

**Wirkungen des Insektizids Thiacloprid auf das  
Flug- und Brutpflegeverhalten sowie die  
Volksentwicklung von Honigbienen  
(*Apis mellifera*)**

**Dissertation zur Erlangung des  
Doktorgrades der Naturwissenschaften**

vorgelegt beim Fachbereich Biowissenschaften  
der Johann Wolfgang Goethe - Universität  
in Frankfurt am Main

von  
**Lena Faust**  
aus Hünfeld

Frankfurt am Main 2015

(D30)

Vom Fachbereich Biowissenschaften der  
Johann Wolfgang Goethe - Universität als Dissertation angenommen.

Dekanin: Prof. Dr. Meike Piepenbring

Gutachter: Prof. Dr. Bernd Grünewald  
Prof. Dr. Manfred Kössl

Datum der Disputation: 26. Januar 2016

---

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis .....	5
Tabellenverzeichnis .....	7
Zusammenfassung .....	9
1 Allgemeine Einleitung .....	11
1.1 Honigbienen.....	12
1.2 Sammelverhalten.....	13
1.3 Orientierungsvermögen.....	14
1.4 Orientierungsflüge .....	14
1.5 Insektizide .....	15
1.6 Thiaclopid .....	18
1.7 RFID-Methode.....	19
2 Untersuchungen zur Auswirkungen von Thiaclopid auf Bienenvölker unter praxisnahen Bedingungen .....	21
2.1 Einleitung .....	21
2.2 Material und Methoden .....	23
2.2.1 Standort .....	23
2.2.2 Versuchsdurchführung .....	23
2.2.3 Populationsschätzung nach der Liebefelder Schätzmethode .....	24
2.2.4 Bienenmortalität .....	25
2.2.5 Befall durch <i>Varroa destructor</i> .....	25
2.2.6 Auswertung und Statistik .....	25
2.3 Ergebnisse.....	26
2.3.1 Rückstandsanalysen .....	26
2.3.2 Populationsschätzungen.....	27
2.3.2.1 Erstes Versuchsjahr (2011 – 2012).....	28
2.3.2.2 Zweites Versuchsjahr (2012 – 2013).....	30
2.3.2.3 Drittes Versuchsjahr (2013 – 2014) .....	32
2.3.3 Gewichtsentwicklung .....	35
2.3.4 Bienenmortalität .....	36
2.3.5 Befall durch <i>Varroa destructor</i> .....	38
2.4 Diskussion .....	39

---

2.4.1	Rückstandsanalysen .....	39
2.4.2	Populationsschätzungen.....	40
2.4.3	Gewichtsentwicklung .....	41
2.4.4	Bienenmortalität .....	42
2.4.5	Befall durch <i>Varroa destructor</i> .....	43
3	Versuche mit kleinen Bienenvölkern in Mini-Plus-Beuten .....	45
3.1	Methoden .....	45
3.1.1	Bienenvölker und Standortbedingungen .....	45
3.1.2	Futter .....	46
3.1.3	Rückstandsanalysen .....	46
3.1.4	RFID-Methode .....	47
3.1.5	Fehlerrate der Scanner .....	48
3.1.6	Datenauswertung .....	49
4	Brutentwicklung unter chronischer Fütterung von Bienenvölkern mit Thiacloprid .....	50
4.1	Einleitung .....	50
4.2	Material und Methoden .....	52
4.2.1	Versuchsaufbau .....	52
4.3	Ergebnisse .....	53
4.3.1	Entwicklung der Brut in Kontrollvölkern und Versuchsvölkern .....	53
4.3.2	Rückstandsanalysen .....	56
4.4	Diskussion .....	59
5	Auswirkungen von chronischer Fütterung mit Thiacloprid auf den Zeitpunkt des ersten Ausflugs und die Lebensdauer von Honigbienen .....	65
5.1	Einleitung .....	65
5.2	Material und Methoden .....	66
5.2.1	Erster Versuchsdurchlauf .....	66
5.2.2	Zweiter Versuchsdurchlauf.....	67
5.2.3	Dritter Versuchsdurchlauf .....	67
5.3	Ergebnisse .....	68
5.3.1	Fehlerrate der Scanner .....	68
5.3.2	Erster Versuchsdurchlauf .....	69
5.3.2.1	Rückstandsanalysen Futterproben.....	69
5.3.2.2	Markierte und registrierte Bienen .....	69

---

5.3.2.3	Alter beim ersten Ausflug.....	70
5.3.2.4	Lebensdauer .....	72
5.3.2.5	Populationsschätzung 2012.....	74
5.3.3	Zweiter Versuchsdurchlauf.....	77
5.3.3.1	Rückstandsanalysen .....	77
5.3.3.2	Anzahl registrierter Bienen pro Volk .....	77
5.3.3.3	Alter beim ersten Flug .....	78
5.3.3.4	Lebensdauer .....	79
5.3.4	Dritter Versuchsdurchlauf .....	80
5.3.4.1	Alter beim ersten Flug .....	81
5.3.4.2	Lebensdauer .....	82
5.3.4.3	Populationsschätzung in den Ursprungsvölkern (Flugzelt).....	85
5.3.4.4	Rückstandsanalysen .....	86
5.4	Diskussion .....	88
5.4.1	Verlustrate an Bienen vor der ersten Registrierung am Scanner .....	88
5.4.2	Alter der Bienen beim ersten Ausflug .....	89
5.4.3	Lebensdauer .....	91
5.4.4	Populationsschätzungen.....	93
6	Auswirkung einer subletalen Dosis Thiacloprid auf das Heimkehrvermögen von Honigbienen.....	96
6.1	Einleitung .....	96
6.2	Material und Methoden .....	97
6.2.1	Versuchsdurchlauf .....	97
6.2.2	Auflassorte.....	98
6.3	Ergebnisse.....	100
6.3.1	Erster Versuchsdurchlauf .....	100
6.3.1.1	Heimkehrrate.....	100
6.3.1.2	Heimkehrdauer.....	101
6.3.2	Zweiter Versuchsdurchlauf.....	102
6.3.2.1	Heimkehrrate.....	103
6.3.2.2	Heimkehrdauer.....	105
6.4	Diskussion .....	108
7	Allgemeine Diskussion .....	116
7.1	Rückstandsanalysen.....	116

---

7.2 Die Wirkung von Thiacloprid auf Einzelbienen und Bienenvölker .....	120
Fazit.....	123
Literatur.....	124
Anhang.....	136
Erklärung.....	149

---

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Populationsschätzung erstes Versuchsjahr (2011-2012).....	28
Abbildung 2: Populationsschätzung zweites Versuchsjahr (2012-2013). ....	30
Abbildung 3: Populationsschätzung drittes Versuchsjahr (2013-2014).....	32
Abbildung 4: Monatliche Durchschnittstemperatur. ....	34
Abbildung 5: Gewichtsentwicklung der Völker von Herbst bis Frühjahr. ....	35
Abbildung 6: Regelmäßige Zählung der toten Bienen.....	36
Abbildung 7: Zählung der toten Bienen in den Fluglochfallen. ....	37
Abbildung 8: Mittlere Anzahl Milben pro 1000 g Bienen.....	38
Abbildung 9: Plexiglas® Tunnel mit Metalltunneln und RFID-Scannern. ....	47
Abbildung 10: Biene mit Chip. ....	48
Abbildung 11: Durchgang im Metalltunnel mit Metalldrähten. ....	49
Abbildung 12: Fotografie einer Brutwabe im Versuchsvolk T2 am 6. Versuchstag. ....	54
Abbildung 13: Entwicklung der Bienenbrut in Kontrollvölkern (K) und Versuchsvölkern (T). .....	55
Abbildung 14: Alter der Bienen in den Originalvölkern bei ihrem ersten Ausflug aus dem Bienenstock. ....	71
Abbildung 15: Alter der Bienen im Adoptivvolk bei ihrem ersten Ausflug aus dem Bienenstock. ....	72
Abbildung 16: Lebensdauer der Bienen in den Originalvölkern. ....	73
Abbildung 17: Lebensdauer der Bienen im Adoptivvolk. ....	74
Abbildung 18: Anzahl der Bienen und Brutzellen pro Volk. ....	75
Abbildung 19: Anteil an offenen Brutzellen [%] der gesamten Brutzellen pro Volk.....	76
Abbildung 20: Alter beim ersten Ausflug. ....	78
Abbildung 21: Überlebensdauer. ....	79
Abbildung 22: Volk A1 - Alter beim ersten Flug. ....	81
Abbildung 23: Volk A2 - Alter beim ersten Flug. ....	82
Abbildung 24: Volk A1 – Lebensdauer.....	83
Abbildung 25: Volk A2 – Lebensdauer.....	84
Abbildung 26: Populationsschätzung an den 4 Mini-Plus-Völkern im Flugzelt (Kontrolle und 5000 ppb Thiacloprid). ....	85

---

Abbildung 27: Auflassorte. ....	99
Abbildung 28: Rückkehrate: Heimkehrende Bienen am Tag des Auflassens. ....	101
Abbildung 29: Heimkehrdauer am Tag des Auflassens. ....	102
Abbildung 30: Anteil der am Tag des Auflassens vom Standort „Wiese“ zurückgekehrten Bienen.....	104
Abbildung 31: Anteil der Bienen die am Tag des Auflassens vom Standort „Wald“ zurückkehrten.....	105
Abbildung 32: Heimkehrdauer Wiese. Nur Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind.....	106
Abbildung 33: Heimkehrdauer Wald. Nur Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind.....	107
Abbildung 34: Regelmäßige Zählung der toten Bienen im zweiten Versuchsjahr (2012-2013).....	137
Abbildung 35: Regelmäßige Zählung der toten Bienen im dritten Versuchsjahr (2013-2014).....	137
Abbildung 36: Temperaturkurven Mai bis August 2012. ....	146
Abbildung 37: Temperaturkurven Mai bis September 2013.....	146
Abbildung 38: Temperaturkurven September bis November 2014.....	147

---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Rückstandsanalysen.....	26
Tabelle 2: Signifikanzwerte Bienen und Brutzellen 2011-2012.....	29
Tabelle 3: Signifikanzwerte Bienen und Brutzellen 2012-2013.....	31
Tabelle 4: Signifikanzwerte Bienen und Brutzellen 2013-2014.....	33
Tabelle 5: Verdeckelte Brutwaben [%].....	56
Tabelle 6: Rückstandsanalysen vom ersten Versuchsdurchlauf. ....	57
Tabelle 7: Rückstandsanalysen vom zweiten Versuchsdurchlauf. ....	58
Tabelle 8: Beobachtung der ausfliegenden und heimkehrenden Bienen im Tunnel.....	68
Tabelle 9: Analysewerte der Proben von angesetztem und vom Volk eingelagertem Futter. .....	69
Tabelle 10: Anzahl der markierten und davon registrierten Bienen.....	70
Tabelle 11: Analysewerte von Proben des angesetzten Futters. ....	77
Tabelle 12: Anzahl und Aufteilung der RFID-markierten Bienen auf die Adoptivvölker.....	78
Tabelle 13: Anzahl an mit RFID-Chips markierten Bienen sowie Anzahl von Bienen, die an den Scannern registriert wurden. ....	80
Tabelle 14: Rückstandsanalysen.....	86
Tabelle 15: Rückstandsanalysen.....	87
Tabelle 16: Zahlen der RFID-markierten und registrierten Bienen.....	100
Tabelle 17: Anzahl aufgelassene Bienen .....	103
Tabelle 18: Standardabweichungen zu den Mittleren Gewichten pro Gruppe und Messtermin (Abbildung 5).....	136
Tabelle 19: Standardabweichungen für den Verlauf der gezählten toten Bienen im ersten Versuchsdurchlauf (2011-2012) (Abbildung 7). ....	137
Tabelle 20: Standardabweichungen für den Verlauf der gezählten toten Bienen im zweiten Versuchsdurchlauf (2012-2013) (Abbildung 34). ....	139
Tabelle 21: Standardabweichungen für den Verlauf der gezählten toten Bienen im dritten Versuchsdurchlauf (2013-2014) (Abbildung 35). ....	140
Tabelle 22: Statistik zum Befall der Völker durch die Milbe <i>Varroa destructor</i> .....	142
Tabelle 23: Signifikanzwerte zum Alter der Bienen beim ersten Ausflug im ersten Versuchsdurchlauf (2012). ....	143

---

Tabelle 24: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen im ersten Versuchsjahr (2012). .....	143
Tabelle 25: Signifikanzwerte zum Alter beim ersten Ausflug im zweiten Versuchsjahr (2013).....	144
Tabelle 26: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen im zweiten Versuchsjahr (2013). .....	144
Tabelle 28: Signifikanzwerte zum Alter der Bienen beim ersten Ausflug aus dem Adoptivvolk A1 in 2014.....	145
Tabelle 29: Signifikanzwerte zum Alter der Bienen beim ersten Ausflug aus dem Adoptivvolk A2 in 2014.....	145
Tabelle 30: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen aus dem Adoptivvolk A1 in 2014. .....	145
Tabelle 31: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen aus dem Adoptivvolk A2 in 2014. .....	146
Tabelle 32: Signifikanzwerte zur Heimkehrdauer im ersten Versuchsdurchlauf. ....	147
Tabelle 33: Signifikanzwerte Heimkehrdauer Wiese, Vergleich Kontrolle gegen Thiaclopid. .....	147
Tabelle 34: Signifikanzwerte Heimkehrdauer Wald, Vergleich Kontrolle gegen Thiaclopid. .....	147
Tabelle 35: Signifikanzwerte zur Heimkehrdauer nach verschiedenen zeitlichen Abständen vom Auflassort Wiese.....	148
Tabelle 36: Statistik zur Heimkehrdauer nach verschiedenen zeitlichen Abständen vom Auflassort Wald. ....	148

---

## Zusammenfassung

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss sowohl akuter als auch chronischer Aufnahme subletaler Mengen des Insektizids Thiacloprid auf Einzelbienen und Bienenvölker untersucht. Anlass für diese Art an Untersuchungen gibt ein seit Jahren in Nordamerika und Europa auftretendes unerklärliches Phänomen, „Colony Collapse Disorder“ genannt, bei dem Bienenvölker durch einen plötzlichen Verlust der Flugbienen zusammenbrechen. Als Ursache für das Völkersterben stehen neben anderen Faktoren wie Parasiten, Pathogenen und Umweltfaktoren die Insektizide aus der Gruppe der Neonikotinoide und deren Auswirkungen auf Bienen in subletalen Mengen im Verdacht. Basierend auf Studien der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) wurde der zugelassene Einsatz der drei Neonikotinoide Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam im Pflanzenschutz für zunächst zwei Jahre durch die EU-Kommission stark eingeschränkt.

Thiacloprid, ein weiteres Insektizid, welches zur Gruppe der Neonikotinoide gehört, ist weiterhin für den Einsatz im Pflanzenschutz zugelassen. Es wirkt in ähnlicher Weise wie die zuvor genannten Neonikotinoide als Agonist am nikotinischen Acetylcholinrezeptor, wobei es jedoch als weniger toxisch für Bienen gilt. Trotzdem sind subletale Auswirkungen dieses Neonikotinoids auf Bienen denkbar, die sich in Verhaltensänderungen der Bienen äußern und als Folge Einfluss auf das gesamte Bienenvolk nehmen könnten.

In der hier vorliegenden Arbeit wurden in chronisch mit Thiacloprid eingefütterten Völkern über mehrere Monate regelmäßige Populationsschätzungen durchgeführt, um die Entwicklung der Bienenvölker unter Aufnahme von Thiacloprid festzustellen. In einem weiteren Versuch wurde die Entwicklung der Brut unter chronischer Fütterung mit Thiacloprid beobachtet. Zusätzlich wurde eine große Zahl an Bienen mit RFID-Transpondern ausgestattet, um das Flugverhalten zu dokumentieren. Insbesondere wurden hier der Zeitpunkt des ersten Ausflugs und die Lebensdauer der Bienen zu Vergleichen herangezogen. Nach akuter Fütterung einer subletalen Einzeldosis Thiacloprid wurden Versuche zum Heimkehrvermögen von Bienen durchgeführt.

Unter feldrelevanten und bis zu zehnfach höheren Thiacloprid-Konzentrationen wurden keine beeinträchtigenden Einflüsse auf die Volksentwicklung beobachtet. Bei

---

Konzentrationen, die um ein 25faches bzw. ein 40faches höher als die feldrelevante Konzentration waren, wurde festgestellt, dass die Brutzellenanzahl im Verhältnis zur Bienenanzahl verringert war. Bienen aus chronisch mit Thiacloprid eingefütterten Völkern starteten mit höherem Alter zu ihrem ersten Flug aus dem Bienenstock. Die Zeit, die die Bienen als Sammlerinnen verbrachten, änderte sich nicht. Durch Beobachtungen der Brutflächen konnte festgestellt werden, dass sich die Brut in Thiacloprid-gefütterten Völkern entsprechend der Brut in Kontrollvölkern entwickelte. Aufgrund weiterer Ergebnisse wurde eine Störung der olfaktorischen Wahrnehmung von Bienen aus Thiacloprid-gefütterten Völkern vermutet. Die akut verabreichte subletale Dosis an Thiacloprid führte zu einem erheblichen Verlust an heimkehrenden Bienen und deutet auf eine Beeinträchtigung des Orientierungs- bzw. Navigationsvermögens der Bienen hin.

In den durchgeführten Versuchen wurden sowohl direkte Auswirkungen von chronischer und akuter Aufnahme sublethaler Mengen an Thiacloprid, als auch indirekte Auswirkungen auf Honigbienen beobachtet. Da teilweise erst bei hohen, nicht feldrelevanten Konzentrationen in den Versuchen Effekte beobachtet wurden, kann nur bedingt durch die Verhaltensänderung von Einzelbienen auf daraus resultierende Auswirkungen auf ein gesamtes Bienenvolk unter realistischen Bedingungen geschlossen werden.

---

## 1 Allgemeine Einleitung

Für die Bestäubung vieler Pflanzenarten, die einen Großteil unserer Ernährung ausmachen, spielen neben anderen Insekten wie Wildbienen, Hummeln oder Schmetterlingen die Honigbienen eine sehr wichtige Rolle (Klein et al. 2007). Zum Schutz dieser Pflanzen vor Schädlingen wie beißenden und saugenden Insekten werden Insektizide als Saatgutbeize oder Spritzmittel eingesetzt. Seit mehreren Jahren wird in Europa und Nordamerika ein Zusammenbrechen von Bienenvölkern, „Colony Collapse Disorder“ (vanEngelsdorp 2007), beobachtet. Hierfür können viele verschiedene Faktoren, wie beispielsweise Parasiten und Pathogene, Umweltfaktoren, Pestizide oder der Ernährungszustand eines Volkes eine Rolle spielen (vanEngelsdorp und Meixner 2010, Stavely et al. 2014). Besonders Insektizide aus der Gruppe der Neonikotinoide stehen im Verdacht, den Zusammenbruch von Bienenvölkern und eine Verringerung der Populationen bestäubender Insektenarten zu bedingen. Im Jahr 2008 verursachte die Ausbringung von Maissaat durch eine schlechte Haftfestigkeit des Beizmittels Clothianidin, einem Neonikotinoid, ein Massensterben von Bienenvölkern im Oberrheintalgraben (Bayern, Baden-Württemberg). Nachdem die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit Studien zur Wirkung von subletalen Mengen an Neonikotinoiden auf Bienen durchgeführt hat, schränkte die Europäische Kommission im Jahr 2013 den Einsatz von drei Neonikotinoiden für zwei Jahre stark ein (Durchführungsverordnung (EU) Nr. 485/2013, EFSA 2012). Thiacloprid, ein weiteres Insektizid aus der Gruppe der Neonikotinoide, ist weiterhin zum Einsatz im Pflanzenschutz zugelassen. Es gilt als geringer toxisch für Bienen als die zurzeit nur eingeschränkt zugelassenen Neonikotinoide. Dennoch besteht die Möglichkeit, dass subletale Mengen an Thiacloprid Auswirkungen auf Bienen und Bienenvölker haben können. Deshalb wurden im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit Untersuchungen mit subletalen Mengen an Thiacloprid durchgeführt, die Antworten auf die Fragen geben sollten, wie diese sich auf das Ausflugverhalten und die Lebensdauer von Einzelbienen sowie auf die Entwicklung von Bienenvölkern auswirken.

## 1.1 Honigbienen

Honigbienen sind staatenbildende Insekten. In der Imkerei können Bienenvölker im Sommer bis zu 50.000 Bienen beinhalten. Ein Bienenvolk besteht aus einer Königin und ihrem Hofstaat, der von den Arbeiterbienen gebildet wird. Über den Sommer leben auch die männlichen Bienen, die Drohnen, im Bienenstock. Die Drohnen sind für die Begattung der Bienenköniginnen im Sommer zuständig, im Herbst werden sie von den Arbeiterinnen aus dem Stock vertrieben. Erst im Frühjahr gibt es wieder neue Drohnenbrut. Während die Königin täglich mit der Eiablage beschäftigt ist, übernehmen die Arbeiterinnen alle weiteren Aufgaben im Bienenstock. Im Laufe ihres Lebens führt eine Arbeiterin viele unterschiedliche Aufgaben durch. Die ersten zwei bis drei Wochen verbringt eine Arbeiterbiene mit Arbeiten innerhalb des Bienenstockes, die folgenden ein bis drei Wochen mit Arbeiten außerhalb des Stockes (Robinson 1992). Nach Rösch (1930) beginnt eine frisch geschlüpfte Biene meist damit, Brutwaben zu putzen und die Brut zu wärmen. Nach einigen Tagen folgt die Tätigkeit als Ammenbiene und damit die Aufgabe zur Fütterung der Bienenlarven. Im darauffolgenden Lebensabschnitt nimmt sie Nektar und Pollen von Sammlerbienen entgegen und lagert diese in die Waben ein. Nachdem der Biene als Wächterin die Aufgabe des Bewachens des Stockeingangs zukam, startet sie zu den ersten Sammelflügen. Den Rest ihres Lebens verbringt sie mit dem Sammeln von Pollen oder Nektar, bis sie nach 3 bis 8 Wochen stirbt (Winston 1987; Omholt und Amdam 2004). Diese Angabe bezieht sich auf Bienen, die zwischen frühem Frühjahr und spätem Sommer leben (Sommerbienen). Im Zeitraum vom frühen Herbst bis späten Winter dagegen können Arbeiterinnen bis zu 6 Monate lang leben (Winterbienen).

