



Effects of Insecticides on Honey Bee Behavior and Physiology

Berkant İsmail Yıldız^{1,a,*}, Kemal Karabağ^{1,b}

¹Department of Agricultural Biotechnology, Department of Animal Biotechnology, Faculty of Agriculture, Akdeniz University, 07070 Antalya Turkey
*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 02/11/2020 Accepted : 18/05/2021</p> <p>Keywords: Honey bee Behavior Physiology Insecticide Sublethal effect</p>	<p>In recent years, there have been unexplained colony losses around the world. Due to the decrease in honey bee colonies, many studies have been carried out to investigate potential causes. One of the main causes of losses is also insecticides. Insecticides used against harmful insects in agricultural fields affect not only harmful ones but also beneficial insects such as honey bees directly or indirectly. Honey bee losses are more common, especially where insecticides are used, and the immune systems of bees exposed to insecticides in these areas weaken; foraging behavior, the ability to smell and learn is impaired. In addition, it leaves residues in bee products such as honey, wax, pollen and bee bread. Effective and sustainable solutions are sought worldwide in order to cope with these losses that pose a major ecological threat. This review aims to reveal the current situation by examining the effects of insecticides on honey bee behavior and physiology.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 9(5): 863-867, 2021

İnsektisitlerin Bal Arısı Davranışı ve Fizyolojisi Üzerine Etkileri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 02/11/2020 Kabul : 18/05/2021</p> <p>Anahtar Kelimeler: Bal arısı Davranış Fizyoloji İnsektisit Sublethal etki</p>	<p>Son yıllarda, dünya çapında nedeni açıklanamayan koloni kayıpları yaşanmaktadır. Bal arısı kolonilerinin giderek azalması sebebiyle, potansiyel nedenleri araştırmak için birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Meydana gelen kayıpların ana nedenlerinden birisi de insektisitlerdir. Dünya genelinde tarım alanlarında zararlı böceklerle mücadele için kullanılan insektisitler, sadece zararlıları değil aynı zamanda doğrudan veya dolaylı olarak bal arıları gibi yararlı böcekleri de etkilemektedir. Özellikle insektisitlerin kullanıldığı yerlerde, bal arısı kayıpları daha yaygındır ve bu alanlarda insektisitlere maruz kalan arıların bağışıklık sistemleri zayıflamakta; yiyecek arama davranışında, koku alma ve öğrenme yeteneğinde bozukluklar meydana gelmektedir. Ayrıca başta bal olmak üzere bal mumu, polen ve arı ekmeği (perga) gibi arı ürünlerinde kalıntılar bırakmaktadır. Büyük ekolojik tehdit oluşturan bu kayıplarla baş edebilmek için dünya çapında etkin ve sürdürülebilir çözüm yolları aranmaktadır. Bu derleme, insektisitlerin bal arısı davranış ve fizyolojisine etkilerini inceleyerek mevcut durumu ortaya koymayı amaçlamaktadır.</p>

^a berkantilyildiz@gmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0001-8965-6361> | karabag@akdeniz.edu.tr

^c <https://orcid.org/0000-0002-4516-6480>



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Giriş

Bal arıları, birçok çiçekli bitkinin tozlaşmasında büyük paya sahiptir. Tarımsal ürünlerde polinatör olarak bal arılarının ekonomik değeri, bal üretiminin ekonomik değerinden daha büyüktür (Morse and Calderone, 2000). Polinasyonda kritik bir rol oynayan bal arıları, hastalıklar, parazitler ve insektisitler gibi çeşitli faktörler tarafından tehdit edilmektedir (Brown ve ark., 2016; Potts ve ark., 2016). Tüm bu tehditler arıcılık sektörünü son yıllarda hiç olmadığı kadar büyük bir krizle, Koloni Çökme Bozukluğu ile (CCD: Colony Collapse Disorder) karşı karşıya bırakmıştır (VanEngelsdorp ve ark., 2017). Koloni Çökme Bozukluğu (CCD), kolonide bulunan arıların hızlı ve nedeni açıklanamayan bir şekilde yok olması şeklinde tanımlanmaktadır. Çöken kolonilerde ya hiç arı kalmamaktadır ya da çok az sayıda arı kalmaktadır (Underwood ve Vanengelsdorp, 2007). Avrupa'da %51 ve Ortadoğu'da %85'lere (Neumann and Carreck, 2010) varan koloni kayıplarının ülkemizin özellikle Kuzeydoğu bölgesinde %70'ler seviyesine kadar çıktığı bildirilmiştir (Giray ve ark., 2007). ABD'de 2011-2016 yılları arasında, ulusal arı popülasyonunun %30'undan daha fazlası yok olmuş ve neredeyse bulunan tüm kolonilerin üçte biri ölmüştür (Hagopian, 2016). Bugüne kadar yaşanan kayıpların en büyük sorumlusu *Varroa destructor* olarak gösterilse de pestisitlerin de tüm kolonilerin yok olmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir (Godfray ve ark., 2014; 2015; Klein ve ark., 2017).

