhørende AIC-verdier.

Tabell 7: Utvelgelse av modell som forklarer predasjon av humler på best mulig måte. Prediktor variablene er dag i blomstringssesongen, kaste, og tidspunkt på dagen (tid). \* innebærer effekten av de to omkringliggende faktoren inkludert interaksjonen mellom disse.

Respons	Prediktor	AIC	$\Delta$ AIC
Predasjon	Dag	504.45	14.83
	Kaste	665.58	175.96
	Tid	654.96	165.35
	Dag + Kaste	505.60	15.98
	Kaste + Tid	651.45	161.84
	<b>Dag + Tid</b>	<b>490.16</b>	<b>0.55</b>
	Dag *Kaste	508.22	18.60
	Kaste* Tid	652.80	163.18
	Dag*Tid	410.31	20.69
	Dag*Kaste*Tid	519.13	29.52
	Dag + Kaste +Tid	491.65	2.03
	Dag*Kaset + Tid	495.58	5.96
	Dag*Tid + Kaste	510.67	21.05
	<b>Tid*Kaste + Dag</b>	<b>489.62</b>	<b>0</b>

## Vedlegg B

Tabell 8 viser estimerte regresjonsparametere ( $\beta$ ) for modell med parametere som i størst grad påvirker andel spiste humler (Likning III).

$$\text{Andel spist} = \frac{e^{(\beta \text{skjæringspunkt} + \beta \text{dag} + \beta \text{tid})}}{1 + e^{(\beta_0 + \beta \text{dag} + \beta \text{tid})}} \quad \text{Likning III}$$

Tabell 8: Estimerte regresjonsparametere ( $\beta$ ), standardfeil z-verdi og p-verdi for binomial GLM (logit) presentert i likning III. Skjæringspunktet inkluderer dag 15 og morgen.

	<b>Estimat (<math>\beta</math>)</b>	<b>Standard feil</b>	<b>Z verdi</b>	<b>p-verdi</b>
Skjæringspunkt	1.152	0.609	1.896	0.058
Dag 0	-17.718	2399.545	-0.007	0.994
Dag 1	-3.10	1.301	-2.386	<0.05
Dag 2	-3.559	1.243	-2.863	<0.01
Dag 3	-18.037	848.369	-0.021	0.983
Dag 4	-4.257	1.195	-3.562	<0.001
Dag 5	-3.651	0.778	-4.693	<0.001
Dag 6	-3.953	0.840	-4.703	<0.001
Dag 7	-3.447	0.646	-5.333	<0.001
Dag 8	-3.153	0.638	-4.940	<0.001
Dag 9	-2.171	0.670	-3.239	<0.01
Dag 10	-2.205	0.619	-3.563	<0.001
Dag 11	-3.034	0.765	-3.967	<0.001
Dag 12	-1.966	0.638	-3.083	<0.01
Dag 13	1.015	0.754	1.347	0.178
Dag 14	-0.883	0.627	-1.407	0.159
Formiddag	1.240	0.352	3.521	<0.001
Ettermiddag	0.319	0.414	0.770	0.441
Kveld	1.307	0.388	3.366	<0.001

## Vedlegg C

Tabell 9 og Tabell 10 viser modellutvelgelse for faktorer som best beskriver antall døde humler funnet under lindetrærne for hvert besøkstidspunkt. Scenario 1 antar at alle humlers dødsfall i like stor grad skyldes de ulike faktorene. Scenario 2 antar at dødsfall til alle humler som har tegn til å ha blitt spist på utelukkende skyldes predasjon, og er helt uavhengig av alle andre faktorer. Predaterte humler er dermed ikke inkludert i datasettet.

Tabell 9: Utvelgelse av modell som beskriver funn av døde humler, scenario 1, på best mulig måte. Prediktorvariablene er antall levende humler observert i trærne (Ant.levende), dag i blomstringssesongen, og tidspunkt på dagen (Tid).