Der hier dargestellte Entwicklungsverlauf einer Arbeiterbiene resultiert aus altersabhängigen, hormonell regulierten Prozessen (Robinson et al. 1989, Chang et al. 2015). Der tatsächliche Verlauf der Aufgabenübernahme kann jedoch erheblich von diesem Schema abweichen und hängt von weiteren unterschiedlichen Umständen ab (Lindauer 1952).

So können genetische Faktoren Einflüsse darauf haben, welche Aufgaben die Arbeiterbienen bevorzugt übernehmen, ob sie sich zum Beispiel auf das Sammeln von Nektar, oder aber auf das Sammeln von Pollen spezialisieren (Page und Robinson 1991). Ebenfalls reagieren Bienen sehr sensibel auf ihr soziales Umfeld. Im Falle des Fehlens von

Sammlerbienen im Volk können bereits junge, wenige Tage alte Bienen zu Sammlerinnen werden (Robinson et al. 1989). Untersuchungen haben gezeigt, dass sich Bienen, die einem bestimmtem Genotyp zuzuordnen sind, schneller zu Sammlerinnen entwickeln, beziehungsweise früher als Sammlerinnen ausfliegen, als Bienen eines anderen Genotyps (Guzman-Novoa et al. 1994). Zudem hat das Bedürfnis des Volkes einen Einfluss auf die Tätigkeit der Arbeiterinnen. Mangelt es an Arbeitsgelegenheiten im Inneren des Bienenstocks, oder sind die Futterreserven knapp, können Bienen auch schon sehr früh mit der Tätigkeit als Sammlerbiene beginnen (Lindauer 1952). Die Einflüsse auf die Arbeitsaufteilung im Bienenvolk sind vielfältig und noch lange nicht endgültig erforscht.

### **1.2 Sammelverhalten**

Um den Bedarf des Bienenvolkes an Nektar und Pollen zu decken, sammeln die Bienen im Umkreis ihres Bienenstocks. Die meisten Sammlerinnen (95%) fliegen auf der Suche nach Nahrung innerhalb eines Radius von 6 km um den Bienenstock. Wenige entfernen sich jedoch bis zu 10 km; die während eines Sammelflugs zurückgelegte Strecke beträgt im Mittel 2,2 km (Visscher und Seeley, 1982). Pro Sammelflug transportieren die Bienen im Mittel 15 mg Pollen oder 40 mg Nektar (Winston 1987). Der Großteil der Bienen ist entweder auf das Sammeln von Pollen (25 % aller Sammlerinnen), oder aber auf das Sammeln von Nektar (58 % der Sammlerinnen) spezialisiert (Parker 1926, Free 1960b, zitiert nach Winston 1987). Nur 17 % der Bienen sammeln während ihrer Tätigkeit als Sammlerbiene sowohl Pollen als auch Nektar. Zudem zeigen sammelnde Bienen ein blütenbeständiges Verhalten. Sie sammeln so lange Nektar bzw. Pollen derselben Pflanzenart, bis die Ressource erschöpft ist (Free 1963). Um neue Nahrungsquellen ausfindig zu machen, fliegen einige Bienen als Kundschafter aus. Informationen über eine ergiebige Nektarquelle geben sie nach ihrer Rückkehr an andere Sammlerinnen im Bienenstock weiter (Seeley 1983). Hierfür präsentieren sie Tröpfchen des gesammelten Nektars und geben über gerichtete Bewegungen auf der Wabe, den sogenannten Schwänzeltanz, die Entfernung und Richtung der Nahrungsquelle an (von Frisch 1965).

### **1.3 Orientierungsvermögen**

Aus dem Stock ausfliegende Bienen müssen sich in ihrer Umgebung orientieren können, um Futterquellen und den Rückweg zum Bienenstock zu finden (von Frisch, 1965).

Für die Orientierung und Navigation nutzen sie drei unterschiedliche Komponenten. Mit Hilfe des Sonnenkompasses können sie Himmelsrichtungen bestimmen, über den optischen Fluss nehmen sie Distanzen wahr und anhand von Landmarken können sie räumlich navigieren (von Frisch, 1965; Srinivasan et al. 1996; Collett et al. 2002).

Bienen orientieren sich nicht nur am Stand der Sonne, sondern sind dazu in der Lage, ihre Abflugrichtung je nach Tageszeit an den Verlauf des Sonnenstands am Himmel anzupassen. Auch ohne direkten Blick auf die Sonne können sich die Bienen orientieren. Sie besitzen die Fähigkeit, die vom Sonnenstand abhängigen Schwingungen des polarisierten blauen Himmelslichts wahrzunehmen (von Frisch 1949).

Die Orientierung am Stand der Sonne ist besonders wichtig für die Kommunikation der Bienen untereinander. So können Informationen zu vorhandenen Futterquellen an andere Bienen weitergegeben werden. Bei geschlossener Wolkendecke kann kein polarisiertes Licht wahrgenommen werden. In diesem Fall wie auch zur Orientierung auf den Flügen selbst und zum Wiederfinden von bekannten Futterquellen und dem Bienenstock nutzen die Bienen zusätzlich das Vorkommen von Landmarken (Dyer und Gould 1983).

Als Landmarken dienen den Bienen markante Punkte im Gelände, z.B. Waldränder, Ufer von Gewässern, Straßen und auch einzelne Häuser oder Bäume. Auffällige Landmarken wie Berge oder große Baumreihen dienen den Bienen besonders, wenn sie sich zu weit entfernten Zielen orientieren (von Frisch, 1965). In diesem Fall werden auffällige Landmarken zur Orientierung dem Sonnenstand vorgezogen. Sofern die Sonne scheint beziehungsweise die Bienen das Sonnenlicht wahrnehmen können, werden allerdings kleine Landmarken wie beispielsweise einzelne Bäume nicht zur Orientierung genutzt.

### **1.4 Orientierungsflüge**

Die ersten Flüge, die Honigbienen unternehmen, dienen noch nicht dem Sammeln von Nektar, Pollen oder Wasser, sondern zur Orientierung. Wenn sie zu ihrem ersten

Orientierungsflug starten, fliegen sie zunächst schwebend, mit dem Kopf zum Bienenstock gerichtet, vor dem Eingang (Vollbehr 1975; Capaldi und Dyer 1999), bis sie sich vom Bienenstock entfernen. Nach einer durchschnittlichen Dauer von 5 bis 10 Minuten kehren die Bienen von ihren Orientierungsflügen zurück (Becker 1958; Capaldi und Dyer 1999), wobei sie niemals gesammelten Pollen oder Nektar mit sich führen.

Der zweite Ausflug folgt in keinem bestimmten zeitlichen Abstand auf den ersten Orientierungsflug. Becker (1958) beobachtete sowohl Bienen, deren zweite Ausflüge kurze Zeit nach dem ersten Flug stattfanden, als auch Bienen, die erst einige Stunden oder Tage später den zweiten Flug unternahmen. Das Alter, mit dem die Bienen zum ersten Orientierungsflug starteten, variiert sehr stark. In Versuchen von Capaldi et al. (2000) lag das Durchschnittsalter bei 6 Tagen, wobei die Altersspanne von 3 Tagen bis zu 27 Tagen reichte. Auch in der Anzahl der Orientierungsflüge pro Biene wurden große Unterschiede beobachtet. So führten manche Bienen nur einen, andere bis zu 17 Orientierungsflüge durch.

Orientierungsflüge werden von jungen Bienen durchgeführt, bevor sie zu Sammlerinnen werden. Wird der Bienenstock an einen anderen Ort versetzt, führen jedoch auch ältere Sammlerinnen Orientierungsflüge durch, um sich in der neuen Umgebung des Bienenstocks zurechtzufinden (Becker 1958, von Frisch 1967, Capaldi und Dyer 1999, Capaldi et al. 2000). Menzel et al. (2005) vermuten, dass während der Orientierungsflüge ein Gedächtnis entwickelt wird, in welchem während der später folgenden Sammelphase der Bienen Informationen zu Flugrouten gespeichert werden können.

### **1.5 Insektizide**

Bienen sind maßgeblich an der Bestäubung vieler Pflanzenarten beteiligt, die für unsere Ernährung von großer Bedeutung sind (Klein et al. 2007). Um zu vermeiden, dass die wichtigen Nützlinge durch den Einsatz von insektenbekämpfenden Pflanzenschutzmitteln beeinträchtigt werden, sind auf dem Markt nur solche Mittel uneingeschränkt zugelassen, die in Zulassungsverfahren als bienenungefährlich eingestuft wurden. Das Vorgehen für Standardtests in den Zulassungsverfahren zur oralen Wirkung und Kontaktwirkung auf adulte Bienen sowie auf die Bienenbrut ist durch genaue Richtlinien vorgeschrieben (OECD 1998, OECD 2007, EPPO 2010, OECD 2013).

Insektizide werden zum Schutz von Nutzpflanzen gegen beißende und saugende Schadinsekten als Fraß-, Atem- oder Kontaktgifte eingesetzt (Bayer CropScience <https://agrar.bayer.de>). Sie können dann beispielsweise als Wachstumsregulatoren, Häutungshemmer oder Nervengifte wirken. Viele Insektizide werden entweder als Saatgutbeize eingesetzt, oder direkt während der Blüte- oder Fruchtzeit auf die Pflanze aufgebracht.

Seit 1940 lösten synthetisch hergestellte organische Insektizide wie beispielsweise Organophosphate oder Pyrethroide pflanzliche und anorganische Insektizide in der Anwendung zum Pflanzenschutz ab (Tomizawa und Casida 2005). Seit nun mehreren Jahrzehnten stellen die Neonikotinoide eine neue wichtige Gruppe der Insektizide dar und werden sehr häufig eingesetzt (Jeschke und Nauen 2008). Im Jahr 1985 wurde das im Einsatz sehr erfolgreiche Neonikotinoid Imidacloprid synthetisiert. Für drei der mittlerweile acht synthetisierten im Pflanzenschutz erfolgreich eingesetzten Neonikotinoide (Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam) wurde der Einsatz in der Saatgut- Boden- und Blattbehandlung für zwei Jahre verboten (Durchführungsverordnung (EU)). Diese Neonikotinoide stehen im Verdacht, in subletalen Mengen negative Auswirkungen auf Bienen zu haben. Fünf weitere Neonikotinoide sind derzeit zum Einsatz im Pflanzenschutz zugelassen. Hierzu gehören die Stoffe Acetamiprid, Dinotefuran, Nitenpyram, Nithiazin und Thiacloprid.

Insektizide aus der Gruppe der Neonikotinoide wirken in ähnlicher Weise wie Nikotin und stimmen in Teilen ihrer chemischen Struktur mit der des Nikotins überein (Tomizawa und Casida 2003). Sie können wie der Neurotransmitter Acetylcholin am nikotinischen Acetylcholinrezeptor binden und wirken dort je nach Wirkstoff als partieller Agonist oder als Superagonist (Matsuda 2001, Brown 2006).

Neonikotinoide wirken systemisch; sie werden über die Wurzeln oder Blätter der Pflanzen aufgenommen und verteilen sich in allen Pflanzenteilen (Thompson 2010). Rückstände von Neonikotinoiden sind auch in Pollen und Nektar nachweisbar (Rortais et al. 2005, Blacquiere et al. 2012, Pohorecka et al. 2012, Whitehorn et al. 2012). Somit kommen nicht nur Schadinsekten mit den Wirkstoffen in Kontakt, sondern auch an Pflanzen sammelnde Bestäuberinsekten wie Wildbienen, Hummeln oder Honigbienen.

Die Konzentrationen der im Feld ausgebrachten Neonikotinoide liegen im für Bienen subletalen Bereich. Dennoch können sie Effekte verursachen, die nicht zum direkten Tod des Individuums führen, aber Veränderungen in der Physiologie und dem Verhalten eines Individuums hervorrufen. In diesem Fall spricht man von subletalen Effekten (Desneux et al. 2007, Thompson und Maus 2007). Subletale Dosen an Neonikotinoiden können bei Bienen beispielsweise das Brutpflegeverhalten, die Orientierung oder das Sammelverhalten beeinflussen (Thompson und Maus 2007). So wurde nach der Aufnahme von subletalen Mengen an Clothianidin und Imidacloprid (Schneider et al. 2012) und Fipronil (Decourtye et al. 2011) eine verminderte Sammelaktivität der Bienen beobachtet. Auch das Heimkehrvermögen der Bienen wird durch die Aufnahme von Neonikotinoiden beeinträchtigt (Bortolotti et al. 2003, Decourtye et al. 2011, Schneider et al. 2012, Fischer et al. 2014, Henry et al. 2014). In Versuchen unter Laborbedingungen wurden synergistische Effekte von Thiacloprid mit einem Fungizid beobachtet; in Freilandversuchen konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigt werden (Schmuck et al. 2003). Auch eine Belastung der Bienen durch Parasiten wie *Nosema* spp. kann bei einer zusätzlichen Aufnahme von Neonikotinoiden zu einer erhöhten Mortalitätsrate führen (Vidau et al. 2011, Aufauvre et al. 2012).

Hummeln und Wildbienen sind ebenso wie Honigbienen dem Risiko ausgesetzt, mit Insektiziden in Berührung zu kommen und sie aufzunehmen. In zahlreichen Untersuchungen wurden Effekte von subletalen Dosen an Neonikotinoiden auf Wildbienen und Hummeln beobachtet. Unter feldrelevanten Dosen von Imidacloprid ist die Wachstumsrate von Hummelvölkern reduziert und es werden weniger Königinnen nachgezogen (Whitehorn et al. 2012). Ein Grund für die reduzierte Anzahl an nachgezogenen Königinnen könnte darin bestehen, dass Imidacloprid negativen Einfluss auf die Pollen-Sammelaktivität von Hummeln hat (Gill et al. 2012). Untersuchungen von Feltham et al. (2014) zeigten, dass Hummeln unter Einfluss von Imidacloprid weniger Sammelflüge unternehmen und pro Flug weniger Pollen sammeln als die Kontrolltiere. Bei Wildbienen wurde unter Einfluss der Neonikotinoide Clothianidin und Thiamethoxam in subletalen Mengen eine Reduktion der Brut um nahezu 50 % festgestellt (Sandrock et al. 2014). Ein groß angelegter Feldversuch von Rundlöf et al. (2015) zeigte ebenfalls negative Effekte auf die Dichte der Wildbienenbevölkerung und die Entwicklung von

Hummelvölkern durch feldrelevante Dosen einer Wirkstoffkombination aus Clothianidin und einem Pyrethroid, die zum Pflanzenschutz in Rapsfeldern eingesetzt wird.

## 1.6 Thiacloprid

Das Neonikotinoid Thiacloprid (IUPAC: [3-[(6-chloropyridin-3-yl)methyl]-1,3-thiazolidin-2-ylidene]cyanamide) wirkt als Fraß- und Kontaktgift. Es wird nicht nur erfolgreich gegen blattsaugende Insekten wie Blattläuse oder Mottenschildläuse eingesetzt, sondern auch zur Bekämpfung zahlreicher pflanzenschädigender Käfer- und Mottenarten (Dong et al. 2014, Saour 2008, Tomizawa und Casida 2003, Jeschke et al. 2001). Bei der Amerikanischen Großschabe *Periplaneta americana* wirkt Thiacloprid als partieller Agonist am nikotinischen Acetylcholinrezeptor (Tan et al. 2007). Es kann, wie der Neurotransmitter Acetylcholin, am Acetylcholinrezeptor binden, und blockiert hierdurch die Synapse. Thiacloprid wird oft während der Blütezeit eingesetzt. Ausgebracht wird es zum Beispiel auf blühenden Raps, aber auch im Obstbau oder in Gärten findet es Verwendung. Als systemisches Insektizid ist es in allen Bestandteilen der Pflanze und auch im Nektar und Pollen zu finden (Schmuck et al. 2001, Pohorecka 2014). Bienen können beim Sammeln durch Berührung der behandelten Pflanzen mit dem Insektizid in Kontakt kommen, oder nehmen es über Nektar und Pollen oral auf.

In Zulassungsverfahren für Insektizide gibt es vier Gruppen von Gefährdungsgraden für Bienen von B1 (bienengefährlich) bis B4 (bienenungefährlich). Nach diesen Stufen ist für als bienengefährlich bestimmte Substanzen der Einsatz auf allen blühenden, von Bienen beflogenen Pflanzen verboten (B1) oder nur zu festgelegten Zeiträumen erlaubt (B2). Thiacloprid wurde nach den Zulassungsverfahren und unter Voraussetzung der laut Hersteller bestimmungsgemäßen Anwendung als bienenungefährlich (B4) eingestuft.

Die LD50, also die Dosis, bei der 50 % der Individuen innerhalb von 48 Stunden sterben, wird für Bienen nach oraler Aufnahme von Thiacloprid bei einer Dosis zwischen 14,6 µg und 17,9 µg pro Biene angegeben (Iwasa et al. 2004, Schmuck 2001), bei Kontaktapplikation bei 38 µg pro Biene (Schmuck 2001).

Zusammen mit den Glutathion-Transferasen (GSTs) spielen die Cytochrom P450-Monooxygenasen in Insekten eine wichtige Rolle bei der Detoxifizierung von Pestiziden und deren Metaboliten (Johnson et al, 2012; Papadopoulos et al. 2004). Thiacloprid wirkt

geringer toxisch auf Bienen als andere Insektizide der Gruppe der Neonicotinoide, wie beispielsweise Clothianidin oder Imidacloprid. Letztere gehören zu der Gruppe der nitro-substituierten Neonicotinoide, Thiacloprid dagegen ist cyano-substituiert. Iwasa et al. (2004) schließen aus ihren Untersuchungen, dass cyano-substituierte Neonicotinoide wie Thiacloprid in Bienen mithilfe von Enzymen aus der Gruppe der Cytochrom-P450-Monooxygenasen (P450s) abgebaut wird. Die entstehenden Abbauprodukte werden als nicht toxisch für Bienen eingestuft. Ein Abbau der Substanz würde demnach gleichzeitig eine Entgiftung bedeuten.

Maximale feldrelevante Dosen von Thiacloprid im Bienenbrot (= eingelagerter Pollen) wurden im Rahmen des Deutschen Bienen-Monitorings in Konzentrationen zwischen 130 und 498 ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) detektiert (Genersch et al. 2010, von der Ohe und Martens 2011). In Untersuchungen von Laurino et al. (2011) wurde bei einer oral aufgenommenen Konzentration von 36.000 ppb eine stark erhöhte Sterberate von Bienen festgestellt. Diese Effekte traten jedoch nur auf, wenn den Bienen zuvor zwei Stunden lang keine Nahrung angeboten wurde. Ohne eine vorherige Hungerphase der Bienen hingegen konnte bei einer Konzentration bis zu 144.000 ppb keine erhöhte Mortalitätsrate festgestellt werden. Obwohl auch hohe Thiacloprid-Konzentrationen oft nicht letal auf Bienen wirken, sind die möglichen subletalen Effekte nicht zu vernachlässigen und daher Thema dieser Dissertation.

### **1.7 RFID-Methode**

Ursprünglich wurde die Radiofrequenz-Identifikations-Technik (kurz: RFID) entwickelt, um Waren auszeichnen und identifizieren zu können. Hierfür wird ein Chip benötigt, der an der Ware aufgebracht wird, sowie ein Scanner, der die auf dem Chip gespeicherten Daten ausliest. Um RFID-Chips mit möglichst geringer Größe nutzen zu können, arbeiten sie passiv ohne eigene Stromquelle. Mit Größen von wenigen Millimetern und einem Gewicht unter 5 mg können die Mini-Chips eingesetzt werden, um die Bewegung von Bienen am Stockeingang oder an einer speziellen Futterstelle aufzuzeichnen. Die RFID-Methode zur Beobachtung von Bienen wurde erstmals von Streit et al. (2003) eingesetzt. Sie ermöglicht, die Bewegungen am Stockeingang von einer großen Anzahl an Individuen über einen Zeitraum von Wochen oder Monaten aufzuzeichnen. Hiermit stellt sie einen

großen Fortschritt gegenüber der klassischen Beobachtung, bei der einzelne Bienen mit farbigen Nummernplättchen versehen und beobachtet werden, dar.

Der Versuchsdurchlauf zu Auswirkungen von Thiaclopid auf Bienenvölker in Kapitel 2 wurde zusammen mit Dr. Reinhold Siede sowie weiteren Mitarbeitern des Bieneninstituts Kirchhain durchgeführt.

Der erste Versuchsdurchlauf zum Flugverhalten in Kapitel 5 sowie der erste Versuchsteil zum Heimkehrvermögen in Kapitel 6 wurden zusammen mit Johannes Hahn durchgeführt, der erste Versuchsdurchlauf zur Brutentwicklung in Kapitel 4 sowie der zweite Versuchsteil zum Heimkehrvermögen in Kapitel 6 zusammen mit Jonas Weil, beides jeweils im Rahmen einer Bachelorarbeit.