Dünya nüfusunun, hızlı ve kontrolsüz bir şekilde artması gıda talebini de paralel olarak artırmıştır. Bu çerçevede, tarımsal üretimde verimi ve kaliteyi artırabilmek amacıyla insektisit, herbisit, fungusit, rodentisit, mollusisit ve bitki büyüme düzenleyicileri kapsayan pestisit olarak adlandırılan kimyasallar, hastalık ve zararlılara karşı yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İnsektisitler, pestisitler arasında arı sağlığı açısından en çok tartışılan konudur. Arılar hayatta kalabilmek için ihtiyaç duydukları nektarları ve polenleri çiçekli bitkilerden sağlarken insektisitlere direkt olarak maruz kalabildiği gibi kovana taşıdığı nektar ve polenlerle diğer arıların da dolaylı olarak maruz kalmasına neden olmaktadır. İnsektisitlere doğrudan ya da dolaylı olarak maruz kalan diğer böcekler göre bal arıları daha hassas bir fizyolojye sahiptir. Bal arısı genom dizilemesinden sonra, diğer böcek genomlarına göre bal arısı genomunun, sitokrom P450 monooksijenazlar (P450'ler), glutatyon-S-transferazlar ve karboksilesterazlar dahil detoksifikasyon enzimlerini kodlayan genlerin sayısında belirgin bir eksikliğe sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Claudianos ve ark., 2006).

Yaygın olarak kullanılan insektisitlerin başında; imidakloprid, asetamiprid, klothianidin, tiametoksam, tiakloprid, dinotefuran ve nitenpiram'ları içeren neonikotinoid sınıfı insektisitler gelmektedir. Neonikotinoid insektisitler, böceklerde bir nörotransmitter olan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin (nAChR'ler) agonistleridir ve nörotoksiktir (Godfray ve ark., 2014; Pitman, 1971). Nörotoksiste; fiziksel, kimyasal ya da biyolojik etmenlerin sinir sistemi üzerinde oluşturduğu olumsuz etki olarak ifade edilebilmektedir (Costa ve ark., 2008). Sinir sistemi; duyu, entegrasyon ve yanıt gibi önemli işlevleri yerine getirmektedir (Scharf, 2008). Nörotoksik maddeler olarak davranan insektisitler bu prosesleri aksatarak, bilişsel

işlevlerde, davranışta veya fizyolojik işlevlerin bütünlüğünde bozukluklar meydana getirebilmektedir. Neonikotinoid sınıfı insektisitlerin, kontakt etkili olmasına rağmen, sistemik olarak topraktan yapraklara geçebilmeleri güncel kalmalarının temel nedenlerinden biridir (Kuhar ve ark., 2012). Dünya genelinde kovanlardan toplanan bal örneklerinin %75'inde yüksek miktarlarda en az bir neonikotinoid bulunmuştur (Mitchell ve ark., 2017).

Bu çalışmanın amacı, insektisitlerin bal arılarının davranışı ve fizyolojisi üzerindeki etkilerini araştıran mevcut literatürü derlemek ve güncel olan bu konuyu tartışmaktır.