Respons	Prediktor	AIC	$\Delta$ AIC
Antall døde	Ant.levende	398.52	56.54
	Dato	361.32	19.34
	Tid	397.33	55.35
	Ant.levende + Tid	396.49	54.51
	<b>Tid + Dato</b>	<b>341.98</b>	<b>0</b>
	Ant.levende + Dato	362.19	20.21
	Ant.levende + Dato + Tid	242.19	0.21

Tabell 10: Utvelgelse av modell som beskriver funn av døde humler, scenario 2, på best mulig måte. Prediktorvariablene er antall levende humler observert i trærne (Ant.levende), dag i blomstringssesongen, og tidspunkt på dagen (Tid).

Respons	Prediktor	AIC	$\Delta$ AIC
Antall døde	<b>Ant.levende</b>	<b>286.79</b>	<b>0</b>
	Dato	291.11	4.32
	Tid	319.58	32.79
	Ant.levende + Tid	288.71	1.91
	Tid + Dato	289.21	2.41
	Ant.levende + Dato	289.26	2.46
	Ant.levende + Dato + Tid	287.72	0.93

## Vedlegg D

Tabell 11 viser estimerte regresjonsparametere ( $\beta$ ) for modell som best beskriver antall døde humler funnet (Likning IV). Modellen tar utgangspunkt i scenario 1: Dødsårsaken til humler som er funnet spist på er like mye knyttet til nektartilgang, og konkurranse som dødsårsaken til humler som har en uspist kropp.

$$\text{Antall døde} = e^{(\beta \text{skjæringspunkt} + \beta \text{dag} + \beta \text{tid})}$$

Likning IV

Tabell 11: Estimerte regresjonsparametere, standardfeil, Z-verdi for negativ binomiell GLM (log) presentert i likning IV. Skjæringspunktet inkluderer dag 15 og morgen.

	<b>Estimat (<math>\beta</math>)</b>	<b>Standard feil</b>	<b>Z verdi</b>	<b>P verdi</b>
Skjæringspunkt	2.115	0.250	8.474	< 0.001
Dag 0	-3.908	1.030	-3.794	< 0.001
Dag 1	-2.523	0.453	-4.479	< 0.001
Dag 2	-2.116	0.484	-4.373	< 0.001
Dag 3	-1.674	0.418	-4.002	< 0.001
Dag 4	-1.674	0.412	-3.935	< 0.001
Dag 5	-0.811	0.337	-2.409	< 0.05
Dag 6	-1.141	0.362	-3.153	< 0.01
Dag 7	0.286	0.288	0.993	0.321
Dag 8	-0.005	0.297	-0.018	0.986
Dag 9	-0.530	0.320	-1.660	0.097
Dag 10	-0.031	0.298	-0.103	0.918
Dag 11	-0.946	0.346	-1.734	<0.01
Dag 12	-0.248	0.306	-0.811	0.418
Dag 13	0.469	0.283	1.655	0.098
Dag 14	0.163	0.291	0.561	0.575
Formiddag	0.917	0.168	5.471	<0.001
Ettermiddag	0.179	0.183	0.976	0.329
Kveld	0.308	0.185	1.665	0.096



## Vedlegg E

Tabell 12 viser estimerte regresjonsparametere ( $\beta$ ) for modell som best beskriver antall døde humler funnet (Likning V). Modellen tar utgangspunkt i scenario 2: Dødsårsaken til humler som er funnet spist på er ikke knyttet til faktorer som nektartilgang og konkurranse. Humler med tegn etter predasjon er derfor fjernet fra datasettet.