---

## **2 Untersuchungen zur Auswirkungen von Thiacloprid auf Bienenvölker unter praxisnahen Bedingungen**

### **2.1 Einleitung**

Nachdem immer wieder Fälle von nicht erklärbaren Zusammenbrüchen von Bienenvölkern auftraten, häuften sich die Überlegungen, ob der Eintrag von Neonikotinoiden ins Bienenvolk das Zusammenbrechen der Völker beziehungsweise den hohen Verlust an Bienen bewirken kann. Bienen sammeln Nektar und Pollen an Blüten von beispielsweise Obstbäumen oder Rapspflanzen, die durch das Spritzen mit Insektiziden gegen Schädlinge behandelt wurden. So werden die im Feld ausgebrachten Insektizide von den Sammlerinnen zum Bienenstock gebracht, wo sie von adulten Bienen und der Bienenbrut über das Futter aufgenommen werden können. Wenn Insektizide im eingelagerten Futter vorhanden sind, ist jede Einzelbiene und im Folgenden auch das gesamte Volk möglichen subletalen Wirkungen ausgesetzt.

Für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln gibt es spezielle Verordnungen zur Risikobewertung für Bienen. Ein Pflanzenschutzmittel darf nur uneingeschränkt zugelassen werden, wenn es nach Tests im Labor, im Halbfreiland und im Freiland als nicht bienengefährlich eingestuft wird. Eine Substanz wird als nicht bienengefährlich eingestuft, sofern sie „keine unannehmbaren Auswirkungen auf die Entwicklung von Bienenvölkern sowie auf Einzelbienen und Bienenlarven hat“ (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass geringe, subletale Dosen Auswirkungen auf das Verhalten von Bienen haben können. Verhaltensänderungen der einzelnen Bienen wiederum könnten einen Einfluss auf das gesamte Volk nehmen, und längerfristig den Zusammenbruch des Volkes herbeiführen. Dieser Hypothese wird im ersten Teil dieser Dissertation nachgegangen.

Zur Ermittlung der Volksstärke und der Brutstärke eines Bienenvolkes wurden verschiedene Methoden entwickelt. So wurde beispielsweise die Anzahl an Arbeiterinnenzellen ausgezählt (Brünnich 1922 zitiert nach Imdorf et al. 1987) oder über das Gewicht des Gesamtvolkes und das bestimmte durchschnittliche Gewicht der

Einzelbienen die Bienenanzahl berechnet (Farrar 1937). Eine weitere Methode zum Schätzen der Volksstärke entwickelte Jeffree (1951). Als Vergleichswert für die Anzahl der Bienen pro Wabenseite zog er Fotografien von Bienen auf Waben heran, deren Anzahl bekannt war. Diese Arbeit war die Grundlage für die von Wille und Gerig (1976) entwickelte „Liebefelder Schätzmethode“. Anhand dieser Methode kann die Anzahl an Bienen geschätzt und die Anzahl an offenen und verdeckelten Brutzellen errechnet werden (Wille und Gerig 1976, Gerig 1983). Hierbei wird die Volksstärke über regelmäßige Schätzungen alle drei Wochen anhand der Bienenanzahl und Brutzellenmenge bestimmt. Der dreiwöchentliche Rhythmus resultiert aus der Dauer von 21 Tagen, die die Arbeiterinnen für die Entwicklung vom Ei bis zum Schlüpfen benötigen. Eine weitere Möglichkeit, eventuelle Auswirkungen auf die Entwicklung von Bienenvölkern zu beobachten, bietet der Einsatz von Fluglochfallen. Die Zahlen an toten Bienen können bedingt einen Einblick in die Mortalitätsrate im Bienenvolk geben. Tote Bienen werden recht schnell aus dem Bienenstock gebracht und der Einsatz von Fluglochfallen ermöglicht es, die herausgebrachten Bienen zu zählen. Versuche von Illies et al. (2002) bestätigen, dass in den Fluglochfallen ein großer Anteil (92 %) der toten Bienen wiedergefunden wird, was in Kontrollvölkern ohne Fluglochfallen nicht der Fall war.

Das Neonikotinoid Thiacloprid ist uneingeschränkt für den Pflanzenschutz zugelassen. Durch den Einsatz als Spritzmittel auf blühende Pflanzen, die von Sammlerbienen angefliegen werden, ist die Wahrscheinlichkeit des Eintrags von Thiacloprid in Bienenvölker sehr groß, wie Rückstandsanalysen des Deutschen Bienen-Monitorings gezeigt haben (DeBiMo Schlussbericht 2011-2013).

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde anhand eines für drei Jahre angelegten Feldversuchs der Eintrag des Neonikotinoids Thiacloprid ins Volk nachgestellt und mögliche Auswirkungen von feldrelevanten und zehnfach höheren Dosen auf die Entwicklung der Bienenvölker untersucht.

## **2.2 Material und Methoden**

Für die Untersuchungen zu Auswirkungen von Thiacloprid auf Bienenvölker unter praxisnahen Bedingungen wurde mit Bienen der Art *Apis mellifera*, Unterart *Apis mellifera carnica*, vom Bieneninstitut Kirchhain gearbeitet. In jedem Versuchsjahr wurden Geschwisterköniginnen in alle Völker eingesetzt.

### **2.2.1 Standort**

Für die Durchführung des Versuchs wurde eine Streuobstwiese in der Nähe von Mardorf, Hessen (N50° 45.355 E008° 54.977) als Standort für die Bienenvölker ausgewählt. Im Umkreis des Standortes (ca. 10 km) befinden sich überwiegend landwirtschaftlich genutzte Felder, auf denen hauptsächlich Getreide angebaut wird, sodass die Bienen im Versuchszeitraum nur wenige Möglichkeiten zur Nahrungssuche hatten. Hiermit wurde sichergestellt, dass das Versuchsfutter von den Bienen angenommen und die angesetzte Thiacloprid-Konzentration nicht oder nur geringfügig verfälscht wird.

### **2.2.2 Versuchsdurchführung**

Die Versuche wurden in drei aufeinanderfolgenden Jahren (2011-2013) wiederholt durchgeführt. In jedem Jahr wurden Ende Juni bzw. Anfang Juli Kunstschwärme gebildet. Nach einer Perizin®-Behandlung zur Entfernung von Varroamilben über ein bis drei Tage wurden die 30 Kunstschwärme zum ausgewählten Standort gebracht. Dort wurden die einräumigen Völker (10 Waben, Zandermaß, 42x22 cm) gruppenweise, zu je 10 Völkern pro Fütterungsgruppe, aufgestellt. Zwischen den Gruppen wurde ein Abstand von 20-30 Metern eingehalten. Die Stockausgänge aller Bienenvölker waren in Richtung Osten ausgerichtet.

Die drei Gruppen wurden mit unterschiedlichen Mengen an Thiacloprid (Bayer CropScience, Monheim) eingefüttert. Nach Untersuchungen von eingelagertem Honig und Bienenbrot wurden im Rahmen des Deutschen Bienen-Monitorings feldrelevante Dosen zwischen 130 und 498 ppb Thiacloprid nachgewiesen (von der Ohe und Martens 2011, Genersch et al. 2010). Ausgehend von diesen Richtwerten erhielten die Völker der Gruppe T1 200 ppb (= 0,2 mg/kg) Thiacloprid und die Völker der Gruppe T2 eine 10fach höhere Dosis, 2000 ppb (= 2 mg/kg) Thiacloprid, das in 1 ml Aceton gelöst und

anschließend in den Ambrosia® Zuckersirup (Nordzucker AG, Braunschweig) gemischt wurde. Die Völker der Kontrollgruppen erhielten Ambrosia® Zuckersirup, der mit der entsprechenden Menge Aceton versetzt war.

Am Tag der Aufstellung wurden die Völker mit jeweils 5 Litern des entsprechenden Futters eingefüttert. Im darauffolgenden Zeitraum bis Oktober wurden weitere vier Fütterungen mit jeweils 5 Litern pro Volk durchgeführt.

Im Dezember wurde eine weitere Behandlung mit Perizin® gegen Milbenbefall vorgenommen. Im Frühjahr wurden die Völker entsprechend ihrer Entwicklung zunächst auf zwei Brutzargen erweitert; anschließend wurden Honigräume aufgesetzt.

Im Herbst und im folgenden Frühjahr wurden Proben von Honig und Bienenbrot aus den Völkern entnommen und auf die Konzentrationen an Thiacloprid und seinem Metabolit Thiacloprid-Amid analysiert (eurofins, Dr. Specht, Hamburg).

### **2.2.3 Populationsschätzung nach der Liebefelder Schätzmethode**

Um die Entwicklung der Bienenvölker zu beobachten, wurden von August bis Oktober im Abstand von je drei Wochen an allen 30 Völkern Populationsschätzungen nach der Liebefelder Schätzmethode (Wille und Gerig 1976) durchgeführt. Anhand dieser Methode wird die Anzahl der Bienen pro Volk geschätzt. Hierfür wurde als Standard eine Anzahl von 1200 Bienen pro voll besetzter Wabenseite im Zandermaß (42x22 cm) festgelegt. Die Größe der Brutflächen wird ausgemessen (Breite x Höhe) und daraus die Anzahl an Brutwaben errechnet. Zusätzlich wurde entschieden, ob die Fläche rechteckig oder ellipsenförmig war oder sich in einer Zwischenform befand. Entsprechend der Form wurde dann nach der Formel  $(\text{Höhe} \cdot \text{Breite} \cdot \text{Form}) \cdot 4,285$  mit Form = 1 für Rechteck, = 0,7854 für Ellipse und = 0,8927 für Zwischenform die Anzahl der Brutwaben pro Brutfläche berechnet. Zusätzlich wurde der Anteil an verdeckelter Brut von der gesamten Brutfläche in Prozent geschätzt.

An jedem Schätztermin wurde ebenfalls das Gewicht der Bienenvölker bestimmt.

#### **2.2.4 Bienenmortalität**

Um die Rate der toten Bienen pro Volk zu bestimmen, wurden vor den Völkern Fluglochfallen angebracht. Diese bestanden aus einem Drahtkasten mit engen Maschen an Boden und Seiten, durch die die Bienen nicht hindurch gelangen konnten. Nach oben waren die Maschen weiter, sodass die Bienen hindurchfliegen konnten. Durch diese Konstruktion sollte verhindert werden, dass tote Bienen von den Arbeiterinnen weggetragen werden. Stattdessen sollen sie am Boden der Falle liegen bleiben. Die toten Bienen wurden alle 3-4 Tage aus den Fallen abgesammelt und gezählt.

#### **2.2.5 Befall durch *Varroa destructor***

Zu drei Zeitpunkten im Herbst (August, September und Oktober) im Abstand von je fünf Wochen wurden Bienenproben entnommen und auf den Befall von *Varroa destructor* untersucht.

Für die Bestimmung des Befalls wurde pro Volk eine Probe von 50 adulten Bienen ausgewaschen. Anschließend wurde die Anzahl der Milben ausgezählt und auf die Angabe Milben pro Biene umgerechnet. Zusätzlich wurde nach der Perizin®-Behandlung im Winter die Anzahl der toten Milben gezählt.

#### **2.2.6 Auswertung und Statistik**

Die ermittelten Daten wurden mithilfe der Statistik-Software „SPSS Statistics 20“ (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) ausgewertet und graphisch dargestellt. Als statistische Tests für den Vergleich der Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test, zum Vergleich des Verlaufs über je einen Versuchszeitraum eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung und Post-Hoc-Test Bonferroni, eingesetzt.

## 2.3 Ergebnisse

### 2.3.1 Rückstandsanalysen

Um die Thiacloprid-Konzentration im eingelagerten Futter der Bienenvölker zu bestimmen, wurden in allen drei Versuchsdurchläufen jeweils im Herbst und im folgenden Frühjahr Proben von Honig und Bienenbrot genommen und analysiert (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Rückstandsanalysen.**

Aufgetragen sind die mittleren Konzentrationen an Thiacloprid (T) und Thiacloprid-Amid (TA) pro Fütterungsgruppe in ppb (=µg/kg). Jeweils im Herbst und im folgenden Frühjahr wurde je eine Honigprobe und eine Bienenbrotprobe genommen. Fütterungsgruppen: K = Kontrolle; T1 = Thiacloprid 200 ppb; T2 = Thiacloprid 2000 ppb.

		1. Probe (Herbst)				2. Probe (Frühjahr)			
		Honig		Bienenbrot		Honig		Bienenbrot	
		T	TA	T	TA	T	TA	T	TA
Versuchsjahr		ppb (= µg/kg)				ppb (= µg/kg)			
2011-2012	K	<b>10,0</b>	0,0	<b>8,7</b>	0,0	<b>5,8</b>	1,3	<b>10,1</b>	0,3
	T1	<b>122,1</b>	1,5	<b>45,2</b>	1,0	<b>101,2</b>	2,0	<b>20,3</b>	0,8
	T2	<b>830,9</b>	9,5	<b>243,3</b>	5,4	<b>711,7</b>	12,0	<b>149,8</b>	4,6
2012-2013	K	<b>7,4</b>	0,2	<b>31,5</b>	0,4	<b>21,8</b>	0,4	<b>8,1</b>	0,1
	T1	<b>258,5</b>	0,5	<b>69,0</b>	0,3	<b>122,8</b>	3,0	<b>43,7</b>	1,6
	T2	<b>865,3</b>	3,9	<b>220,7</b>	3,5	<b>720,6</b>	15,3	<b>112,2</b>	8,2
2013-2014	K	<b>9,1</b>	0,0	<b>6,8</b>	0,2	<b>4,9</b>	0,0	<b>2,1</b>	0,0
	T1	<b>87,7</b>	1,3	<b>22,9</b>	1,4	<b>57,9</b>	1,4	<b>69,5</b>	1,4
	T2	<b>637,1</b>	9,9	<b>149,3</b>	7,8	<b>468,4</b>	11,8	<b>346,3</b>	7,8

Die Bienen wurden mit Kontrollfutter (K), 200 ppb Thiacloprid (T1) oder 2000 ppb Thiacloprid (T2) eingefüttert. Die in den Völkern bestimmten Thiacloprid-Konzentrationen im Honig wichen zwei Monate nach Beginn der Einfütterung von den gewünschten Konzentrationen 200 ppb für T1 bzw. 2000 ppb für T2 ab. Außer bei der Fütterungsgruppe T1 im zweiten Versuchsjahr lag die Konzentration an Thiacloprid nur noch bei etwa der Hälfte der eingesetzten Konzentration. Auch in den Kontrollvölkern wurde Thiacloprid

detektiert; hier wurden Konzentrationen bis über 20 ppb gemessen. In den Bienenbrotproben wurden als Höchstkonzentrationen an Thiacloprid 31,5 ppb (K), 69,5 ppb (T1) und 346,3 ppb (T2) gemessen.

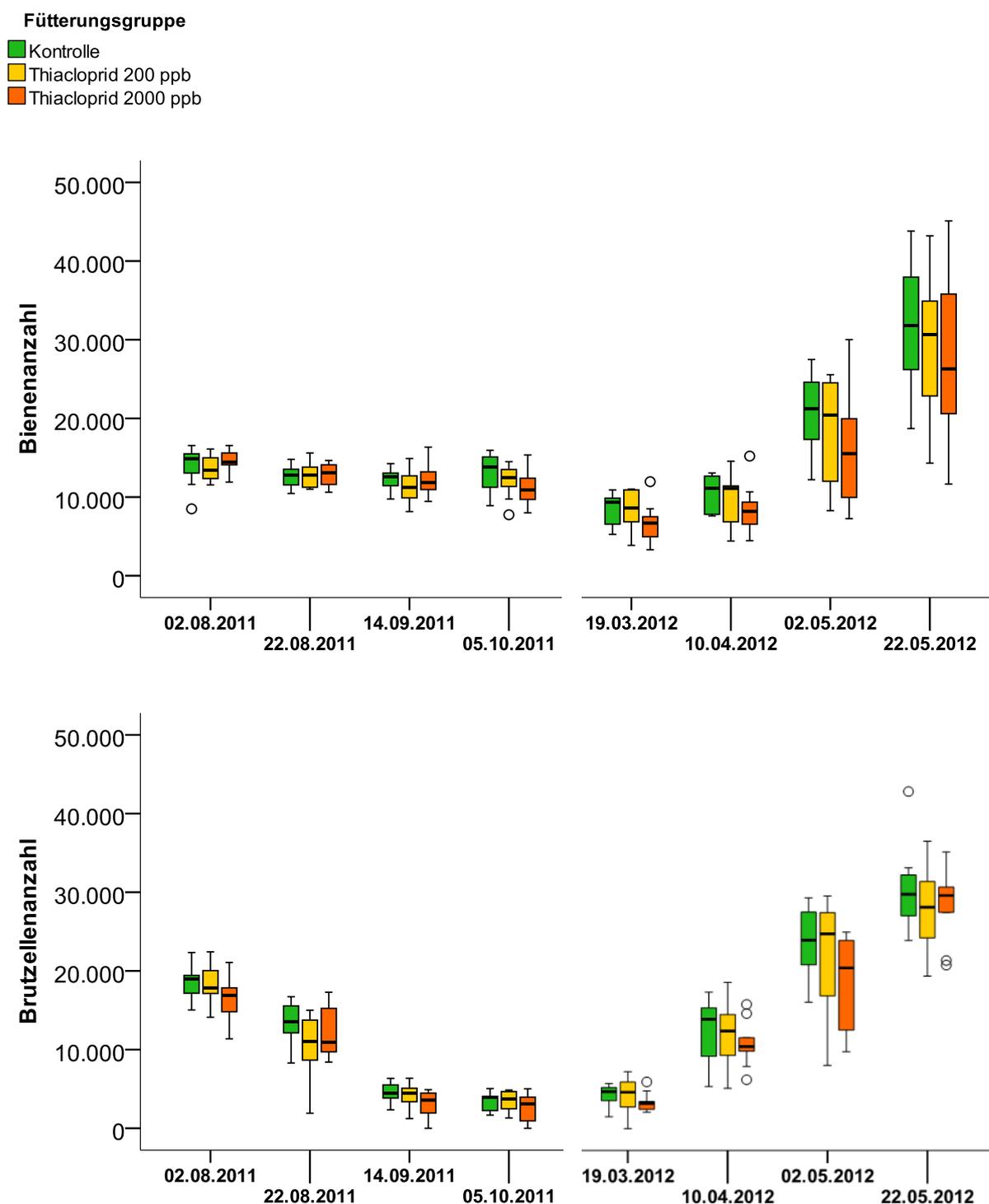
Die Thiacloprid-Konzentrationen im Honig der Völker (bis auf die Kontrollvölker in 2012-2013) verringern sich im Laufe des Versuchs. Auch die Konzentration im Bienenbrot war im Herbst höher als im folgenden Frühjahr. Eine Ausnahme bilden hier die mit Thiacloprid eingefütterten Völker im dritten Versuchsjahr; hier wurde im Frühjahr eine höhere Konzentration als im vorangegangenen Herbst detektiert.

Zusätzlich wurde die Konzentration eines Metabolits von Thiacloprid (Thiacloprid-Amid) bestimmt. Hier wurden in allen Honigproben Konzentrationen gemessen, die bis zu 3 % der Thiacloprid-Konzentration betragen. Einzig die Honigprobe der Kontrollgruppe im Frühjahr des ersten Versuchsdurchlaufs enthielt mit fast 20 % (1,3 ppb) eine höhere Menge an Thiacloprid-Amid. Die Bienenbrotproben enthielten Konzentrationen an Thiacloprid-Amid, die bis zu 7 % der Thiacloprid-Konzentrationen im Bienenbrot betragen.

### **2.3.2 Populationsschätzungen**

In jedem Versuchsdurchlauf wurden acht Populationsschätzungen an den Bienenvölkern durchgeführt. Es wurde jeweils die geschätzte Anzahl an Bienen und die errechnete Anzahl an Brutzellen pro Fütterungsgruppe aufgetragen (Abbildung 1 bis Abbildung 3).

### 2.3.2.1 Erstes Versuchsjahr (2011 – 2012)



**Abbildung 1: Populationsschätzung erstes Versuchsjahr (2011-2012).**

Aufgetragen ist der Verlauf der geschätzten Anzahl an Bienen und der errechneten Anzahl an Brutzellen über die vier Schätztermine im Herbst (2011) und im Frühjahr (2012). Kreise stellen Ausreißer dar. Im Verlauf über den Versuchszeitraum gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung; Post-Hoc-Test: Bonferroni).

Im ersten Versuchsdurchlauf (2011 bis 2012) starteten die Bienenvölker mit ca. 15.000 Bienen (Median). Die Volksstärke nahm bis zum letzten Schätztermin im Herbst leicht ab. Zum ersten Schätztermin im Frühjahr wurden ca. 10.000 Bienen (Median) geschätzt. Im Laufe der folgenden zwei Monate stieg die Zahl an Bienen auf bis zu 30.000 (Median) an. Ab dem letzten Schätztermin im Herbst hatte die Gruppe der Bienenvölker, die mit 2000 ppb Thiacloprid eingefüttert wurden, durchgehend weniger Bienen als die anderen Völker. Ein signifikanter Unterschied kann jedoch nicht festgestellt werden.