Davranışsal Etkiler

Bal arıları, çeşitli ektoparazitlerin kontrolü için tımar davranışı ya da hijyenik davranış gibi davranışsal direnç ve tolerans mekanizmaları geliştirmiştir. Yapılan çalışmalarda, insektisitlere maruz kalan bal arılarında bu davranış mekanizmalarının azalarak sosyal bağışıklığın bozulduğu bildirilmiştir. Morfin ve ark. (2019), bir nörotoksin olan klothianidin ve ektoparazitik akar *Varroa destructor* arasındaki etkileşimi; beyinde farklı şekilde ifade edilen genlerin (DEG: Differentially Expressed Genes) ifadesini, deforme kanat virüsü (DWV) ve kendi kendine tımar (autogrooming) oranı ve yoğunluğunu ölçerek incelemişlerdir. Yoğun tımar gösteren arıların oranının azalmasında, stresörler ile bir etkileşim olduğuna dair sonuçlar gözlenmiştir. En düşük klothianidin dozunda bile tımar yapan bireylerin oranı düşmüştür ve DWV seviyeleri yükselmiştir (Morfin ve ark., 2019). Kendi kendine tımar davranışını azaltmada tek başına klothianidin, *V. destructor*'dan daha büyük bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. En yüksek DEG ekspresyon seviyesi, tek başına klothianidin ile gerçekleşmiştir. Ancak, *V. destructor* ve klothianidin beraber DEG sayısında veya bunlarla ilişkili KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) yollarında ilave değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (Morfin ve ark., 2019). Bir başka çalışmada, tımar ve fanlama (kanat çırpma) davranışlarını piretroid insektisitlerin etkileyip etkilemediğini belirlemek için yetişkin tarlacı arıları siflutrin, tau-fluvalinat, alletrin ve permetrin'e maruz bırakılmıştır (Oliver ve ark., 2015). Sonuç olarak, piretroid insektisitlerin bal arısı lokomotor hareketlerini, tımar davranışını ve fanlama davranışını etkilediği bildirilmiştir. Bu bileşiklere maruz kalan arıların, baş aşağı daha fazla zaman geçirip fanlama yaptıkları, daha uzun süre hareketsiz olarak bekledikleri bildirilmiştir. Aynı çalışmada, alletrin ile beslenen arıların önemli ölçüde anten tımarlamasının etkilendiği ve kontrol arılarına göre antenlerini tımarlamak için daha az zaman harcadığı bildirilmiştir (Oliver ve ark., 2015).

Ana arı yumurtlama yeteneği üzerindeki etkileri değerlendirmek için gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı boyutlardaki koloniler üç hafta boyunca imidakloprid içeren şurup ile beslenmiştir (Wu-Smart ve Spivak, 2016). Muamele edilen tüm kolonilerde imidakloprid'in ana arılar (yumurtlama ve lokomotor aktivite), işçi arılar (yiycek arama ve hijyenik aktiviteler) ve koloni gelişimi (kuluçka üretimi ve polen depoları) üzerinde olumsuz etkiler

saptanmıştır. Özellikle 50 ve 100 ppb'lik imidakloprid ile muamele edilen arılarda hijyenik davranış gösteren arı sayısının önemli ölçüde düştüğü bildirilmiştir (Wu-Smart ve Spivak, 2016). Morfin ve ark. (2019), larva döneminde klothianidin sublethal dozlarına maruz kalmanın da bal arılarının hijyenik davranışı ve yiyecek arama davranışlarının uzun süreli bozulmasına neden olduğunu, en büyük etkinin ise yetişkin tarlacı arılar üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Eiri ve Nieh (2012), neonikotinoid insektisit bal arılarında sallantı danslarını (waggle dance) etkilediğini bildirmişlerdir. İmidakloprid'i sindiren tarlacı arıların, muameleden 24 saat sonra kontrollere kıyasla önemli ölçüde daha az sallantı dansı sergilediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada; Henry ve ark. (2012), sublethal dozlarda neonikotinoide (tiametoksam) maruz kalmanın, bal arılarının kovana dönüş (homing) başarısızlığı nedeniyle dolaylı olarak kovan ölüm oranını artırdığı hipotezini test etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda, bal arılarının sublethal dozlarda tiametoksama maruz kalması, koloniyi çökme riskine sokabilecek seviyelerde kovana dönüş yapamama nedeniyle yüksek ölüm oranına neden olduğunu bildirmişlerdir. Radyo frekansı tanımlama etiketi ile etiketlenmiş serbest aralıklı toplayıcı arılarda simüle edilmiş maruz kalma olayları, kovana dönüşün tiametoksam intoksikasyonu tarafından bozulduğunu göstermektedir.