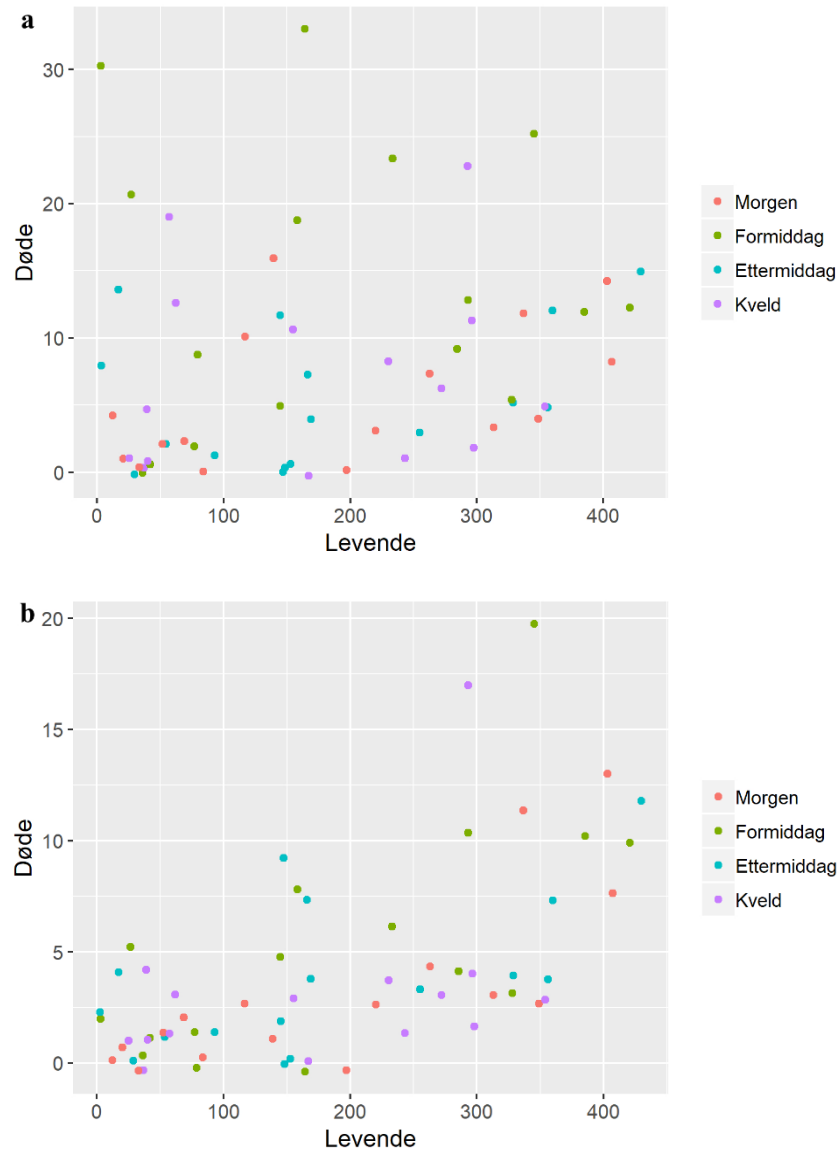
$$\text{Antall døde} = e^{(\beta \text{skjæringspunkt} + \beta \text{antall levende})} \quad \text{Likning V}$$

Tabell 12: Estimerte regresjonsparametere, standardfeil, Z-verdi for negativ binomiell GLM (log) presentert i likning V.

	<b>Estimat (<math>\beta</math>)</b>	<b>Standard feil</b>	<b>Z verdi</b>	<b>P verdi</b>
Skjæringspunkt	0.1817	0.2104	0.064	0.388
Antall levende	0.005	0.0008	6.291	< 0.001

## Vedlegg F

Figur 13 illustrerer sammenhengen mellom antall levende og antall døde dyr for henholdsvis scenario 1 og scenario 2.



Figur 13: Antall døde og antall levende ville humler telt på samme tidspunkt. Alle døde humler er inkludert i a (scenario 1), humler som er spist på er ekskludert fra b (scenario 2). Tid på dagen er markert i ulike farger.

## Vedlegg G

Beregning av forklart avvik for GLM modeller gjøres ved hjelp av likning II (Zuur et al., 2009).

$$100\% \times \frac{(\text{Nullavvik} - \text{Residualavvik})}{\text{Nullavvik}} \quad \text{Likning II}$$

**Beregning av forklart avvik (Likning II) for modell som best beskriver funn av døde humler for scenario 1 (Tabell 9):**

Nullavvik= 331.234

Residualavvik= 79.408

$$\text{Forklart avvik} = 100\% \times \frac{(331.234 - 79.408)}{331.234} = 76\%$$

**Beregning av forklart avvik (Likning II) for modell som best beskriver funn av døde humler for scenario 2 (Tabell 9):**

Nullavvik= 116.388

Residualavvik= 71.954

$$\text{Forklart avvik} = 100\% \times \frac{(116.388 - 71.954)}{116.388} = 59\%$$