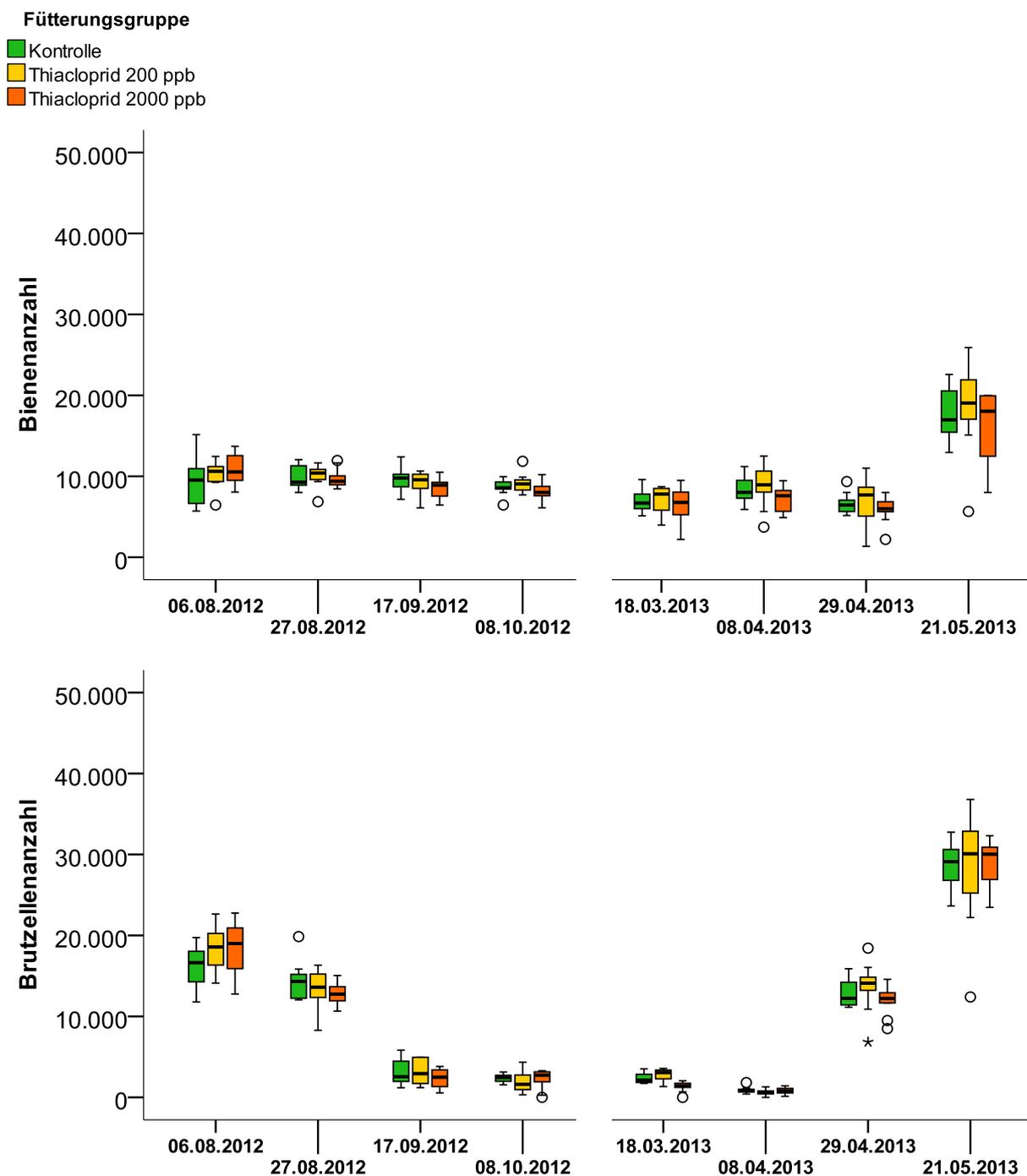
Die Anzahl der Brutzellen sank von ca. 20.000 Brutzellen zu Beginn des Versuchs auf unter 5.000 im Oktober. Im folgenden Frühjahr stieg die Brutzellenzahl innerhalb von zwei Monaten auf etwa 30.000 an. Im Verlauf über den Versuchszeitraum gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen. Die errechneten Signifikanzwerte sind in Tabelle 2 aufgeführt.

**Tabelle 2: Signifikanzwerte Bienen und Brutzellen 2011-2012.**

Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung; Post-Hoc-Test: Bonferroni.

Gruppe 1	Gruppe 2	p-Werte (Bienen)	p-Werte (Brutzellen)
Kontrolle	Thiacloprid 200 ppb	1	0,827
Kontrolle	Thiacloprid 2000 ppb	0,624	0,111
Thiacloprid 200 ppb	Thiacloprid 2000 ppb	1	0,866

### 2.3.2.2 Zweites Versuchsjahr (2012 – 2013)



**Abbildung 2: Populationsschätzung zweites Versuchsjahr (2012-2013).**

Aufgetragen ist der Verlauf der geschätzten Anzahl an Bienen und der errechneten Anzahl an Brutzellen über die vier Schätztermine im Herbst (2012) und im Frühjahr (2013). Kreise stellen Ausreißer dar. Im Verlauf über den Versuchszeitraum gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung; Post-Hoc-Test: Bonferroni).

Im zweiten Versuchsdurchlauf (2012 bis 2013) starteten die Bienenvölker mit ca. 10.000 Bienen (Median). Zum späten Herbst nahm die Bienenanzahl der Völker leicht, auf ca. 8.000 Bienen pro Volk, ab. Erst ab Anfang Mai des folgenden Frühjahrs stieg die Anzahl an Bienen wieder bis auf ca. 20.000 (Median) an.

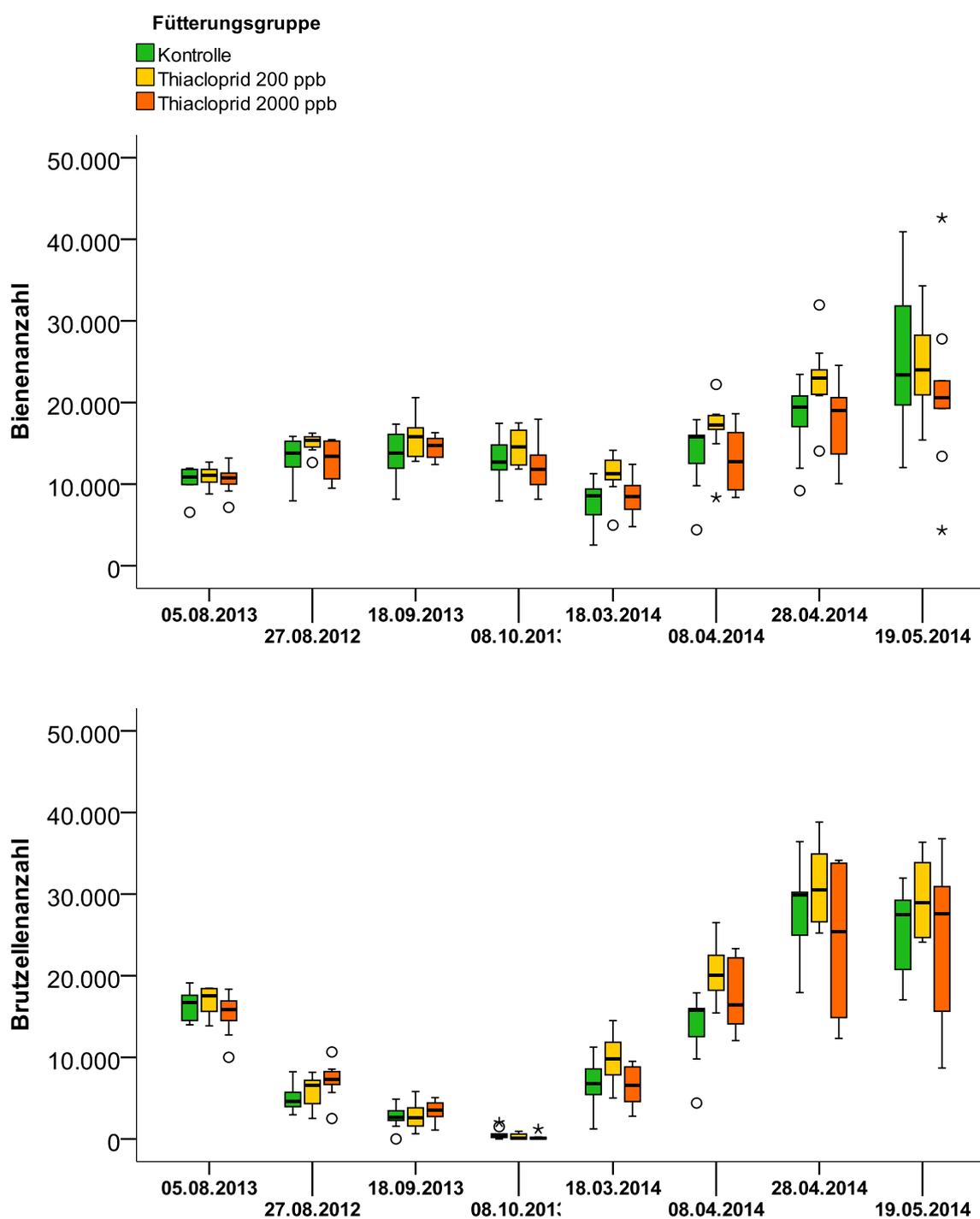
Die Anzahl der Brutzellen sank von ca. 18.000 Brutzellen (Median) zu Beginn des Versuchs auf unter 3.000 im Oktober. Im folgenden Frühjahr hatten die Völker bis Anfang April nahezu keine Brut; zum Schätztermin Ende Mai wurde eine Anzahl von ca. 30.000 Brutzellen (Median) pro Volk errechnet. Im Verlauf über den Versuchszeitraum gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen. Die errechneten Signifikanzwerte sind in Tabelle 3 aufgeführt.

**Tabelle 3: Signifikanzwerte Bienen und Brutzellen 2012-2013.**

Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung; Post-Hoc-Test: Bonferroni.

Gruppe 1	Gruppe 2	p-Werte (Bienen)	p-Werte (Brutzellen)
Kontrolle	Thiacloprid 200 ppb	1	1
Kontrolle	Thiacloprid 2000 ppb	1	1
Thiacloprid 200 ppb	Thiacloprid 2000 ppb	0,834	1

### 2.3.2.3 Drittes Versuchsjahr (2013 – 2014)



**Abbildung 3: Populationsschätzung drittes Versuchsjahr (2013-2014).**

Aufgetragen ist der Verlauf der geschätzten Anzahl an Bienen und der errechneten Anzahl an Brutzellen über die vier Schätztermine im Herbst (2013) und im Frühjahr (2014). Kreise stellen Ausreißer dar; Sternchen Extremwerte. Im Verlauf über den Versuchszeitraum gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen (einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung; Post-Hoc-Test: Bonferroni).

Im dritten Versuchsdurchlauf (2013 bis 2014) wurden zu Beginn des Versuchs ca. 10.000 Bienen (Median) geschätzt. Die Anzahl an Bienen nahm im Verlauf über den Herbst zunächst noch einmal leicht (um ca. 2000-5000 Bienen pro Volk) zu. Im folgenden Frühjahr stieg die Anzahl an Bienen von ca. 9.000 Bienen (Median) zum ersten Schätztermin im Frühjahr auf ca. 21.000 Bienen (Median) zum letzten Schätztermin an. Die Anzahl der Brutzellen sank von ca. 18.000 Brutzellen (Median) zu Beginn des Versuchs auf unter 1.000 (Median) im Oktober. Im Frühjahr stieg die Zahl der Brutzellen innerhalb von zwei Monaten von ca. 9.000 (Median) auf ca. 27.000 (Median) an. Im Verlauf über den Versuchszeitraum gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen. Die errechneten Signifikanzwerte sind in Tabelle 4 aufgeführt.

**Tabelle 4: Signifikanzwerte Bienen und Brutzellen 2013-2014.**

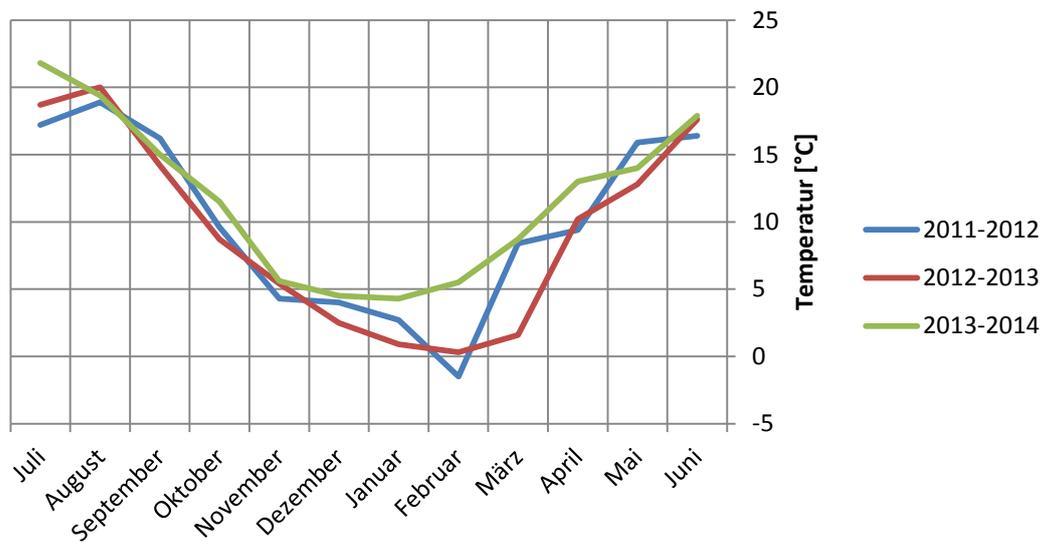
Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung; Post-Hoc-Test: Bonferroni.

Gruppe 1	Gruppe 2	p-Werte (Bienen)	p-Werte (Brutzellen)
Kontrolle	Thiacloprid 200 ppb	0,424	0,086
Kontrolle	Thiacloprid 2000 ppb	1	1
Thiacloprid 200 ppb	Thiacloprid 2000 ppb	0,117	0,071

In allen drei Versuchsdurchläufen war die Tendenz zu beobachten, dass die Völker der Gruppe 2000 ppb Thiacloprid leicht geringere Zahlen an Bienen und Brutzellen aufwiesen.

Die monatlichen Durchschnittstemperaturen [°C] sind über den Zeitraum aller drei Versuchsdurchläufe graphisch dargestellt (Abbildung 4). Zu Versuchsbeginn im Juli gab es leichte Unterschiede in der Temperatur. Im Zeitraum von August bis November sanken die monatlichen durchschnittlichen Temperaturen in allen Jahren gleichmäßig von knapp 20°C auf etwa 5°C ab. Ab Dezember gab es bei den Durchschnittstemperaturen größere Unterschiede von mehreren °C. Bis auf eine Ausnahme im Februar, in dem im zweiten Versuchsjahr die Temperaturen geringer als in den anderen Jahren waren, waren die Temperaturen im zweiten Versuchsjahr ab Dezember bis April im Vergleich zu den

anderen Jahren deutlich niedriger. Erst ab Mai waren in allen drei Versuchsdurchläufen wieder ähnliche Durchschnittstemperaturen zu verzeichnen.

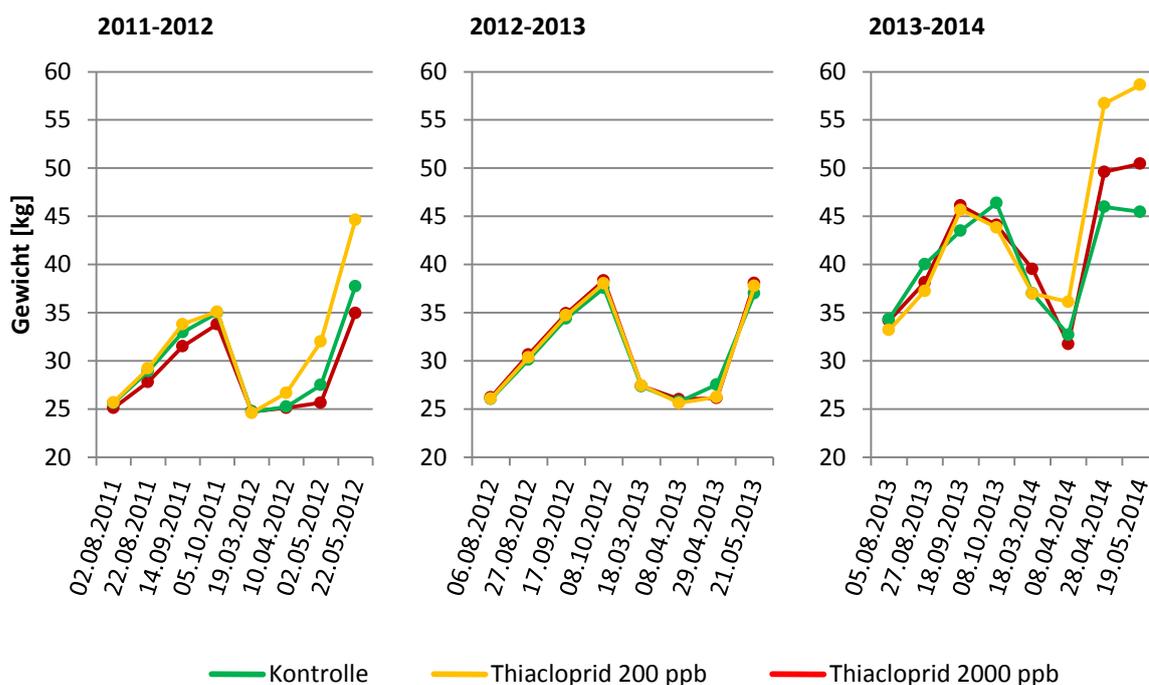


**Abbildung 4: Monatliche Durchschnittstemperatur.**

Die monatliche Durchschnittstemperatur ist in °C für alle drei Versuchsdurchläufe ab dem Startzeitpunkt (Juli) bis Juni des Folgejahres aufgetragen. Das letzte Versuchsjahr (2013-2014) war im Durchschnitt in fast allen Monaten das wärmste Jahr. Im ersten Versuchsjahr (2011-2012) wurde im Februar eine tiefere Durchschnittstemperatur erreicht als in den anderen Jahren. Deutlich zu sehen ist ein verzögerter Anstieg der Temperatur im Frühjahr des 2. Versuchsjahres (2012-2013). Im März lag hier die Durchschnittstemperatur 7°C unter der in den anderen Jahren. Erst im Mai näherten sich die Werte aller Versuchsdurchläufe wieder an. (Quelle: <http://wetter61169.de>)

### 2.3.3 Gewichtsentwicklung

In jedem Versuchsjahr wurden zu jeweils vier Terminen im Herbst und im Frühjahr die Gewichte der Bienenvölker bestimmt (Abbildung 5).



**Abbildung 5: Gewichtsentwicklung der Völker von Herbst bis Frühjahr.**

Für die drei Versuchsjahre ist jeweils der Verlauf der Gewichtsentwicklung (Mittelwert pro Fütterungsgruppe) vom Sommer bis zum Versuchsende im folgenden Frühjahr aufgetragen. Während der Phase der Einfütterung bis Oktober nahmen die Völker an Gewicht zu. In den Wintermonaten sank das Durchschnittsgewicht der Völker deutlich ab. Im Frühjahr wiederum war eine starke Gewichtszunahme zu verzeichnen. Diese startete im zweiten Versuchsdurchlauf (2012-2013) später als in den anderen Versuchsjahren. Die Standardabweichungen sind im Anhang in Tabelle 18 aufgeführt.

In der Phase der Fütterungen während Sommer und Herbst (August bis Oktober) nahmen die Völker relativ konstant an Gewicht zu. Über den Winter (November bis März) sank das Gewicht der Völker auf etwa den Wert der ersten Gewichtsbestimmung. Im Frühjahr nahmen alle Völker wieder an Gewicht zu, wobei hier große Unterschiede sowohl zwischen den einzelnen Versuchsjahren als auch zwischen den Fütterungsgruppen zu erkennen sind.

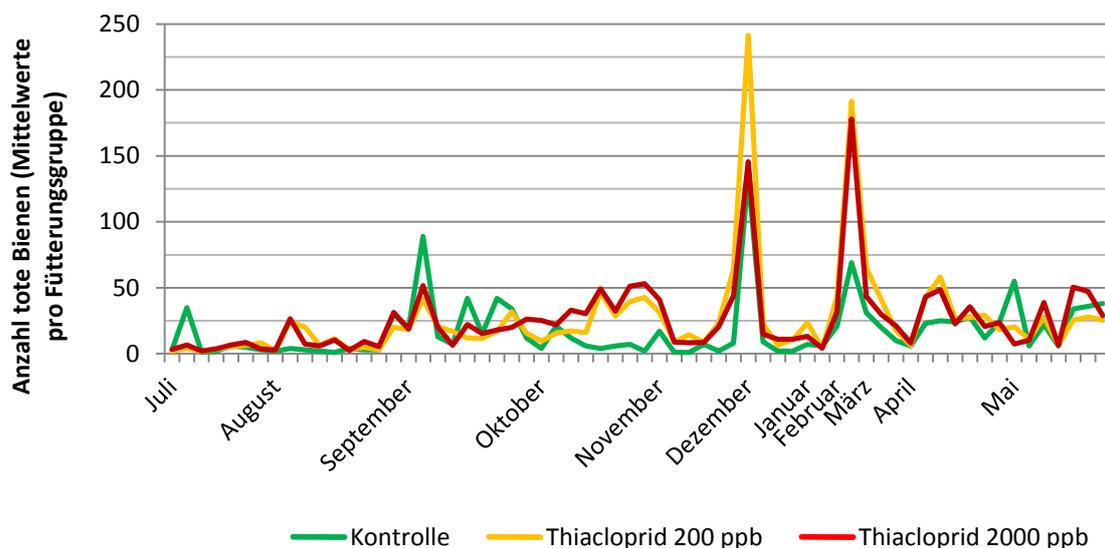
In den ersten zwei Versuchsjahren wogen die Völker zum Zeitpunkt der ersten Gewichtsbestimmung jeweils 25 kg (Mittelwert); im dritten Versuchsjahr dagegen mit

34 kg im Mittel nahezu 10 kg mehr. In allen drei Jahren nahmen die Völker während der Phase der Einfütterung 10 bis 15 kg an Gewicht zu.

Im ersten und dritten Versuchsjahr zeigten sich im Frühjahr große Unterschiede im Durchschnittsgewicht zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen. Im ersten Versuchsjahr wogen die Völker der Gruppe T1 (200 ppb Thiacloprid) bei der letzten Gewichtsmessung durchschnittlich 10 kg mehr als die Völker der Gruppe T2 (2000 ppb) und 7 kg mehr als die Völker der Kontrollgruppe. Im dritten Versuchsjahr wurde ebenfalls bei der Gruppe T1 (200 ppb) das höchste Durchschnittsgewicht bestimmt; die Völker der Gruppe T2 (2000 ppb) wogen im Mittel 8 kg weniger, die Völker der Kontrollgruppe 13 kg weniger.