Fizyolojik Etkiler

İnsektisitler, bal arılarında bağışıklık sistemini etkileyerek patojenlere karşı onları duyarlı hale getirebilmektedir. İnsektisitler ve patojenler arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak için, bireysel bağışıklığı incelemek gerekmektedir (Chmiel ve ark., 2020). Bireysel bal arısı bağışıklığı ve insektisit kaynaklı olası bozukluk durumları Şekil.1'de özetlenmiştir.

Patojen ilişkili moleküler modellere (PAMP) karşı bal arısı bağışıklık tepkisi, humoral (sıvısal) tepki ve hücrel tepki olarak ikiye ayrılmaktadır. Humoral tepki, dört bağışıklık yolunun aktifleşmesiyle antimikrobiyal peptidler (AMP) üretmektedir (Chmiel ve ark., 2020). Bu bağışıklık yolları: Toll, immün yetmezliği yolu (IMD), c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve Janus kinaz /sinyal dönüştürücüleri ve transkripsiyon aktivatörleri (JAK / STAT)'dir. Sublethal dozlarda insektisitler, humoral bağışıklık tepkisini bozarak AMP'lerin üretimini azaltmaktadır. Hücrel tepki ise kan hücreleri ile düzenlenmektedir. Kan hücreleri, profenoloksidazın (PPO) yan ürün olarak fenoloksidaza (PO) ve reaktif oksijen türlerine (ROS) aktivasyonu ile patojenlerin ve yaraların melanizasyonunu (renklendirme) kolaylaştırabilmektedir. Bunun yanında kan hücreleri, fagositoz yeteneğine sahiptir ve istilacı patojen türlerini temizleyebilmektedir ve diğer bağışıklık hücrelerine de farklılaşabilmektedir. Hücrel tepkinin birçok aşaması, sublethal dozlardaki insektisitlere maruz kalmayla bozulabilmektedir (Chmiel ve ark., 2020).

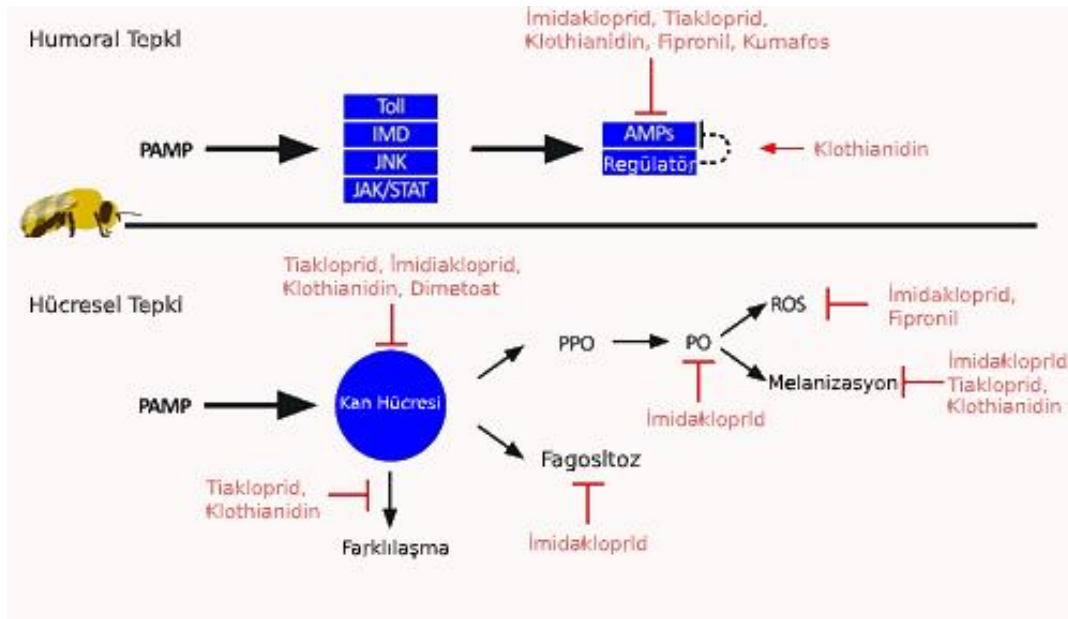
Bir başka çalışmada, *Nosema* ile neonikotinoid (imidakloprid) arasındaki etkileşimin bal arılarını önemli ölçüde zayıflattığı bildirilmiştir (Alaux ve ark., 2010). Her iki etmenin kombinasyonu, kısa vadede en yüksek bireysel ölüm oranlarıyla sonuçlanmıştır. Ek olarak; arıların koloniyi ve kuluçkalarda bulunan besinleri sterilize

etmesini sağlayan glikoz oksidaz enzim aktivitesi, kontrol, *Nosema* veya imidakloprid gruplarına kıyasla her iki faktörün kombinasyonu ile önemli ölçüde azaltmıştır. Neonikotinoidlere maruz kalan arıların, yaşam süreleri veya yiyecek arama yeteneklerine etki etmeyecek seviyelerde bile, *Nosema apis* ve *Nosema ceranae* gibi bağırsak parazitleri ile enfekte olma olasılığı yükselmektedir (Pettis ve ark., 2012).

Arıların insektisitlere maruz kalması aynı zamanda çiftleşmeyi, yumurta üretimini ve sperm kalitesini etkilemektedir. Williams ve ark. (2015), neonikotinoid pestisitlerin sahada gerçekçi konsantrasyonlarına maruz kalmanın, davranış, üreme anatomisi ve fizyolojisindeki olası değişiklikler nedeniyle bal arısı performansını önemli ölçüde azaltacağını varsayımlardır. Bunu test etmek için, gelişmekte olan ana arıları yaygın neonikotinoid insektisit tiametoksam ve klothianidin konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır, uçuş davranışından ziyade üreme anatomisi (yumurtalıklar) ve fizyolojisinin (spermatheca'de depolanan sperm kalitesi ve miktarı) olumsuz etkilendiğini ve ana arının canlı yavru üretme yeteneğinin azaldığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda, neonikotinoidlerin ana arıların önemli ölçüde daha az erkeklerle çiftleşmesine sebep olduğu da başka bir çalışmada bildirmişlerdir (Forfert ve ark., 2017).

Bir başka çalışmada Wright ve ark. (2015), düşük dozlarda imidakloprid ve tiametoksam insektisitlerinin, tarlacı arılarda kısa süreli koku hafızasını bozduğunu bildirmişlerdir. Decourtye ve ark. (2005), sublethal dozlarda dokuz pestisit konsantrasyonunun hortum uzatma refleksi (PER) testine tabi tutulan işçi arıların öğrenme performansları üzerindeki etkilerini tahmin etmiş ve karşılaştırmışlardır. Fipronil, deltametrin, endosulfan ve prokloraz (fungisit) ile muamele edilen arılar için daha düşük öğrenme performansları gözlemlenirken; λ -sihalotrin, sipermetrin, tau- flualinat, dimetoat ve triazamat konsantrasyonlarının arıların öğrenme performanslarını etkilemediğini ifade etmişlerdir. Tan ve ark. (2017), bal arılarını için neonikotinoidlerden nispeten daha güvenli olduğu düşünülen yeni bir insektisit olan flupiradifuron'un etkilerini araştırmışlardır. Flupiradifuron'a, larva veya yetişkin olarak maruz kalan *Apis cerana*'da düşük flupiradifuron dozlarında bile, kontrollere kıyasla koku öğrenimini ortalama %74 (larvalarda) ve %48 (yetişkinlerde) azalttığını bildirmişlerdir. Ortalama hafızayı ise %48 (larvalarda) ve %22 (yetişkinlerde) azaltmıştır.