### 2.3.4 Bienenmortalität

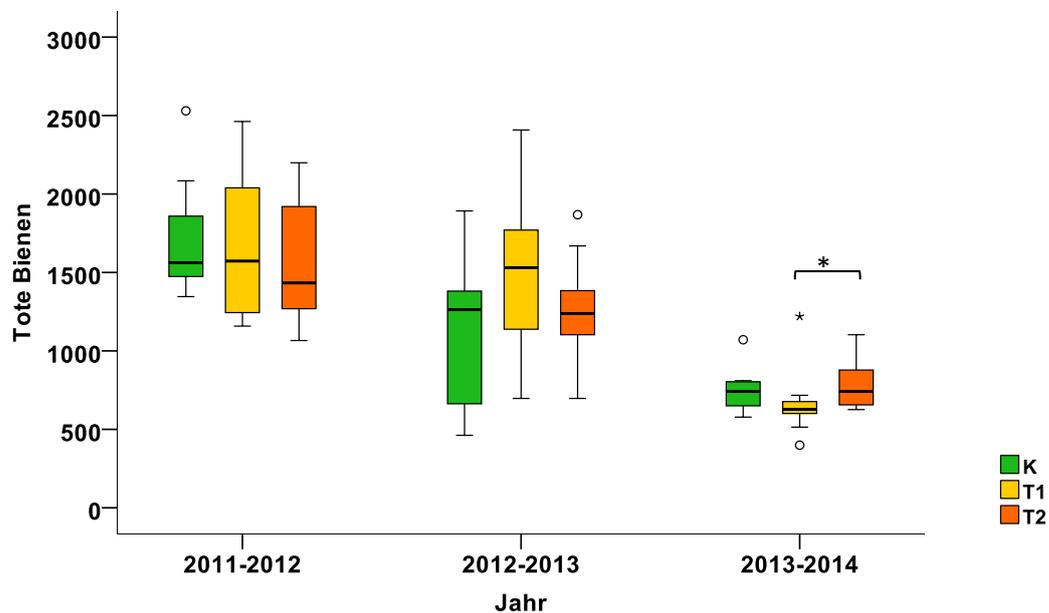
Die toten Bienen wurden im Herbst und Frühjahr zweimal wöchentlich, im Winter einmal wöchentlich bis zweiwöchentlich gezählt. Beispielhaft sind die Anzahlen der in den Fluglochfallen gesammelten Bienen für den ersten Versuchsdurchlauf 2011-2012 graphisch dargestellt (Abbildung 6). Die Verlaufsgraphiken zur Zählung der toten Bienen aus den folgenden Versuchsjahren sind im Anhang zu finden (Abbildung 34 und Abbildung 35).



**Abbildung 6: Regelmäßige Zählung der toten Bienen.**

Beispielhaft ist die Zählung der toten Bienen im ersten Versuchsjahr (2011-2012) pro Fütterungsgruppe und Zählung (Mittelwerte) dargestellt. Außer einigen wenigen Ausnahmen zeigen die Kurven für die drei Fütterungsgruppen einen ähnlichen Verlauf. Zu mehreren Terminen im September, Dezember und Februar traten in allen Fütterungsgruppen höhere Zahlen an toten Bienen auf. Die Standardabweichungen sind im Anhang in Tabelle 19 aufgetragen.

Die Gesamtzahlen an toten Bienen über einen Versuchsdurchlauf waren in jedem Versuchsjahr unterschiedlich (Abbildung 7). Im ersten Jahr wurden  $\pm 1500$  tote Bienen (Median), im zweiten Jahr 1200 bis 1500 tote Bienen (Median) und im dritten Jahr  $\pm 700$  tote Bienen (Median) pro Fütterungsgruppe gezählt. In den ersten zwei Jahren gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen; im dritten Versuchsjahr unterschieden sich die Thiacloprid-gefütterten Völker. Bei den Völkern, die mit 2000 ppb Thiacloprid eingefüttert wurden, wurde eine signifikant höhere Zahl an toten Bienen gezählt ( $p = 0,029$ ; Mann-Whitney-U) als bei den mit 200 ppb Thiacloprid eingefütterten Völkern.

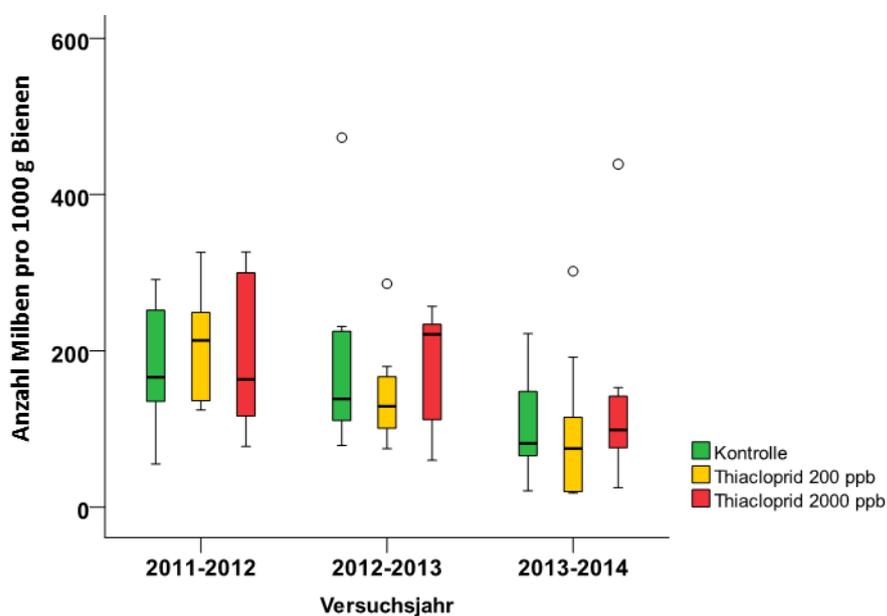


**Abbildung 7: Zählung der toten Bienen in den Fluglochfallen.**

Die Gesamtzahl der toten Bienen pro Volk ist pro Fütterungsgruppe und Versuchsjahr aufgetragen. Jede Box repräsentiert die Daten von 10 Völkern einer Fütterungsgruppe. Ausreißer sind als Kreise, Extremwerte als Sternchen dargestellt. Im dritten Versuchsjahr gab es zwischen den beiden Thiacloprid-gefütterten Gruppen einen signifikanten Unterschied in der Anzahl der toten Bienen ( $p = 0,029$ ; Mann-Whitney-U).

### 2.3.5 Befall durch *Varroa destructor*

Beim Befall der Völker mit der Milbe *Varroa destructor* ergaben sich in allen drei Versuchsdurchläufen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen (Mann-Whitney-U, Daten siehe Tabelle 22 im Anhang). Die Gruppe der Völker, die mit 2000 ppb Thiacloprid eingefüttert wurden, waren im Median etwas stärker von Milben befallen als die Völker der anderen Fütterungsgruppen (Abbildung 8).



**Abbildung 8: Mittlere Anzahl Milben pro 1000 g Bienen.**

Die Anzahl an Milben pro 1000 g Bienen ( $\approx 10.000$  Bienen) ist pro Fütterungsgruppe und Versuchsjahr aufgetragen. Die Völker, die mit 2000 ppb Thiacloprid eingefüttert wurden, hatten in zwei Jahren mehr Milben (Median) als die Völker der anderen Fütterungsgruppen. Die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant (Mann-Whitney-U), siehe Tabelle 22 im Anhang.

## 2.4 Diskussion

### 2.4.1 Rückstandsanalysen

Die Analysen der im Herbst und Frühjahr entnommenen Proben zeigen, dass Thiacloprid im Bienenstock nur langsam abgebaut wird. Auch nach 6 Monaten wurde noch eine erhebliche Menge an Thiacloprid, oft noch deutlich über 50 %, im eingelagerten Futter nachgewiesen. In den Bienenbrot-Proben konnten ebenfalls größere Mengen an Thiacloprid nachgewiesen werden. Für den Gehalt an Thiacloprid im eingelagerten Pollen gibt es zwei mögliche Erklärungen. Die Bienen wurden nicht künstlich mit zuvor analysierten Pollen eingefüttert, sondern sammelten Pollen von Pflanzen aus der Umgebung. Es muss vermutet werden, dass über diesen Pollen eine gewisse Menge an Thiacloprid zusätzlich ins Volk eingetragen wurde. Nach den Analysewerten des Bienenbrots der Kontrollvölker im Herbst zeigt sich jedoch, dass die über den Pollen eingebracht Menge kaum eine Konzentration von 30 ppb überschreitet (Tabelle 1, „2012-2013, Kontrolle“). Die Konzentrationen von über 200 ppb Thiacloprid im Bienenbrot der T2-Völker kann hiermit nicht erklärt werden. Thiacloprid ist hydrophob (Wang Chuanxian 2001) und verlagert sich laut „PSM-Zulassungsbericht Bayer Garten Schädlingsfrei (BVL Stand 26.10.2009)“ in einem Wasser-Sediment-System in Richtung der Sedimentphase. Vermutlich besitzt Thiacloprid lipophile Eigenschaften und geht im Bienenvolk von der wässrigen Phase des Futtersirups in den Pollen und besonders ins Wachs über. Dies würde den hohen Gehalt an Thiacloprid im Bienenbrot der mit Thiacloprid gefütterten Völker erklären. Ähnlich verhält es sich beim Metabolit des Thiacloprids. Interessanterweise wurden auch in den Proben des eingelagerten Futters der Kontrollvölker Thiacloprid-Konzentrationen von bis zu 10 ppb im Herbst nachgewiesen, im Frühjahr sogar bis zu 20 ppb. Möglicherweise kam es zwischen einzelnen Völkern zu Räubereien, sodass Thiacloprid-haltiges Futter in die Kontrollvölker eingetragen wurde. Eine andere Möglichkeit, die unter Punkt 7.1 noch etwas ausführlicher diskutiert wird, besteht darin, dass bereits Thiacloprid im Wachs vorhanden war, von dem sich ein Teil im Futtersirup löst. Dies wäre möglich, da auch ins Futter der Kontrollvölker das Lösungsmittel Aceton gemischt war. Wenn Thiacloprid in das Wachs übergeht und nur langsam abgebaut wird, könnte die Substanz über einen längeren Zeitraum im Volk

verbleiben und sich eventuell sogar anreichern. Versuche über mehrere Jahre mit denselben Völkern und Probenanalysen vom Wachs würden möglicherweise hierüber Aufschluss geben. Da die Bienen im Frühjahr zum Sammeln in der Umgebung ausfliegen, muss jedoch auch davon ausgegangen werden, dass Thiacloprid in gewissen Mengen über den Nektar ins Volk eingetragen wird.

#### **2.4.2 Populationsschätzungen**

Bei den Populationsschätzungen konnten weder bei der Entwicklung der Bienenanzahl pro Volk, noch bei der Anzahl an Brutzellen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Fütterungsgruppen festgestellt werden. Dennoch war in allen drei Versuchsjahren der Trend dahingehend, dass die mit 2000 ppb Thiacloprid eingefütterten Völker eine leicht verringerte Anzahl an Bienen und Brut hatten. Dieser Trend deutet auf eine Auswirkung des Thiacloprids auf die Entwicklung von Bienenvölkern hin. Unklar ist jedoch, wo die Auswirkungen direkt, und wo sie indirekt wirken. Die im Vergleich zu den anderen Fütterungsgruppen leicht verringerte Bienenanzahl könnte darauf hindeuten, dass mehr Bienen durch die Aufnahme von Thiacloprid sterben und somit ein größerer Verlust an Bienen stattfindet. Nach den Ergebnissen der Zählungen von toten Bienen in den Fluglochfallen kann die Vermutung nicht bestätigt werden. Allerdings fehlen Zahlen von Bienenverlusten im Feld, die auf eine mögliche Auswirkung des Thiacloprids auf das Orientierungsvermögen oder das Flugverhalten hindeuten könnten, weswegen diese Annahme nicht endgültig verworfen werden kann. Zum anderen könnte aber auch das Thiacloprid Auswirkungen auf die Brut oder das Brutpflegeverhalten haben. Wird die Entwicklung der Brut beeinträchtigt, hätte dies zur Folge, dass sich weniger Eier oder Larven zu adulten Bienen entwickeln. Dies wiederum würde sich folglich in der verringerten Bienenanzahl widerspiegeln.

Pohorecka et al. (2012) untersuchten in Polen den Einfluss von im Feld ausgebrachten Insektiziden auf Bienenvölker. Sie konnten Thiacloprid-Rückstände von bis zu 5,5 ppb im Honig und bis zu 25 ppb im Bienenbrot nachweisen, jedoch keine Auswirkungen auf die Ertragsfähigkeit und die Entwicklung der Bienenvölker feststellen.

Thiacloprid in einer Konzentration, die mit 2000 ppb 10fach höher als feldrelevante Mengen ist, bewirkte in den hier vorgestellten Versuchen keinen Zusammenbruch der

Bienenvölker oder eine Verminderung der Ertragsfähigkeit, was anhand der Gewichtsbestimmungen gezeigt wurde.

### **2.4.3 Gewichtsentwicklung**

Die beobachtete Entwicklung der Gewichte verlief bei allen Völkern erwartungsgemäß. Während der Einfütterung nahmen die Völker deutlich an Gewicht zu. Über den Winter, während dem kein Futtereintrag stattfand, verringerten sich die Gewichte aufgrund des Futtermittels durch die Bienen wieder stark. Die deutliche und teils recht schnelle Gewichtszunahme im Frühjahr ist auf den Eintrag von Nektar ins Volk zurückzuführen.

Die mit 200 ppb Thiacloprid eingefütterten Völker nahmen in zwei Versuchsjahren deutlich mehr an Gewicht zu, hatten also vermutlich einen größeren Nektareintrag als die Völker der anderen Versuchsgruppen. Über die Ursachen hierfür können nur Vermutungen angestellt werden. Möglicherweise könnte eine relativ geringe Menge (200 ppb) Thiacloprid eine erhöhte Sammel- und Flugaktivität auslösen, und erst in höheren Dosen (2000 ppb) zu stärkerer Inaktivität der Bienen führen. Diese Hypothese könnte beispielsweise über Aufzeichnungen von Flugspuren, das Errechnen der Fluggeschwindigkeit und eine Auswertung der gesammelten Nektarmenge überprüft werden.

Im Frühjahr 2013 nahmen die Völker im Vergleich zu den anderen beiden Versuchsjahren erst einen Monat später an Gewicht zu. Grund hierfür waren der lange Winter sowie der folgende kalte und nasse Frühling. Die Vegetation setzte später ein, und somit konnten auch die Bienen erst später beginnen, Nektar und Pollen zu sammeln.

Im folgenden Versuchsdurchlauf 2013/2014 wogen die Bienenvölker bereits ab der ersten Gewichtsbestimmung durchgehend etwa 10 kg mehr als die Völker in den anderen Versuchsjahren. Die verspätete Vegetation im Jahr 2013 könnte auch hier eine Rolle gespielt haben. Die Bienenvölker wurden etwa einen Monat nach der Aufstellung zum ersten Mal gewogen. Wahrscheinlich war es für die Bienen im Juli 2013 noch möglich, Nektarquellen zu finden und somit zusätzliche Tracht zum angebotenen Futter einzulagern.

#### **2.4.4 Bienenmortalität**

Die Anzahl der toten Bienen in den Fluglochfallen war im Verlauf vom Sommer bis zum Frühjahr des nächsten Jahres bei allen drei Fütterungsgruppen sehr ähnlich, wobei zu einzelnen Zählungsterminen besonders hohe Bienenzahlen auftraten. Diese erhöhten Zahlen an toten Bienen wurden jeweils an Tagen festgestellt, nachdem eine Fütterung oder eine Populationsschätzung an den Völkern vorgenommen wurde. Zwar wird beim Öffnen des Bienenstocks ein Rauchstoß ins Volk gegeben, der dafür sorgen soll, dass sich die Bienen auf die Waben zurückziehen. Dennoch kommt es beim Entnehmen und Zurückhängen der Waben und beim Aufstellen der Futterbehälter auf die Waben zum Quetschen einzelner Bienen. Diese wurden vermutlich bis zum nächsten Zähltermin aus dem Bienenstock herausgetragen und führten so zu den erhöhten Zahlen. Höchstwerte von bis zu 250 toten Bienen traten sowohl im Dezember als auch im Frühjahr auf. Vor den ersten Ausflügen der Bienen im Frühjahr wurden aus den Bodeneinlagen der Bienenstöcke tote Bienen entfernt, die während der Wintermonate gestorben waren und nicht von den Bienen aus den Völkern geräumt wurden. Die erhöhten Zahlen an toten Bienen im Frühjahr ergeben sich also aus dem Totenfall über mehrere Monate.

Im Vergleich der Gesamtzahlen an toten Bienen gab es nur im dritten Versuchsdurchlauf einen signifikanten Unterschied zwischen den Völkern der Gruppe T1 (200 ppb) und der Gruppe T2 (2000 ppb), wobei in der Gruppe T2 mehr tote Bienen gezählt wurden. In den vorherigen Versuchsjahren ging der Trend jedoch in die entgegengesetzte Richtung und es wurden in der Gruppe T2 weniger tote Bienen gezählt als in der Gruppe T1. Durch die Zählungen der toten Bienen in den Fluglochfallen konnte kein eindeutiger Einfluss einer chronischen Fütterung mit Thiacloprid auf die Sterberate der Bienen beobachtet werden.

Die in diesem Versuch genutzten Fallen zum Zählen der toten Bienen sind vergleichbar mit der von Illies et al. (2002) beschriebenen „modifizierten Gary-Falle“, allerdings sind sie sehr viel kleiner. In ihren Versuchen beobachteten Illies et al. (2002), dass tote Bienen, die in der „modifizierten Gary-Falle“ lagen, von Arbeiterinnen weiter, aus der Falle heraus, transportiert wurden. Sie vermuteten, dass die Bienen diese Falle als Erweiterung des Bienenstocks ansehen, und sie, wie den Bienenstock selbst, von toten Bienen reinigen. Werden die Fluglochfallen nicht durchgehend beobachtet, besteht also die Möglichkeit, dass nicht alle aus dem Stock gebrachten Bienen in der Fluglochfalle gezählt werden

können. Nach den Ergebnissen von Illies et al. (2002) stellt sich die Frage, ob die Bienen die Fluglochfalle auch in den hier vorgestellten Versuchen als zum Bienenstock zugehörig wahrnehmen und einen Teil der toten Bienen weitertragen. Tests zur Kontrolle mit markierten toten Bienen, die ins Volk gegeben werden, um anschließend den Anteil der in der Fluglochfalle verbleibenden markierten Bienen zu bestimmen, wurden nicht durchgeführt. Sie wären notwendig, um eine Aussage über die Genauigkeit der Anzahl an toten Bienen in der Fluglochfalle treffen zu können.

Da möglicherweise nicht alle Völker in gleicher Weise mit den toten Bienen verfahren, könnte es durchaus auch der Fall sein, dass es „fleißige“ Völker gibt, bei denen die toten Bienen noch weiter getragen werden und „faule“ Völker, bei denen mehr tote Bienen in der Fluglochfalle liegen gelassen werden. Erst nach solchen Kontrollversuchen könnte, ausgehend von der Anzahl der gezählten toten Bienen, die tatsächliche Anzahl an toten Bienen pro Volk näher berechnet und weitere Aussagen über die Effekte einer chronischen Fütterung mit Thiacloprid getroffen werden.

#### **2.4.5 Befall durch *Varroa destructor***

Die regelmäßigen Untersuchungen auf den Befall mit *Varroa destructor* ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollvölkern und den mit Thiacloprid gefütterten Versuchsvölkern. Alle Völker wiesen eine sehr geringe Menge an Milben auf. In Studien des Deutschen Bienen-Monitorings wurden im Herbst durchschnittlich über 200 Milben pro 10.000 Bienen gezählt (Schroeder 2014). Diese Werte liegen etwas über denen des hier vorgestellten Feldversuchs. Bevor die Völker aufgestellt wurden, sind sie im brutfreien Zustand mit Perizin® gegen den Milbenbefall behandelt worden. Hierdurch starteten sie nahezu milbenfrei in den Versuch. Zusätzlich wurde im Winter eine weitere Behandlung gegen die Milben vorgenommen, was ebenfalls zum geringen Befallsgrad der Völker beitrug. Da alle Völker am Versuchsstandort zur gleichen Zeit und auf gleiche Weise behandelt wurden, konnte ein Neueintrag von Milben über benachbarte Völker vermieden werden.

Bienen zeigen gegenseitiges Putzverhalten, um Ektoparasiten wie Milben zu entfernen (Moosbeckhofer 1992, Ruttner und Hänel 1992). Die leicht erhöhte Anzahl an Milben in den mit 2000 ppb Thiacloprid gefütterten Völkern könnte ein Hinweis darauf sein, dass Bienen durch die Aufnahme von Thiacloprid weniger aktiv sind und somit weniger Milben

durch Putzen entfernen. Um die weitere Entwicklung des Befalls der Völker mit Milben zu beobachten, würde ein Versuch mit denselben Völkern über einen Zeitraum von mehreren Jahren mehr Aufschluss geben.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Untersuchungen an Vollvölkern mit einer feldrelevanten und einer zehnfach höheren Dosis an Thiacloprid keine Auswirkungen zeigten, die darauf hinweisen, dass Völker unter den entsprechenden Bedingungen zusammenbrechen. Es muss allerdings beachtet werden, dass Bienenvölker unter normalen Bedingungen in der Imkerei weiteren Faktoren ausgesetzt sind, die sich gegenseitig negativ beeinflussen können. Bienenvölker werden nicht jedes Jahr neu als Kunstschwärme gebildet und im brutfreien Zustand gegen *Varroa destructor* behandelt, sodass sie nahezu milbenfrei sind. Während der Honigsaison findet keine chemische Behandlung gegen die Milben statt, sodass die Bienen nicht nur den unter Umständen eingetragenen Insektiziden, sondern auch den Milben ausgesetzt sind. Auch das Risiko für die Belastung durch Krankheiten wurde in dem hier vorgestellten Versuch durch die Behandlung gegen die Milben im brutfreien Zustand für die Völker minimiert. Besonders Viruserkrankungen werden durch Milben übertragen (Bowen-Walker 1999, Emsen 2015). Ein weiterer zu bedenkender Aspekt ist die gleichzeitige Behandlung der Pflanzen mit mehreren unterschiedlichen Substanzen. Schmuck et al. (2003) beobachteten unter Laborbedingungen negative synergistische Effekte von Thiacloprid mit verschiedenen Fungiziden. Dies konnten sie jedoch in einer folgenden Feldstudie nicht erneut feststellen.