Başka bir çalışma, insektisite maruz kalmanın detoksifikasyon mekanizmasını da etkileyeceğini vurgulamıştır (Gregorc ve ark., 2018). Aynı çalışmada, iki yaygın insektisit olan kumafos ve imidakloprid'in işçi arının ömrüne, gıda tüketimine, ölüm oranına ve antioksidan genlerinin ifadesine etkisini araştırmışlardır. Kumafos ve imidakloprid karışımları, belirgin orta bağırsak dokusu hasarı ile antioksidan genlerin ifadesinin aşağı regülasyonunu uyarırken, imidakloprid daha az orta bağırsak dokusu hasarı ile genlerin yukarı regülasyonunu uyardığı bildirilmiştir. Kumafos'un, kumafos ve imidakloprid karışımlarına kıyasla katalazın aşağı regülasyonu ile ilişkili olarak önemli ölçüde arı ölümünün artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Gregorc ve ark., 2018).



Şekil 1. Bireysel bal arısı bağışıklığının insektisit nedenli bozukluğu (Chmiel ve ark., 2020).
Figure 1. Insecticidal impairment of individual honey bee immunity (Chmiel et al., 2020).

İlginç şekilde bal arılarında insektisitlere maruz kalma sırası da arıların insektisitlerin etkilenmesi açısından önemli olduğu ileri sürülmüştür. Johnson ve ark. (2013), bal arıları amitraz'a maruz kalmadan önce sublethal dozlarda tau-fluvalinat veya kumafos'a maruz kaldıklarında amitraz toksisitesinin değişmediğini, ancak arılar tau-fluvalinat'tan önce amitraz ile muamele edildiğinde tau-fluvalinat ve kumafos toksisitesinin arttığını bildirmişlerdir.

Sonuç

Dünyada sebebi açıklanamayan bal arısı koloni kaybı devam etmektedir. Bal arısı kolonilerinde meydana gelen azalma, sadece çiftçileri ve tarım sektörünü değil aynı zamanda tüketicileri ve şirketleri de etkileyen yaygın etkisi yüksek bir problemdir. Yapılan çalışmalarla, tarımsal üretimde ürün miktarı ve kalitesinin artırılmasında kullanılan insektisitlerin bal arılarına ve diğer canlılara verdiği zararın göz ardı edilemez boyutta olduğu gösterilmiştir.

Son zamanlarda araştırmacılar, insektisit uygulamaları ile bal arısı koloni kayıpları arasındaki ilişkiye odaklanmıştır. Fakat insektisitlerin bal arıları üzerindeki etkilerini araştırmaya yönelik yapılan çalışmalarda kullanılan insektisit dozları ile arazilerde maruz kalınan dozlar arasında farklılıklar olabilmektedir ve bu da yanıltıcı sonuçlar verebilir. İnsektisitlerin gerçek etkisinin ortaya çıkarılması açısından çalışmalar bu açıdan tekrar irdelenmelidir. Bunun yanında koloni çökme bozukluğunun en büyük sebebi olarak gösterilen bal arısı ektoparaziti *Varroa destructor*'u kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan pestisitlerin de bal arısı sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yarattığı bilinmektedir (Boncristiani ve ark., 2012). Genel olarak, bal arısı kolonilerinde bulunan en yüksek pestisit kalıntıları, arıcalar tarafından *Varroa* istilasının etkilerini azaltmak amacıyla kasıtlı olarak kovanlara sokulan kimyasallardır (Johnson ve ark., 2010; Mullin ve ark., 2010). Bu durumda, *Varroa* ile mücadelede kovanlarda pestisit kullanımı yerine bal arısı davranışsal

direnc ve tolerans mekanizmalarına yönelik çalışmaların teşvik edilmesi gerekmektedir.

Bal arılarının karşı karşıya kaldığı koloni kaybı ve bu kaybın ekolojik organizasyonlara etkisi, insektisit kullanımının kontrol altına alınarak azaltılması ve hatta arıların hayatını tehdit eden neonicotinoid sınıfı insektisitlerin yasaklanması için ikna edici seviyelerdedir.

Kaynaklar

- Alaux C, Brunet JL, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M. et al., 2010. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental microbiology*, 12(3): 774-782. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x
- Boncristiani H, Underwood R, Schwarz R, Evans JD, Pettis J, Vanengelsdorp D. 2012. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology*, 58: 613-620. doi: 10.1016/j.jinsphys.2011.12.011
- Brown MJ, Dicks LV, Paxton RJ, Baldock KC, Barron, AB, Chauzat MP et al., 2016. A horizon scan of future threats and opportunities for pollinators and pollination. *PeerJ*, doi: https://doi.org/10.7717/peerj.2249
- Chmiel JA, Daisley BA, Pitek AP, Thompson GJ, Reid G. 2020. Understanding the Effects of Sublethal Pesticide Exposure on Honey Bees: A Role for Probiotics as Mediators of Environmental Stress. *Frontiers in Ecology and Evolution*, doi: https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00022
- Claudianos C, Ranson H, Johnson RM, Biswas S, Schuler MA, Berenbaum MR et al., 2006. A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect molecular biology*, 15(5): 615-636. doi: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x
- Costa LG, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A. 2008. Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience*, 13(4): 1240-1249. doi: 10.2741/2758
- David A, Botias C, Abdul-Sada A, Nicholls E, Rotheray EL, Hill EM, Goulson D. 2016. Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. *Environment International*, 88: 169-178. doi: 10.1016/j.envint.2015.12.011