Nachdem in der vorliegenden Arbeit keine Effekte von Thiacloprid auf das gesamte Bienenvolk beobachtet werden konnten, wurden in den folgenden dargestellten Versuchen Auswirkungen auf das Verhalten von Einzelbienen untersucht.

---

## 3 Versuche mit kleinen Bienenvölkern in Mini-Plus-Beuten

### 3.1 Methoden

#### 3.1.1 Bienenvölker und Standortbedingungen

Für die folgenden Versuche (Kapitel 4, 5 und 6) wurde mit Bienenvölkern gearbeitet, die alle aus demselben Betrieb stammten (Imkerei Ullmann, Erlensee). Völker aus demselben Versuchsjahr enthielten jeweils Geschwisterköniginnen; hierdurch sollen möglichst ähnliche Versuchsvoraussetzungen für alle Völker sichergestellt werden.

Die Versuche wurden mit den Bienen der Art *Apis mellifera*, Unterart *Apis mellifera carnica*, meist in Mini-Plus-Beuten (=Bienenkästen), durchgeführt. Diese Beuten haben eine Größe von ca. 30 x 30 x 26 cm (Länge x Breite x Höhe; Imkereibedarf Heinrich Holtermann KG, <http://www.holtermann-shop.de/>). Die Völker in den Mini-Plus-Beuten können eine Stärke von bis zu ca. 4000 Bienen erreichen. Über ein Gitter am Boden der Beute ist die Belüftung sichergestellt. Auf die Zarge kann ein Fütterer aufgesetzt werden, der es erlaubt, die Bienen direkt im Volk mit Futter zu versorgen.

Die Versuche sollten unter möglichst freilandähnlichen Bedingungen stattfinden. Um jedoch eine erfolgreiche und kontrollierte Einfütterung zu ermöglichen, wurden die Bienenvölker, die künstlich eingefüttert werden sollten, im Freien unter halbrunden Flugzelten mit einer Grundfläche von 6 x 5,6 Metern und einer Höhe von 2,5 Metern aufgestellt. In jedes Zelt-Kompartiment wurden zwei Mini-Völker gestellt, die jeweils mit dem gleichen Futter eingefüttert wurden, um eine mögliche Verschleppung der Inhaltsstoffe des Futters in andere Völker zu vermeiden.

Alle Völker waren im Umkreis von ca. 20 Metern von N50° 13.210 E 008° 33.160 („Siedlungslehrhof“, Oberursel Hohemark) aufgestellt. Die Versuche fanden in drei aufeinanderfolgenden Jahren von Frühjahr bis Herbst (April bis Oktober) statt.

### **3.1.2 Futter**

Für die Untersuchungen zum Einfluss der chronischen Aufnahme von Thiacloprid wurde den Bienenvölkern Apiinvert® (Zuckersirup, Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt) mit der für den jeweiligen Versuch entsprechenden Menge Thiacloprid verfüttert.

Zum Anmischen des „Versuchsfutters“ (= Thiacloprid-haltiges Futter) wurde zunächst das Thiacloprid in 10 ml Aceton gelöst. Anschließend wurde die Acetonlösung mit 50 ml Wasser gemischt. Um eine gute Verteilung der Lösung im Zuckersirup zu erzielen, wurde sie zunächst mit einer kleinen Menge Sirups verrührt und im Folgenden mit dem restlichen Sirup gemischt. Das Futter für die Kontrollvölker (im Folgenden als „Kontrollfutter“ bezeichnet) wurde parallel nach den gleichen Schritten, ohne die Zugabe von Thiacloprid, aber mit der gleichen Menge Aceton, hergestellt.

Alle Völker unter den Flugzelten bekamen täglich frisch gemahlene Pollen in Schälchen, ca. zwei Meter vom Bienenstock entfernt, angeboten. Eine ausreichende Versorgung des Volkes mit Pollen sicherzustellen ist sehr wichtig, da für die Aufzucht der Larven Pollen benötigt wird. In den Versuchen wurde wiederholt beobachtet, dass Bienen aus den Thiacloprid-gefütterten Völkern wenig Pollen sammelten. Aus den im Abstand von 2 Metern von den Bienenstöcken unter den Flugzelten aufgestellten Pollenschälchen wurde nur ein geringer Teil des Pollens von den Bienen gesammelt, und in den Völkern konnten keine Pollenvorräte festgestellt werden. Gill et al. (2012) und Feltham et al. (2014) machten sehr ähnliche Beobachtungen bei Sammlerinnen von Hummelvölkern. Nach chronischer Fütterung mit dem Neonikotinoid Imidacloprid stellten sie signifikant verringerte Leistungen der Hummeln beim Sammeln von Pollen fest.

Deshalb wurde die Pollenversorgung der Bienenvölker in allen folgenden Versuchen sichergestellt. Hierfür wurden entweder Pollenwaben aus anderen Völkern oder frisch gemahlener, in eine leere Wabe gestrichener Pollen direkt in die Bienenvölker eingehängt.

### **3.1.3 Rückstandsanalysen**

Das angerührte Versuchsfutter sowie das nach mehreren Wochen eingelagerte Futter der unter den Flugzelten aufgestellten Mini-Völkern wurden auf die Konzentration an Thiacloprid untersucht. Von einem Teil der Völker wurden Bienen- und Puppenproben entnommen und ebenfalls auf die Thiacloprid-Konzentration analysiert. Die Analysen

wurden in Laboren und von Mitarbeitern der Bayer CropScience AG in 40789 Monheim am Rhein durchgeführt.

### 3.1.4 RFID-Methode

Die Bewegungen der Bienen am Stockeingang können mit Hilfe der sogenannten RFID-Technik aufgezeichnet werden. Hierfür wird ein kleiner Micro-Chip auf den Thorax der Biene geklebt. Die Chips („mic3 CHIP 16kbit“; microsensys GmbH Erfurt) arbeiten passiv ohne eigene Stromquelle. Auf jedem Transponder ist eine individuelle ID-Nr. (Identifikationsnummer) gespeichert. Diese IDs werden durch Lesegeräte, die RFID-Scanner („2k6 HEAD“, microsensys GmbH Erfurt)), ausgelesen. Am Eingang des Bienenstocks werden Plexiglas® Tunnel aufgestellt, die den Bienen als Eingang dienen (Abbildung 9). In den Plexiglas® Tunneln sind Metalltunnel fixiert, diese haben zwei Durchgänge, durch die die Bienen laufen können. Über jedem Durchgang wird ein RFID-Scanner installiert. Wenn RFID-markierte Bienen die Scanner passieren, wird die jeweilige Chip-ID ausgelesen und mit Datum und Uhrzeit gespeichert. Jeder Scanner besitzt zwei Antennen, die hintereinander angeordnet sind. Somit wird ermöglicht, dass nicht nur der Zeitpunkt, zu dem der Chip registriert wird, bestimmt werden kann, sondern zusätzlich die Richtung, in der der Chip den Scanner, beziehungsweise die Biene den Stockeingang, passiert.



**Abbildung 9: Plexiglas® Tunnel mit Metalltunneln und RFID-Scannern.**

Der Plexiglas® Tunnel wird vor dem Stockeingang angebracht. Über den zwei Durchgängen der Metalltunnel sind RFID-Scanner installiert, die die markierten Bienen registrieren.

Die für die Versuche genutzten RFID-Chips haben eine Größe von 1,6 x 1,9 x 0,5 mm bzw. 1,7 x 2 x 0,5 mm (Breite x Länge x Höhe) und ein Gewicht von 4 mg. Das Gewicht liegt

hiermit weit unter der Tragekapazität der Bienen von bis zu 70 mg (Nektarsammlerinnen, Parker 1926, zitiert nach Winston 1987), sodass sich der Chip nicht einschränkend oder störend auf das Flugverhalten der Bienen auswirken sollte.

Um die Bienen mit RFID-Transpondern auszustatten, werden je nach Versuch entweder frisch geschlüpfte Bienen gesammelt, oder ausfliegende Bienen am Stockeingang abgefangen. Die Bienen werden in Königinnen-Zeichenröhrchen gesetzt, die an einem Ende mit einem groben Netz verschlossen sind. Sie werden durch einen mit Schaumstoff besetzten Stopfen leicht gegen das Netz gedrückt, sodass sie fixiert und der Thorax frei zugänglich ist (Abbildung 10).



**Abbildung 10: Biene mit Chip.**

Um die Biene mit dem RFID-Chip zu markieren, wird sie in einem Röhrchen unter einem Netz fixiert und der Chip auf den Thorax geklebt.

Der Chip wird in zwei aufeinanderfolgenden Schritten auf dem Thorax der Biene fixiert. Zunächst wird ein kleiner Tropfen flüssigen Schellacks (Lumberjack Schellack-Streichlacknatur, Alfred Clouth Lackfabrik GmbH&Co., Offenbach, Deutschland) auf dem Thorax verstrichen. Durch den flüssigen Schellack werden die Bienenhaare verklebt und die Oberfläche zum Aufkleben des Chips geglättet. Im folgenden Schritt wird der RFID-Chip mit einem Tropfen viskosen Schellacks auf den Thorax geklebt. Die Biene wird noch für ca. 15 Minuten im Röhrchen fixiert gehalten, bis der Schellack getrocknet ist und somit nahezu sichergestellt ist, dass sich der Chip nicht mehr ablöst.

### **3.1.5 Fehlerrate der Scanner**

Um eine Aussage über die Genauigkeit beziehungsweise die Fehlerhäufigkeit bei der Arbeit mit RFID-Chips und den entsprechenden Scannern treffen zu können, wurden über einige Zeit mit RFID-Chips markierte Bienen beobachtet, die den Bienenstock durch den Tunnel verließen oder durch den Tunnel ins Volk zurückkehrten. Die Identifikationsnummern der RFID-Chips können nur über sehr geringe Distanzen von bis zu 5 mm (Information: microsensys GmbH Erfurt) vom Scanner ausgelesen werden. Es besteht die Möglichkeit, dass Bienen, die mit dem Thorax nach unten gerichtet durch den

Tunnel laufen, nicht registriert werden. In diesem Fall befindet sich der aufgeklebte Chip in einer Entfernung von mehreren Millimetern von den Antennen der Scanner entfernt. Um diese Problematik zu unterbinden oder zumindest zu minimieren, wurden die von Sebastian Streit (Streit et al. 2003) genutzten Tunnel von Christof Schneider (Dissertation 2011) weiterentwickelt. Die modifizierten Tunnel sollen durch ihre spezielle Form gewährleisten, dass die Bienen sie nur mit dem Thorax nach oben passieren können (Abbildung 11).



**Abbildung 11: Durchgang im Metalltunnel mit Metalldrähten.**

Die Durchgänge sind so konstruiert, dass die Bienen mit dem Rücken nach oben hindurchlaufen. Die Metalldrähte sollen verhindern, dass die Bienen von der Tunnelwand aus mit dem Bauch nach oben in den Durchgang laufen.

(Foto: Jonas Weil)

Die Metalltunnel haben eine zusätzliche Vorrichtung in Form von Metalldrähten. Diese werden vom Metalltunnel ausgehend nach außen gebogen. Die Bienen laufen nicht über die spitzen Enden der Metalldrähte. Hiermit wird verhindert, dass die Bienen von der Wand des Plexiglastunnels aus die Metalltunnel betreten. Nur wenn sie über den Boden in den Tunnel hineinlaufen, müssen sie keine Metalldrähte passieren und befinden sich dann in der gewünschten Position, mit dem Thorax nach oben, unter den Antennen der Scanner.

### 3.1.6 Datenauswertung

Die auf den Scannern gespeicherten Daten werden täglich mithilfe des Programms „Bee II Application“ (microsensys GmbH Erfurt) ausgelesen und anschließend mithilfe der Statistik-Software „SPSS Statistics 20“ (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) ausgewertet. Hierfür wurden zum Teil neue Syntaxen geschrieben, teils wurde mit Syntaxen von Christof Schneider (Dissertation 2011) gearbeitet.

## **4 Brutentwicklung unter chronischer Fütterung von Bienenvölkern mit Thiacloprid**

### **4.1 Einleitung**

Bienen durchlaufen als holometabole Insekten vier Entwicklungsstadien. Drei Tage nachdem die Eier gelegt wurden, schlüpfen die Larven (von Frisch 1977). Diese werden über fünf Tage von den Ammenbienen mit Futter versorgt. Während dieser Zeit nehmen sie etwa das 500fache an Gewicht zu und wiegen am Ende des Larvenstadiums im Durchschnitt 150 mg (Jay 1963). Am neunten Tag werden die Brutzellen von den Ammenbienen verdeckelt. Ab dem 12. Tag verpuppen sich die Larven und durchlaufen die Metamorphose, bis sie schließlich am 21. Tag als adulte Bienen schlüpfen.

Während der Larvenentwicklung wird die Brut von den Ammenbienen mit Futter versorgt (Haydak 1970). Hierfür produzieren die Ammenbienen Futtersaft in speziellen Drüsen. Die Arbeiterinnen-Larven erhalten in den ersten zwei Tagen zu 60 - 80 % ein Futtersekret, das in den Hypopharynxdrüsen, auch Futtersaftdrüsen genannt, gebildet und mit Honig, Verdauungsenzymen und Wasser vermischt wird. Die übrigen 20 - 40 % bestehen aus einer Mischung von Sekreten der Mandibeldrüsen und der Hypopharynxdrüsen. Die Larven von Arbeiterbienen bekommen diesen Futtersaft während der ersten zwei Tage des Larvenstadiums gefüttert. Ab dem dritten Tag werden die Larven zusätzlich mit Honig und Pollen gefüttert (Winston 1987, Kunert und Crailsheim 1988).

Der ins Volk eingetragene Pollen ist für die Fütterung und Entwicklung der Larven besonders wichtig. Nach Schmickl und Crailsheim (2002) ändert sich die „Brutpflegefrequenz“ für junge Larven entsprechend der vorhandenen Pollenmenge bzw. dem Verhältnis von Pollenmenge zu Larvenanzahl. Ist wenig Pollenvorrat im Volk vorhanden, werden junge Larven ausgeräumt. Wenn über einen kürzeren Zeitraum Pollenmangel besteht, nutzen die Bienen ihre körpereigenen Energiereserven in Form von Proteinen zur Herstellung des Larvenfutters (Haydak 1970). Die älteren Larven (4 Tage alt) werden nicht ausgeräumt, sondern mit dem noch vorhandenen Pollen gefüttert (Schmickl und Crailsheim 2002). Auch in den ersten Tagen nach dem Schlüpfen der Bienen spielt die Versorgung mit Pollen eine wichtige Rolle. Nehmen die adulten Bienen in den ersten fünf

Lebenstagen zu wenig Pollen auf, resultiert dies in einer mangelhaften Entwicklung der Drüsen und einer verkürzten Lebensdauer (Maurizio 1950, Haydak 1970).

Bienenlarven, die durch Krankheiten in den Brutzellen sterben, werden sehr schnell von Arbeiterinnen ausgeräumt. Hierdurch wird eine Verbreitung von Krankheitserregern, die die Bienenbrut befallen, verhindert (Rothenbuhler 1964). Die Bienenlarven werden von den adulten Bienen entweder gefressen, oder bis zu 100 m weit aus dem Bienenstock weggeflogen.

Subletale Dosen von Neonikotinoiden können negative Effekte auf die Brut von sammelnden Nutzinsekten haben. So stellen Whitehorn et al. (2012) fest, dass in mit Imidacloprid gefütterten Hummelvölkern weniger Königinnen nachgezogen wurden. Sandrock et al. (2014) beobachteten in Versuchen mit Wildbienen eine Reduktion der Brutmenge um nahezu 50 % durch die Aufnahme von subletalen Mengen an Clothianidin und Thiamethoxam.

Thiacloprid wird nicht nur als Pflanzenschutzmittel gegen adulte Insekten, sondern auch gegen Larven, wie beispielsweise die des „Cranberry Fruitworm“ *Acrobasis vaccinii* Riley, eingesetzt (Wise et al. 2010). Auch im Einsatz gegen die Kartoffelmotte *Phthorimaea operculella* Zeller verringert Thiacloprid die Überlebensrate der Larven und die Schlupfrate (Saour 2008).

In vorherigen Versuchen wurden Effekte durch die chronische Fütterung mit Thiacloprid auf die Brut beobachtet (Johannes Fischer, persönliche Mitteilung). Nach chronischer Einfütterung von Bienenvölkern mit 8800 ppb Thiacloprid wurde im Winter unter Flugraumbedingungen festgestellt, dass in den Völkern keine verdeckelte Brut mehr vorhanden war. Die Brutflächen wurden in diesen Versuchen in Abständen von ein bis zwei Wochen abgezeichnet.

Nach den Ergebnissen aus den Versuchen von Fischer lassen sich mehrere Ursachen für das Ausbleiben der verdeckelten Brut vermuten. So könnten die Larven selbst durch das Futter, das auch von der Königin aufgenommen wird, geschädigt sein und deswegen von den Arbeiterbienen ausgeräumt werden. Auch ein verändertes Verhalten der Arbeiterbienen durch die Aufnahme des Thiacloprids ist denkbar, sodass die Bienen die Brutpflege nicht mehr, oder nur in unzureichender Weise, leisten können.

In Anlehnung an diese Ergebnisse wurde für die hier vorliegende Arbeit der Versuchsaufbau verändert und erweitert. Um Aussagen über die Ursachen für das Ausbleiben verdeckelter Brut treffen zu können, wurde die Entwicklung der Brut häufiger, alle zwei bis drei Tage, dokumentiert. Hierdurch wurde sichergestellt, dass alle Entwicklungsstadien der Arbeiterinnen-Brut (3 Tage Ei, 5 Tage Larve, 13 Tage verdeckelt) detektiert und aufgezeichnet wurden.

## **4.2 Material und Methoden**

### **4.2.1 Versuchsaufbau**

Im ersten Versuchsjahr wurden vier Bienenvölker in der Größe eines Ablegervolkes (5 Waben im Zandermaß, 42x22 cm) im Freien unter Flugzelten aufgestellt. Die Bienen wurden auf ausgebaute leere Waben umgesetzt und anschließend mit dem entsprechenden Futter eingefüttert. Die Versuchsvölker erhielten Futter mit einer Thiacloprid-Konzentration von 8800 ppb, die Kontrollvölker erhielten Kontrollfutter. Zusätzlich bekamen die Bienen täglich frisches Wasser in Schälchen außerhalb und frisch gemahlene Pollen sowohl außerhalb als auch innerhalb des Bienenstocks angeboten. Nach fünf Wochen wurden von den bestifteten Waben ca. 6 x 10 cm große Flächen ausgeschnitten und zwischen den Völkern getauscht. Die bestifteten Wabenstücke beider Kontrollvölker wurden in die Thiacloprid-behandelten Völker eingebaut und umgekehrt. Nach dem Wabentausch wurden die Königinnen in einen im Volk befindlichen Käfig gesetzt, um zu verhindern dass sie während des Versuchs neue Eier legen. Um die weitere Entwicklung der Brut zu beobachten, wurden die Brutflächen im ersten Versuchsjahr alle zwei Tage auf eine Folie abgezeichnet.

Im zweiten Versuchsjahr wurden am gleichen Standort unter gleichen Bedingungen vier Bienenvölker in Mini-Plus-Beuten (ca. 3000 - 4000 Bienen pro Volk) aufgestellt, auf neue Waben umgesetzt und eingefüttert. Diesmal wurden die Brutflächen nicht mehr abgezeichnet sondern, ebenfalls alle zwei Tage, abfotografiert. Zudem wurden in diesem Versuch keine Wabenstücke mehr ausgeschnitten, sondern ganze Brutwaben, die kein Futter enthielten, zwischen den Völkern ausgetauscht.

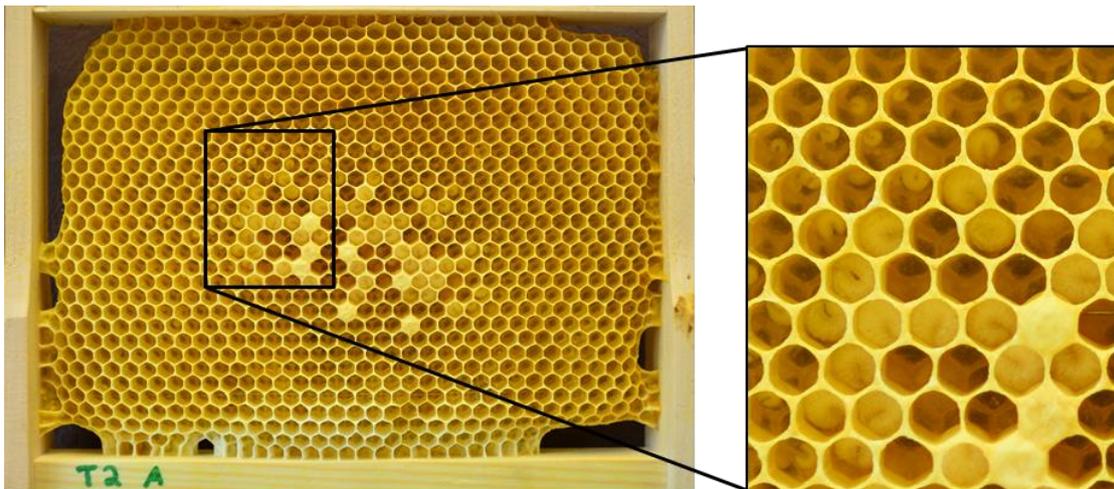
Junge Larven werden aus den Waben ausgeräumt, wenn es an Proteinquellen mangelt (Schmickl und Crailsheim (2002), siehe auch Kapitel 4.1). Deshalb wurde die Versorgung der Völker mit Pollen durch das Einhängen von Pollenwaben sichergestellt (siehe Kapitel 3.1.2)

## **4.3 Ergebnisse**

### **4.3.1 Entwicklung der Brut in Kontrollvölkern und Versuchsvölkern**

Im ersten Versuchsdurchlauf (2013) wurden die Brutzellen auf den Waben der Versuchsvölker und Kontrollvölker alle 2-3 Tage abgezeichnet, und die Zellen je nach Altersstadium der Brut markiert (Eier, Larven, verdeckelte Brutzellen). Bereits am dritten Tag waren ca. 95 % der vorhandenen Brut aus den ausgetauschten Wabenstücken ausgeräumt worden. Am fünften Tag war noch ca. 1 % der ursprünglichen Brut in den ausgetauschten Stücken vorhanden. Auch in den um die Schnittstellen herum liegenden Wabenbereichen waren einige Eier und Larven ausgeräumt worden (Daten nicht abgebildet).

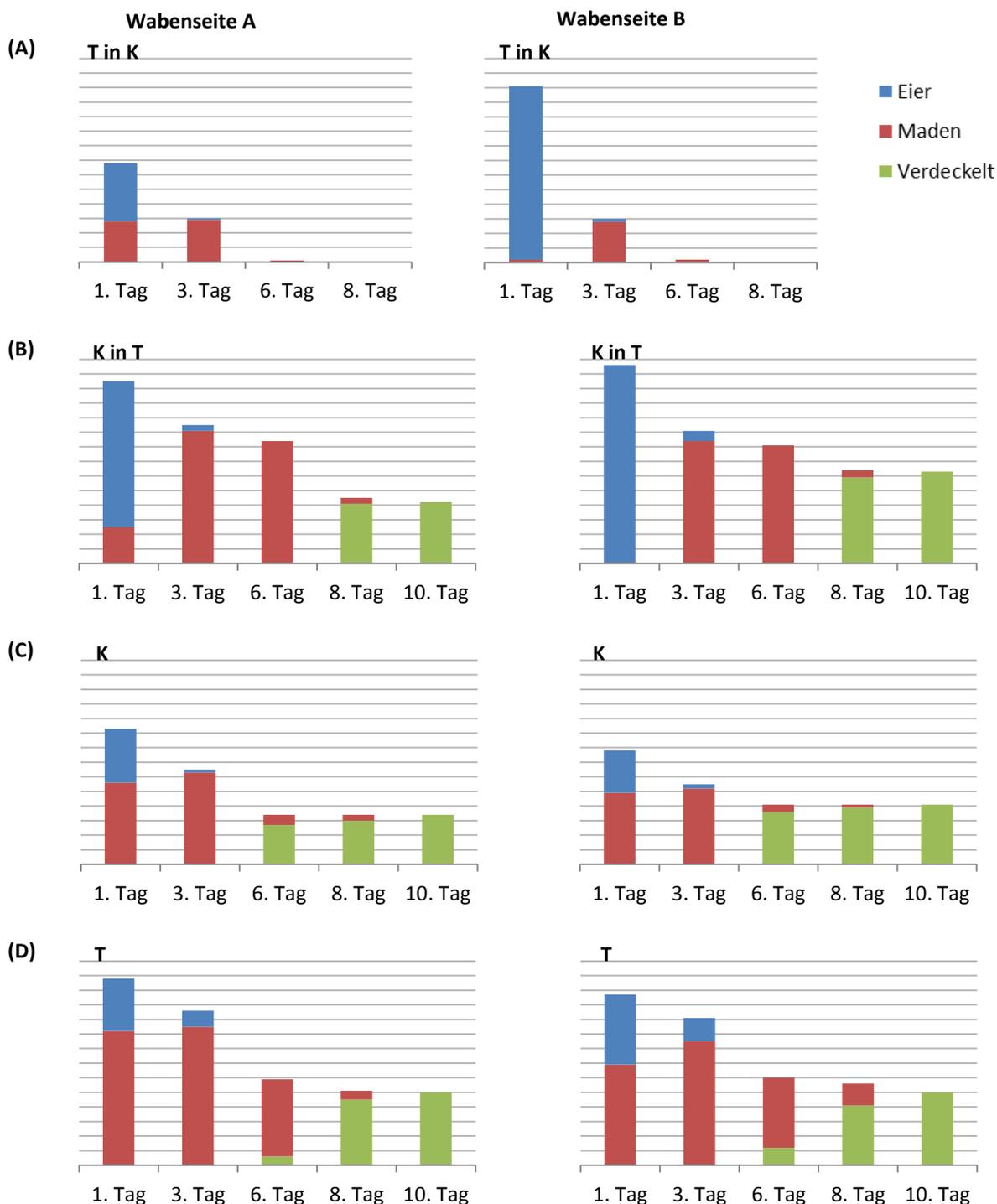
Im zweiten Versuchsdurchlauf (2014) wurden die Brutwaben von Versuchsvölkern (Fütterung mit 8800 ppb Thiacloprid) und Kontrollvölkern über einen Zeitraum von zehn Tagen alle 2-3 Tage abfotografiert (Abbildung 12).



**Abbildung 12: Fotografie einer Brutwabe im Versuchsvolk T2 am 6. Versuchstag.**

Sechs Tage nach Beginn des Versuchs sind aus den Eiern Larven geschlüpft. In der Vergrößerung sind deutlich die Larven in verschiedenen Altersstufen zu erkennen. Einige Brutzellen wurden bereits verdeckelt.

Am ersten Versuchstag waren in den Waben Eier und junge Larven vorhanden. Über zehn Tage wurde der Entwicklungsverlauf der Brut beobachtet. Auf allen Brutwaben und in allen Völkern wurde ein Teil der Brut ausgeräumt. Auf der Wabe, die vom Versuchsvolk (Thiacloprid) ins Kontrollvolk umgehängt wurde, wurde bis zum 6. bzw. 8. Tag die Brut komplett ausgeräumt. In den Brutwaben aus dem Kontrollvolk, die ins Kontrollvolk und ins Thiacloprid-gefütterte Volk eingehängt wurden, hat sich die noch vorhandene Brut bis zum letzten Versuchstag zu Puppen entwickelt. Dasselbe Ergebnis wurde auf der Brutwabe des Thiacloprid-gefütterten Volkes, die in dasselbe Volk zurückgehängt wurde, beobachtet (Abbildung 13).



**Abbildung 13: Entwicklung der Bienenbrut in Kontrollvölkern (K) und Versuchsvölkern (T).**

Aufgetragen ist der Verlauf der Brutentwicklung auf je beiden Seiten der Waben (A und B) vom ersten bis zum zehnten Tag. Die Balken stellen die Anzahl an Eiern, Larven und verdeckelter Brut dar. Eine Hilfslinie = 10 Stück. **(A)** Brutwabe „8800 ppb Thiacloprid“ wurde in Volk „Kontrolle“ eingehängt. **(B)** Brutwabe „Kontrolle“ wurde in Volk „Thiacloprid 8800 ppb“ eingehängt. **(C)** Brutwabe „Kontrolle“ verbleibt in Volk „Kontrolle“. **(D)** Brutwabe „8800 ppb Thiacloprid“ verbleibt in Volk „8800 ppb Thiacloprid“.

Die Brutwaben der Versuchs- und Kontrollvölker enthielten zu Beginn des Versuchs ca. 60 - 130 Eier und junge Larven. Sowohl auf der Kontrollwabe, die ins Versuchsvolk eingehängt wurde, als auch in der Versuchswabe und der Kontrollwabe, die in den Ausgangsvölkern verblieben sind, wurde ein Teil der Brut (bis zu 60 %) ausgeräumt. Der Rest der Brut war spätestens am zehnten Versuchstag verdeckelt. Im Gegensatz hierzu war auf der Versuchswabe, die ins Kontrollvolk eingehängt wurde, am achten Tag die komplette Brut ausgeräumt; es wurde keine Brut im Puppenstadium beobachtet.

Die Brutentwicklung über die Versuchszeit und der jeweilige Anteil an ausgeräumter Brut (Brutverlust) verlaufen auf beiden Seiten der jeweiligen Waben sehr ähnlich.

**Tabelle 5: Verdeckelte Brutwaben [%].**

Anteil der nach 8 bzw. 10 Tage verdeckelten Brutwaben von den ursprünglich vorhandenen Brutwaben.

Brutwabe in Volk	Nach 8 bzw. 10 Tagen verdeckelte Waben [%] der ursprünglichen Brutwabenanzahl
Thiacloprid-Wabe in Kontrollvolk	0 %
Kontroll-Wabe in Thiaclopridvolk	40 %
Thiacloprid-Wabe in Thiaclopridvolk	41 %
Kontroll-Wabe in Kontrollvolk	44 %

Von allen Waben, auf denen nach 10 Tagen verdeckelte Brut vorhanden war, war ein großer Teil der zu Beginn des Versuchs vorhandenen Brut ausgeräumt worden. Nach zehn Tagen waren nur noch 40 - 44 % der ursprünglichen Brut vorhanden und verdeckelt (Tabelle 5).

#### **4.3.2 Rückstandsanalysen**

Um die Konzentration an Thiacloprid im Futter zu überprüfen, wurden im ersten Versuchsjahr sowohl direkt vom angerührten Futter als auch vom eingelagerten Futter (1 Monat bzw. 2 Monate nach Beginn der Fütterung) Proben genommen und analysiert (Tabelle 6).

**Tabelle 6: Rückstandsanalysen vom ersten Versuchsdurchlauf.**

Das angerührte und das eingelagerte Futter wurden auf den Gehalt an Thiacloprid und Thiacloprid-Amid untersucht. LOQ = nicht quantifizierbar (< 0,001 mg/kg bzw. < 1 ppb); LOD = nicht nachweisbar (< 0,0003 mg/kg bzw. < 0,3 ppb).

Versuchsgruppe	Probe	Volk	Konzentration Thiacloprid [ppb]
<b>Kontrolle</b>	angerührtes Futter		< LOD
	eingelagertes Futter (nach 1 Monat)	1	1
		2	< LOQ
	eingelagertes Futter (nach 2 Monaten)	1	3
		2	4
	<b>Thiacloprid 8800 ppb</b>	angerührtes Futter	
eingelagertes Futter (nach 1 Monat)		1	8600
		2	5700
eingelagertes Futter (nach 2 Monaten)		1	5600
		2	4800

Die angestrebte Konzentration von 8800 ppb Thiacloprid im Futteransatz wurde nahezu erreicht; die Probenanalyse ergab eine Konzentration von 8300 ppb. Die im Abstand von jeweils vier Wochen entnommenen Proben des eingelagerten Futters zeigen eine Abnahme der Thiacloprid-Konzentration im Futter. Eine Ausnahme bildet hier die erste Probe aus Volk 1. Die Konzentration von 8600 ppb Thiacloprid ist hier höher als die des angesetzten Futters. In den nach zwei Monaten entnommenen Proben ist die Konzentration an Thiacloprid auf 57 % bzw. 67 % der Ausgangskonzentration gesunken. In den Proben des eingelagerten Futters aus den Kontrollvölkern wurden geringe Konzentrationen an Thiacloprid (3 bzw. 4 ppb) nachgewiesen.

Im zweiten Versuchsdurchlauf wurden neben Proben des angemischten und eingelagerten Futters zusätzlich Bienen- und Puppenproben entnommen und die Thiacloprid-Konzentration analysiert. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der Rückstandsanalysen aufgetragen.

**Tabelle 7: Rückstandsanalysen vom zweiten Versuchsdurchlauf.**

Angerührtes und eingelagertes Futter sowie Bienen- und Puppenproben aus den Völkern wurden auf den Gehalt an Thiacloprid und Thiacloprid-Amid untersucht. LOQ = nicht quantifizierbar (< 0,001 mg/kg bzw. < 1 ppb); LOD = nicht nachweisbar (< 0,0003 mg/kg bzw. < 0,3 ppb)

Versuchsgruppe	Probe	Volk	Konzentration Thiacloprid [ppb]	Konzentration Thiacloprid-Amid [ppb]
<b>Kontrolle</b>	angerührtes Futter		< LOD	< LOD
	eingelagertes Futter	1	2	< LOD
		2	2	< LOD
	Bienen	1	3	< LOD
		2	1	< LOD
	Puppen	1	1	< LOD
<b>Thiacloprid 8800 ppb</b>	angerührtes Futter		8900	< LOQ
	eingelagertes Futter	1	6500	120
		2	5000	95
	Bienen	1	390	14
		2	260	12
	Puppen	1	< LOD	< LOD
		2	2	< LOD

Im hergestellten Kontrollfutter wurde kein Thiacloprid nachgewiesen. Im eingelagerten Futter sowie in den untersuchten Bienen und Puppen wurde eine Thiacloprid-Konzentration von 1-3 ppb festgestellt. Der Thiacloprid-Gehalt im Futter der Versuchsvölker verringert sich im Laufe von mehreren Wochen; im eingelagerten Futter findet sich noch ein Anteil von ca. 60-70 % der ursprünglichen Konzentration. In den Bienenproben wurde ein Thiacloprid-Gehalt von 390 ppb bzw. 260 ppb ermittelt, was einem Anteil von 6 % bzw. 5,2 % der Konzentration im eingelagerten Futter entspricht. Die Puppenproben erhielten bis zu 2 ppb Thiacloprid; dies entspricht einer Menge von 0,2 ng pro Puppe. In den Futter- und Bienenproben der Versuchsvölker wurde ebenfalls das Abbauprodukt des Thiacloprids (Thiacloprid-Amid) mit Konzentrationen bis zu 120 ppb im Futter bzw. 14 ppb in den Bienenproben nachgewiesen.

#### 4.4 Diskussion

Nach den Versuchsergebnissen von Fischer wurde bei einer chronischen Fütterung mit 8800 ppb das fast vollständige Fehlen von Larven und verdeckelter Brut beobachtet. Diese Versuche wurden im Winter im Flugraum durchgeführt, sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass durch die unnatürlichen Bedingungen weitere Faktoren das Brutverhalten zusätzlich negativ beeinflussen können.

Daher wurden die in dieser Arbeit vorgestellten Versuche unter Semi-Freilandbedingungen, auf einer Wiese unter Flugzelten, im Sommer durchgeführt. In dieser Jahreszeit stehen die Bienenvölker unter normalen Wetter- und Lichtverhältnissen im Freien. Hierdurch konnten manche Faktoren, die möglicherweise beeinträchtigend oder verändernd auf das Verhalten im Volk gewirkt haben könnten (künstliches Licht, Tag-Nacht-Rhythmus 12h/12), eliminiert werden.

Es stellt sich die Frage, ob diese Ergebnisse von Fischer auf das Verhalten der Ammenbienen, oder aber auf den Zustand der Brut zurückzuführen sind. Möglicherweise könnten die Eier durch die chronische Aufnahme von Thiacloprid durch die Königin in gewisser Weise geschädigt oder verändert sein, sodass die Ammenbienen die Brut als „erkrankt“ wahrnehmen und infolgedessen ausräumen. Dies ist jedoch sehr unwahrscheinlich, da die Königin selbst nicht direkt das Thiacloprid-haltige Futter aufnimmt, sondern nur Gelee Royal, der von Arbeiterinnen hergestellt wird. Die Rückstandsanalysen ergaben, dass nur eine sehr geringe Menge (1-3 ppb) Thiacloprid in Puppen zu finden ist. Da auch Larven mit von Ammenbienen hergestelltem Futtersaft gefüttert werden, kann man davon ausgehen, dass in der Königin eine ähnlich geringe Menge an Thiacloprid zu finden wäre wie in den Puppen. Zweitens besteht die Möglichkeit, dass die Larven durch die Aufnahme des Futters geschädigt sind oder absterben und von den Arbeiterinnen ausgeräumt werden. Schließlich könnte vermutet werden, dass die Ammenbienen nach der Aufnahme des Insektizids ein verändertes Brutpflegeverhalten zeigen, das im Ausräumen der Eier und Larven resultiert, obwohl die Brut normal entwickelt ist.

Die Brut-Umhängversuche sind vier bis fünf Wochen nach Beginn der Einfütterung mit dem Versuchs- und Kontrollfutter gestartet worden. Somit ist sichergestellt, dass die

Arbeiterbienen das entsprechende Futter über einen längeren Zeitraum aufgenommen haben.

Die Versuche im ersten Durchlauf zeigten ähnliche Ergebnisse wie die von Johannes Fischer. Die Brut wurde im Stadium der Eier oder jungen Larven weitestgehend ausgeräumt. Als Folge war keine verdeckelte Brut zu beobachten, wie es auch in Fischers Versuchen der Fall war.

Allerdings wurde bei den Versuchen der hier vorgestellten Arbeit sowohl die Brut der Versuchsvölker als auch die Brut der Kontrollvölker ausgeräumt. Die Wirkung des Thiacloprids kann somit nicht die einzige Ursache für das Ausräumen darstellen.

Pro Volk war jeweils nur eine verwendbare Brutwabe für die Versuche vorhanden. Eine Kontrolle, bei der eine Brutwabe im ursprünglichen Volk verbleibt, konnte nicht durchgeführt werden. So können durch diese Ergebnisse noch keine Rückschlüsse darauf gezogen werden, ob das Ausräumen der Brut auf das Verhalten der Ammenbienen, den Zustand der Brut oder einen weiteren Faktor zurückzuführen ist.

Im ersten Versuchsdurchlauf wurde ein Teil der bestifteten Wabe ausgeschnitten und in eine andere Brutwabe eingesetzt. Diese mechanische Störung könnte zu Beschädigungen der einzelnen Brutzellen und als Folge zum Ausräumen der Brut geführt haben. Die Brutflächen wurden im ersten Versuchsdurchlauf abgezeichnet, indem eine Folie auf die Wabe gelegt und die Umrisse der Brutzellen direkt darauf abgezeichnet wurden. Auch bei vorsichtiger Behandlung der Wabe könnten hier ebenfalls kleinere Beschädigungen der Brutzellen aufgetreten sein. Das Abzeichnen der Brutfläche ermöglicht eine sehr genaue Beobachtung der Brut, ist jedoch von relativ langer Dauer (10-15 min). In dieser Zeit befindet sich die Wabe außerhalb des Bienenstocks in anderen klimatischen Bedingungen (geringere Temperaturen und eventuell geringere Luftfeuchte). Ein zu langes Auskühlen der Brut könnte ebenfalls ein beeinträchtigender Faktor für die weitere Entwicklung sein, sodass möglicherweise anschließend ein Teil der ausgekühlten Brut von Ammenbienen ausgeräumt wird.

Um die Brut und deren Entwicklung möglichst wenig zu stören, wurden im zweiten Versuchsdurchlauf einige Änderungen vorgenommen.

Die Brutflächen wurden nicht mehr abgezeichnet, sondern abfotografiert. Die Methode hat den Vorteil, dass die Brutwabe keinen möglichen mechanischen Beschädigungen ausgesetzt ist und die Zeit, während der sich die Wabe außerhalb des Bienenstocks befindet, wesentlich verkürzt ist (3-5 Minuten). Zudem wurden in diesem Versuch keine Wabenstücke mehr ausgeschnitten, sondern ganze Brutwaben, die kein Futter enthielten, zwischen den Völkern ausgetauscht. Auch hiermit wurden die mechanischen Störungen verringert.

In drei Völkern kam es zum partiellen Ausräumen der Brut. Für eine relativ genaue Beobachtung der Brutentwicklung wurden die Brutwaben alle 2 Tage aus dem Volk entnommen. Zwar dürfte es durch die kurze Dauer, die das Abfotografieren der Waben benötigte, kaum zu einem Wärmeverlust der Brut gekommen sein. Allerdings wird ein Bienenvolk beim Öffnen, Entnehmen und Zurückhängen von Waben gestört, sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass die Ammenbienen aufgrund der Störung einen Teil der Brut ausräumen.

Der Anteil an ausgeräumter Brut ist mit ca. 60 % sehr hoch; nach Ergebnissen von Fukuda und Sakagami (1968) mit der Unterart *Apis mellifera ligustica* wird in einem Vollvolk nach Umhängen einer Brutwabe in das Brutzentrum eines anderen Bienenvolkes bis zu 23 % der Brut ausgeräumt. Diese Versuche sind allerdings mit den in dieser Arbeit vorgestellten Versuchen nur bedingt vergleichbar. Die geringe Volksgröße in den Mini-Plus-Beuten und die Bedingungen unter den Flugzelten könnten einen Stressfaktor darstellen und zusätzlich das Ausräumen der Brut provozieren.

Da aus der Kontrollwabe, die im Kontrollvolk verblieben ist, 56 % der Brut ausgeräumt wurde und der Prozentanteil damit nicht weit unter dem der anderen Waben (59 % bzw. 60 %) liegt, wird diese Kontrolle als Vergleichswert herangezogen.

Von beiden Brutwaben in den Thiacloprid-gefütterten Völkern wurden 40 % bzw. 41 % der Brut verdeckelt, ein ähnliches Ergebnis zeigte sich auf der Kontrollwabe im Kontrollvolk mit 44 %. Die Ergebnisse dieses Versuchs deuten also nicht darauf hin, dass die Ammenbienen aufgrund der chronischen Aufnahme von Thiacloprid die Brut nicht mehr pflegen.