- Decourtye A, Devillers J, Genecque E, Le Menach K, Budzinski H, Cluzeau S, Pham-Delegue MH. 2005. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2): 242-250. doi: 10.1007/s00244-003-0262-7
- Eiri DM, Nieh JC. 2012. A nicotinic acetylcholine receptor agonist affects honey bee sucrose responsiveness and decreases waggle dancing. *Journal of Experimental Biology*, 215(12): 2022-2029. doi: 10.1242/jeb.068718
- Forfert N, Troxler A, Retschnig G, Gauthier L, Straub L, Moritz RF, et al., 2017. Neonicotinoid pesticides can reduce honeybee colony genetic diversity. *PloS one*, doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186109
- Giray T, Cakmak I, Aydin L, Kandemir I, Inci A, Oskay D, Doke MA, Kence M, Kence A. 2007. Preliminary survey results on 2006-2007 colony losses in Turkey. *Uludag Bee Journal*, 7: 101-107.
- Godfray HCJ, Blacquiere T, Field LM, Hails RS, Petrokofsky G, Potts SG et al., 2014. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, doi: https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0558
- Gregorc A, Alburaki M, Rinderer N, Sampson B, Knight PR, Karim S, Adamczyk J. 2018. Effects of coumaphos and imidacloprid on honey bee (Hymenoptera: Apidae) lifespan and antioxidant gene regulations in laboratory experiments. *Scientific reports*, 8(1): 1-13. doi: 10.1038/s41598-018-33348-4
- Hagopian J. 2016. Death and Extinction of the Bees. *Global Research: Centre for Research on Globalization*. Available from: <http://www.globalresearch.ca/death-and-extinction-of-the-bees/5375684> [Accessed 15 October 2020].
- Henry M, Beguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P et al. 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*, 336(6079): 348-350. doi: 10.1126/science.1215039
- Johnson RM, Dahlgren L, Siegfried BD, Ellis MD. 2013. Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). *PloS one*, doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054092
- Johnson RM, Ellis MD, Mullin CA Frazier M. 2010. Pesticides and honey bee toxicity—USA. *Apidologie* 41: 312–331. doi: 10.1051/apido/2010018
- Klein S, Cabirol A, Devaud JM, Barron AB, Lihoreau M. 2017. Why bees are so vulnerable to environmental stressors. *Trends in Ecology and Evolution*, 32: 268–278. doi: 10.1016/j.tree.2016.12.009
- Kuhar TP, Kamminga K, Philips C, Wallingford A, Wimer A. 2012. Chemical control of potato pests. In: Alyokhin A, Vincent C, Giordanengo P (editors). *Insect Pests of Potato: Global Perspectives on Biology and Management*. Academic Press, Elsevier. pp. 375-397. ISBN: 978-0-12-386895-4 (Print) 9780123868961 (Online).
- Mitchell EA, Mulhauser B, Mulot M, Mutabazi A, Glauser G, Aebi A. 2017. A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Science*, 358(6359): 109-111. doi: 10.1126/science.aan3684
- Morfin N, Goodwin PH, Correa-Benitez A, Guzman-Novoa E. 2019. Sublethal exposure to clothianidin during the larval stage causes long-term impairment of hygienic and foraging behaviours of honey bees. *Apidologie*, 50(5): 595-605. doi: 10.1007/s13592-019-00672-1ff
- Morfin N, Goodwin PH, Hunt GJ, Guzman-Novoa E. 2019. Effects of sublethal doses of clothianidin and/or V. destructor on honey bee (*Apis mellifera*) self-grooming behavior and associated gene expression. *Scientific reports*, 9(1): 1-10. doi: 10.1038/s41598-019-41365-0
- Morse RA, Calderone NW. 2000. The value of honey bee pollination in the United States. *Bee Culture*, 128: 1–15.
- Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, Pettis JS. 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PloS one*, doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754
- Neumann P, Carreck NL. 2010. Honey bee colony losses. *Journal of Apicultural Research*, 49: 1-6. doi:10.3896/IBRA.1.49.1.01
- Oliver CJ, Softley S, Williamson SM, Stevenson PC, Wright GA. 2015. Pyrethroids and nectar toxins have subtle effects on the motor function, grooming and wing fanning behaviour of honeybees (*Apis mellifera*). *PloS one*, doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133733
- Pettis JS, Van Engelsdorp D, Johnson J, Dively G. 2012. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*, 99: 153-158.
- Pitman RM. 1971. Transmitter substances in insects: a review. *Comparative and General Pharmacology*, 2(7): 347-371. doi: 10.1016/0010-4035(71)90060-7
- Potts SG, Imperatriz-Fonseca V, Ngo HT, Aizen MA, Biesmeijer JC, Breeze TD et al. 2016. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*, 540(7632): 220. doi: 10.1038/nature20588
- Scharf ME. 2008. Neurological effects of insecticides and the insect nervous system. In: Capinera JL (editor) *Encyclopedia of entomology*. NY, Springer. pp. 2596-2607. ISBN: 978-1-4020-6242-1 (Print) 978-1-4020-6359-6 (Online).
- Schricker B, Stephen WP. 1970. The effects of sublethal doses of parathion on honeybee behaviour. I. Oral administration and the communication dance. *Journal of Agricultural Research*, 9:141-153. doi: 10.1080/00218839.1970.11100261
- Siviter H, Koricheva J, Brown MJ, Leadbeater E. 2018. Quantifying the impact of pesticides on learning and memory in bees. *Journal of Applied Ecology*, 55(6): 2812-2821. doi: 10.1111/1365-2664.13193
- T O'Neal S, Anderson TD, Wu-Smart JY. 2018. Interactions between pesticides and pathogen susceptibility in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 26: 57-62. doi: 10.1016/j.cois.2018.01.006
- Tan K, Wang C, Dong S, Li X, Nieh JC. 2017. The pesticide flupyradifurone impairs olfactory learning in Asian honey bees (*Apis cerana*) exposed as larvae or as adults. *Scientific Reports*, 7(1): 1-9. doi: 10.1038/s41598-017-18060-z
- Underwood RM, Vanengelsdorp D. 2007. Colony Collapse Disorder: Have We Seen This Before? *Bee Culture*, 35: 13–18.
- Vanengelsdorp D, Traynor KS, Andree M, Lichtenberg EM, Chen Y, Saegerman C, Cox-Foster DL. 2017. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. *PLoS ONE*, doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179535
- Vandame R, Meled M, Colin ME, Belzunces L. 1995. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14: 855-860. doi: 10.1002/etc.5620140517
- Williams GR, Troxler A, Retschnig G, Roth K, Yañez O, Shutler D et al. 2015. Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens. *Scientific Reports*, doi: https://doi.org/10.1038/srep14621
- Woodcock BA, Isaac NJ, Bullock JM, Roy DB, Garthwaite DG, Crowe A, Pywell, RF. 2016. Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. *Nature Communications*, 7(1): 1-8. doi: 10.1038/ncomms12459
- Wright GA, Softley S, Earnshaw H. 2015. Low doses of neonicotinoid pesticides in food rewards impair short-term olfactory memory in foraging-age honeybees. *Scientific Reports*, DOI: https://doi.org/10.1038/srep15322
- Wu-Smart J, Spivak M. 2016. Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. *Scientific Reports*, doi: https://doi.org/10.1038/srep32108