Die durchgeführten Rückstandsanalysen ergaben, dass nur minimale Konzentrationen an Thiacloprid in den Bienenpuppen vorhanden waren. Thiacloprid-Konzentrationen in der gleichen Größenordnung wurden auch in den Puppen der Kontrollvölker nachgewiesen. Somit scheint es eher unwahrscheinlich, dass das Ausräumen der Brut auf eine direkte Schädigung der Larven durch Thiacloprid zurückzuführen ist. Ähnliche Beobachtungen machten auch Pettis et al. (2012). In ihren Versuchen wurden die Bienenvölker über mehrere Wochen mit Konzentrationen von 5 ppb und 20 ppb Imidacloprid eingefüttert. In den Bienenlarven der eingefütterten Völker konnten keine Imidacloprid-Rückstände detektiert werden.

Wessler et al. (eingereicht) entdeckten, dass die Futtersaftdrüsen von Ammenbienen nach chronischer Fütterung mit Thiacloprid sehr viel kleiner waren als die Drüsen von Kontrollbienen. In diesen Drüsen wird der Futtersaft für die Larven hergestellt, der eine hohe Konzentration an Acetylcholin enthält. Im Futtersaft der chronisch mit Thiacloprid gefütterten Ammenbienen wurde eine stark verringerte Konzentration an Acetylcholin gefunden. Beim Menschen wirkt Acetylcholin als Regulator von vielen Signalwegen in der Zelle und ist regulierend an grundlegenden Zellfunktionen beteiligt. Hierzu gehören zum Beispiel Genexpression, Ausbildung von Zellverbindungen, Migration oder Sekretion (Wessler et al. 2001). Diese Zellfunktionen spielen eine wichtige Rolle bei der Entwicklung. Bereits 1965 vermuteten Hayashiya et al. die Bedeutung von Acetylcholin als Wachstumsfaktor in der Larvenentwicklung von Seidenspinnern. Eine verringerte Konzentration an Acetylcholin im Futtersaft könnte eine verzögerte Entwicklung der Bienenlarven und das Ausräumen der Brut zur Folge haben. Allerdings könnte anhand dieser Vermutung nicht erklärt werden, warum die Brut aus der Wabe, die im Versuchsvolk verblieben ist, nicht ausgeräumt wurde.

Von der Versuchs-Brutwabe (Thiacloprid), die ins Kontrollvolk eingehängt wurde, wurde hingegen sämtliche Brut (sowohl Eier als auch Larven) ausgeräumt.

In Versuchen von Visscher (1986) wurde beobachtet, dass Ammenbienen Königinnen-Larven die ihnen genetisch nah verwandt sind, im Gegensatz zu nicht-verwandten Larven bevorzugt pflegen bzw. aufziehen. Diese Beobachtungen machte er bei frisch geschlüpften Larven. Arbeiterinnen können über olfaktorische Faktoren unterscheiden,

ob andere Arbeiterinnen verwandt oder fremd sind (Breed, 1983). Bereits geringe Unterschiede in der Konzentration eines einzelnen Pheromons werden von Arbeiterinnen wahrgenommen (Kramer 1976). Visscher vermutete, dass die Bienen ebenfalls über olfaktorische Reize unterscheiden können, ob eine Larve nah mit ihnen verwandt ist oder nicht. Diese Vermutung wird durch Untersuchungen von Free und Winder (1983) unterstützt. Diese deuten darauf hin, dass ein Kontakt-Pheromon auf der Körperoberfläche der Larven ein starkes Signal zur Erkennung der Brut ist.

Pirk et al. (2007) untersuchten, wie sich die Erkennung von Verwandtschaft auf das Brut-Ausräumverhalten der Bienen auswirkt. Ihre Ergebnisse zeigten, dass Honigbienen zwischen ihnen verwandten und nicht-verwandten Eiern unterscheiden können. Die nicht-verwandten Eier wurden signifikant schneller ausgeräumt.

Diese Ergebnisse könnten die Beobachtungen der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche erklären. Möglicherweise erkennen die Kontrollbienen beim Einhängen der Versuchswabe, dass es sich um fremde Brut handelt, und räumen sie anschließend aus.

Nach Yang et al (2012) zeigten adulte Bienen beeinträchtigtes Verhalten bei der olfaktorischen Assoziation, wenn sie als Larven Imidacloprid aufgenommen hatten. In Konditionierungsversuchen zeigte sich, dass nach der Aufnahme von Imidacloprid die Fähigkeit der Bienen, Düfte unterscheiden zu können, verringert ist (Williamson und Wright 2013). Thiacloprid und Imidacloprid sind chemisch verwandt und in ihrer Struktur und Wirkungsweise ähnlich (Tomizawa und Casida 2005). Möglicherweise wirkt sich Thiacloprid daher ähnlich beeinträchtigend auf das Vermögen, Düfte zu unterscheiden, aus. Dies könnte zur Folge haben, dass die Versuchsbienen nicht mehr über olfaktorische Reize wahrnehmen können, dass es sich bei der eingehängten Brutwabe aus dem Kontrollvolk um fremde Brut handelt. Die Brut wird ebenso gepflegt und behandelt wie es im Versuchsvolk und im Kontrollvolk, in denen die Original-Brutwabe beobachtet wurde, geschieht. Im Gegensatz dazu könnten die Bienen aus dem Kontrollvolk über olfaktorische Reize erkennen, dass es sich bei der eingehängten Brutwabe aus dem Versuchsvolk um fremde Brut handelt, und sie ausräumen.

Um diese Vermutung zu überprüfen, wäre ein weiterer Versuch notwendig, bei dem Brutwaben aus Kontrollvölkern in andere Kontrollvölker umgehängt werden. Würde auch

die Brut des fremden Kontrollvolkes ausgeräumt werden, wäre dies ein weiterer Hinweis auf die Erkennung fremder Brut über olfaktorische Reize und die Möglichkeit, dass die Aufnahme von Thiacloprid dieses Erkennungsvermögen beeinträchtigt.

Die Ergebnisse der Rückstandsanalysen werden unter Punkt 7.1 diskutiert.

---

## **5 Auswirkungen von chronischer Fütterung mit Thiacloprid auf den Zeitpunkt des ersten Ausflugs und die Lebensdauer von Honigbienen**

### **5.1 Einleitung**

Wie in Kapitel 4 dargestellt wurde, konnte kein direkter Einfluss von Thiacloprid auf die Brutentwicklung festgestellt werden. Folgend stellt sich die Frage, ob adulte Bienen nach einer Thiacloprid-Exposition während des Larvenstadiums Verhaltensauffälligkeiten im Vergleich zu Kontrollbienen zeigen. Die Spanne des Alters, mit dem die Bienen zu ihrem ersten Orientierungsflug starten, ist sehr groß und reicht von 3 bis 27 Tagen (Capaldi et al. 2000), mit einem Durchschnittsalter von 6 Tagen. Auch die Spanne der Lebensdauer der Bienen ist sehr groß. So leben Bienen im Sommer teils nur 3 bis 4 Wochen, im Winter dagegen bis zu 6 Monaten (Omholt und Amdam 2004). Ab einer Außentemperatur von 13°C fliegen Honigbienen aus ihrem Stock aus, um Orientierungs- oder Sammelflüge zu unternehmen. Rückstände von Pestiziden in Brutwaben können sich auf die Entwicklung und die Lebensdauer von Bienen auswirken. In Untersuchungen von Wu et al. (2011) wurden im Wachs der Brutwaben zahlreiche Substanzen im subletalen Bereich nachgewiesen, zum größten Teil Insektizide, aber auch Fungizide, Herbizide und deren Metabolite. Es wurde keine erhöhte Mortalitätsrate der Larven festgestellt, jedoch verlängerte sich die Zeit bis zum Schlupf der jungen Bienen. Zudem verkürzte sich die Lebensdauer der Bienen. Auch auf das Flugverhalten von Hummeln wurden Effekte durch Neonikotinoide festgestellt. In Hummelvölkern trat nach Fütterung mit Imidacloprid eine Erhöhung der Anzahl an Sammlerinnen auf (Gill et al. 2014). Die Autoren vermuten, dass die Sammlerinnen durch Wirkung des Imidacloprids weniger Flüge durchführen. Als Folge werden mehr Hummeln als Sammlerinnen rekrutiert, um die Futtersversorgung sicherzustellen.

Das Flugverhalten von Bienen nach akuter Aufnahme von Neonikotinoiden ist bereits vielfach untersucht worden (Decourtye et al. 2011, Schneider et al. 2012, Fischer et al. 2014, Henry et al. 2014). Über einen Zeitraum von mehreren Wochen wurde die RFID-Methode bisher in zahlreichen Versuchen genutzt, um das Flug- und Sammelverhalten

von Hummeln und Bienen zu untersuchen (Molet et al. 2008, Tenczar et al. 2014, Perry et al. 2015).

Die lebenslange Beobachtung über RFID während der chronischen Fütterung mit Neonikotinoiden ist jedoch eine neue und bisher noch nicht angewendete Vorgehensweise. Sie erlaubt es, Effekte zu detektieren, die erst durch chronische Aufnahme der entsprechenden Substanz ausgelöst werden, ohne dabei weiter in das Geschehen und die Struktur im Bienenvolk eingreifen zu müssen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die RFID-Technik angewandt, um die Auswirkungen einer chronischen Aufnahme von subletalen Mengen an Thiacloprid auf das Ausflugsverhalten und die Lebensdauer von Honigbienen zu untersuchen.

## **5.2 Material und Methoden**

Die Untersuchungen zum Zeitpunkt des ersten Ausflugs und der Lebensdauer der Bienen wurden in drei aufeinanderfolgenden Jahren durchgeführt.

### **5.2.1 Erster Versuchsdurchlauf**

Für die Versuche wurden im Frühjahr vier Völker in Mini-Plus-Beuten unter Flugzelten mit dem Ausgang in Richtung S/SO aufgestellt; der Standort war sonnig bis halbschattig.

Das Futter wurde entsprechend der in Kapitel 3 beschriebenen Methode hergestellt. Die Versuchsvölker erhielten Futter mit einer Thiacloprid-Konzentration von 5000 ppb, die Kontrollvölker erhielten Kontrollfutter.

Nachdem die Völker unter die Flugzelte gestellt wurden, konnten sich die Bienen zwei Tage einfliegen, bis der Versuch startete. Nach zwei Tagen wurden die Völker auf Mittelwände umgesetzt, und mit dem entsprechenden Futter eingefüttert. Zusätzlich wurde eine Wasserquelle und täglich frisch gemahlener Pollen ins Flugzelt gestellt.

Wöchentlich wurden Populationsschätzungen nach der Liebefelder Schätzmethode durchgeführt. Die Anzahl der Bienen wurde, basierend auf dem Wert von 430 Bienen pro voll besetzter Wabe im Mini-Plus-Format, geschätzt. Die Brutfläche wurde ausgemessen und anschließend die Anzahl der Brutzellen errechnet (vergleiche Kapitel 2.2.3).

Nach drei Wochen wurde pro Volk je eine Brutwabe entnommen und bei 34° C und einer Luftfeuchtigkeit von 65 % in einen Brutschrank gestellt. Die geschlüpften Bienen wurden

täglich abgesammelt und mit RFID-Chips markiert. Die Hälfte der markierten Bienen wurde in das jeweilige „Ursprungsvolk“ zurückgesetzt. Die andere Hälfte wurde in ein weiteres Volk gesetzt, das im Folgenden als „Adoptivvolk“ bezeichnet wird. Das Adoptivvolk stand außerhalb des Flugzeltes und wurde nicht künstlich gefüttert. Es sollte als weitere Kontrolle dienen und die Möglichkeit geben, Bienen, die aus unterschiedlichen Ursprungsvölkern stammten, unter gleichen Bedingungen zu beobachten. Zum gleichen Zeitpunkt wurden die Flugzelte über den künstlich eingefütterten Völkern abgebaut, sodass auch die Bienen aus diesen Völkern frei fliegen konnten. Vor allen fünf Mini-Völkern wurden Tunnel mit RFID-Scannern (siehe Abschnitt 3.1.4) aufgestellt, von denen in den folgenden Wochen die aufgezeichneten Daten täglich ausgelesen wurden.

Drei Wochen nach Versuchsbeginn wurde in einem Volk (T2) das Fehlen der Königin bemerkt. In dieses Volk wurde eine neue Königin zugesetzt.

### **5.2.2 Zweiter Versuchsdurchlauf**

Im zweiten Versuchsdurchlauf wurden die Versuche mit gleichem Aufbau wiederholt. Abweichend von den Versuchen aus dem ersten Versuchsdurchlauf wurden die bestifteten Brutwaben zwischen Kontroll- und Versuchsvolk ausgetauscht. So wurden die aus dem Versuchsvolk stammenden Larven mit Kontrollfutter gefüttert, und die aus dem Kontrollvolk stammenden Larven bekamen Versuchsfutter (5000 ppb Thiaclopid). Alle Königinnen wurden über einen Zeitraum von fünf Tagen in Käfige gesetzt. Die geschlüpften Bienen wurden mit RFID-Chips markiert und auf zwei Adoptivvölker (Mini-Plus-Völker, die im Freiland standen) aufgeteilt. Ausgewertet wurden hier das Alter der Bienen bei ihrem ersten Ausflug sowie die Lebensdauer der Bienen. Populationsschätzungen wurden in diesem Versuchsjahr nicht durchgeführt.

### **5.2.3 Dritter Versuchsdurchlauf**

Im dritten Versuchsdurchlauf wurden die Versuche wie im ersten Versuchsdurchlauf durchgeführt und erweitert. Zwei Mini-Völker wurden mit Kontrollfutter, zwei Völker wurden mit Versuchsfutter (5000 ppb Thiaclopid) eingefüttert. Zusätzlich wurden zwei weitere Völker mit 8800 ppb Thiaclopid im Versuchsfutter eingefüttert. Außerdem wurde eine bestiftete Brutwabe aus einem Versuchsvolk (5000 ppb Thiaclopid) in ein Kontrollvolk umgehängt. Die Brutfläche wurde hier mit einem Drahtgitter bedeckt, um zu

verhindern, dass die Königin der Kontrollvolks neue Eier in die Waben legt. Von allen Völkern wurden frisch geschlüpfte Bienen RFID-markiert und in zwei Adoptivvölker umgesetzt. Als zusätzliche Kontrolle wurden aus beiden Adoptivvölkern ebenfalls frisch geschlüpfte Bienen RFID-markiert und jeweils in das entsprechende Volk zurückgesetzt. Die Daten wurden bis zum 26. Oktober 2014 ausgewertet. In den darauffolgenden Tagen lag die Außentemperatur unter 13° C, sodass ab diesem Zeitpunkt die Richtigkeit der Ergebnisse über die Lebensdauer der Bienen fraglich ist, da Bienen ab Temperaturen unter 13°C nicht mehr aus dem Stock ausfliegen.

### 5.3 Ergebnisse

#### 5.3.1 Fehlerrate der Scanner

Um die Fehlerrate der RFID-Methode bei der Beobachtung der Bienenbewegung am Stockeingang zu bestimmen, wurden ausfliegende und heimkehrende Bienen am Stockeingang von 4 Bienenvölkern beobachtet. Die Position der Bienen im Tunnel wurde protokolliert (Tabelle 8).

**Tabelle 8: Beobachtung der ausfliegenden und heimkehrenden Bienen im Tunnel.**

Bei 358 Bienen wurde protokolliert, wie sie den Tunnel passiert haben (mit dem Thorax nach oben oder nach unten). Die Rate der „falschen“ (= Thorax nach unten) Passagen ist in Prozent angegeben.

Volk	Bienen gesamt	hinein, Thorax nach oben	heraus, Thorax nach oben	hinein, Thorax nach unten	heraus, Thorax nach unten	Fehlerrate [%]
1 (K1)	128	57	60	0	11	9
2 (T1)	30	16	14	0	0	0
3 (K2)	118	61	53	0	4	3
4 (T2)	82	38	36	0	8	10

Von den 358 beobachteten Bienen liefen bis zu 10 % mit den Thorax nach unten gerichtet durch den Metalltunnel und unter den Antennen der Scanner hindurch. In dieser Position werden die Bienen nicht von den Scannern registriert. Entsprechend der Ergebnisse muss man bei den Scanner-Daten von einer Fehlerrate von bis zu 10 % ausgehen.

### 5.3.2 Erster Versuchsdurchlauf

#### 5.3.2.1 Rückstandsanalysen Futterproben

Für Rückstandsanalysen (Tabelle 9) wurden direkt nach Anrühren des Futters Proben genommen und sieben Wochen nach Beginn des Versuchs eingelagertes Futter aus den Versuchsvölkern entnommen.

**Tabelle 9: Analysewerte der Proben von angesetztem und vom Volk eingelagertem Futter.**

Die Futterproben wurden auf den Gehalt an Thiacloprid und Thiacloprid-Amid untersucht. Nach zwei Monaten war die detektierte Konzentration um ein Viertel verringert.

Vorgesehene Konzentration	Probe	Volk	Konzentration Thiacloprid [ppb]	Konzentration Thiacloprid-Amid [ppb]
Thiacloprid 5000 ppb	angerührtes Futter		4200	18
			4000	22
	eingelagertes Futter (nach zwei Monaten)	1	3000	42
		2	zu wenig Probenmaterial	

Die Konzentration des angesetzten Futters war mit 4000 ppb Thiacloprid um 20% geringer als die angestrebte Konzentration von 5000 ppb. Geringe Konzentrationen des Thiacloprid-Amids wurden ebenfalls nachgewiesen. Die Analyse der entnommenen Honigproben aus Versuchsvolk 2 war aufgrund einer zu geringen Probenmenge nicht möglich. In Versuchsvolk 1 wurde in der Honigprobe zwei Monate nach Beginn des Versuchs eine Thiacloprid-Konzentration von 3000 ppb festgestellt.

#### 5.3.2.2 Markierte und registrierte Bienen

Insgesamt wurden 679 Bienen nach dem Schlüpfen mit RFID-Chips markiert und auf die Versuchsvölker (Originalvölker und Adoptivvolk) aufgeteilt. Da aus der Brutwabe des Volks K2 deutlich weniger Bienen geschlüpft sind als aus den Brutwaben der anderen drei Bienenvölker, wurden aus Volk K2 keine markierten Bienen zum Adoptivvolk hinzugegeben. Von allen markierten Bienen wurden 119 nicht von den Scannern registriert, dies entspricht 17,5 %.

**Tabelle 10: Anzahl der markierten und davon registrierten Bienen.**

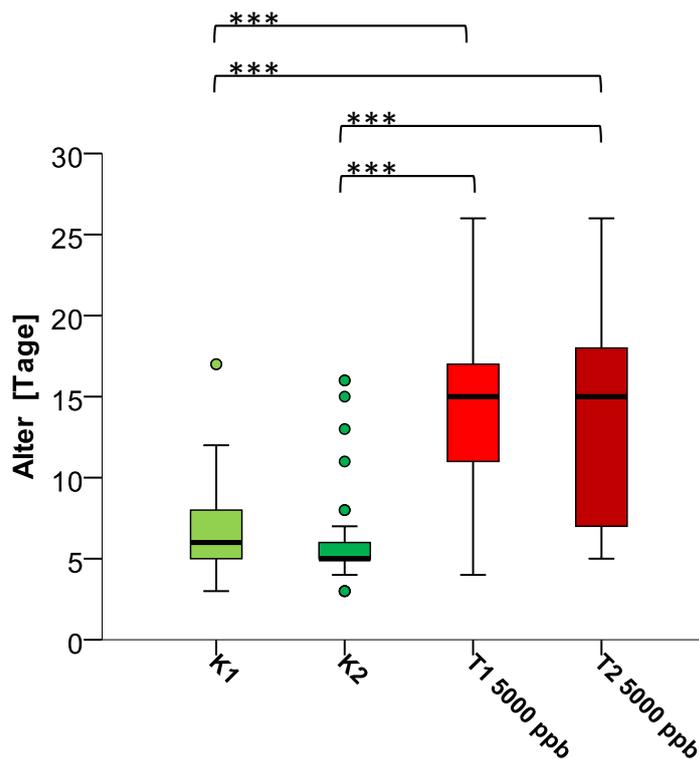
Gruppen: K = Kontrolle; T = Versuchsvolk (5000 ppb Thiacloprid); in Adoptivvolk = Bienen aus den Kontroll- und Versuchsvölkern, die auf das Adoptivvolk aufgeteilt wurden.

	K1	K2	T1	T2	K in Adoptivvolk	T1 in Adoptivvolk	T2 in Adoptivvolk	gesamt
Markierte Bienen	71	69	148	164	105	61	61	679
Registrierte Bienen	62	63	123	144	72	49	47	560
Registrierte Bienen [%]	<b>87</b>	<b>91</b>	<b>83</b>	<b>88</b>	<b>69</b>	<b>80</b>	<b>77</b>	<b>82,5</b>

In den Versuchsvölkern wurden zwischen 69 % (Kontrollbienen im Adoptivvolk) und 91 % (Kontrollvolk K2) der markierten Bienen von den Scannern registriert (Tabelle 10). Die Verlustrate an Chips oder die direkte Sterberate der frisch geschlüpften markierten Bienen liegt bei den Bienen der Kontrollvölker insgesamt bei 19,6 %. Bei den Bienen der mit Thiacloprid eingefütterten Völker ist die Verlustrate mit 16,4 % etwas geringer. Ein direkter Einfluss des Thiacloprids auf die Verlust- beziehungsweise Sterberate ist nicht ersichtlich.

### 5.3.2.3 Alter beim ersten Ausflug

Von allen RFID-markierten Bienen aus den Kontrollvölkern, den Versuchsvölkern und dem Adoptivvolk wurde das Alter ermittelt, mit dem sie ihren ersten Flug unternommen haben.



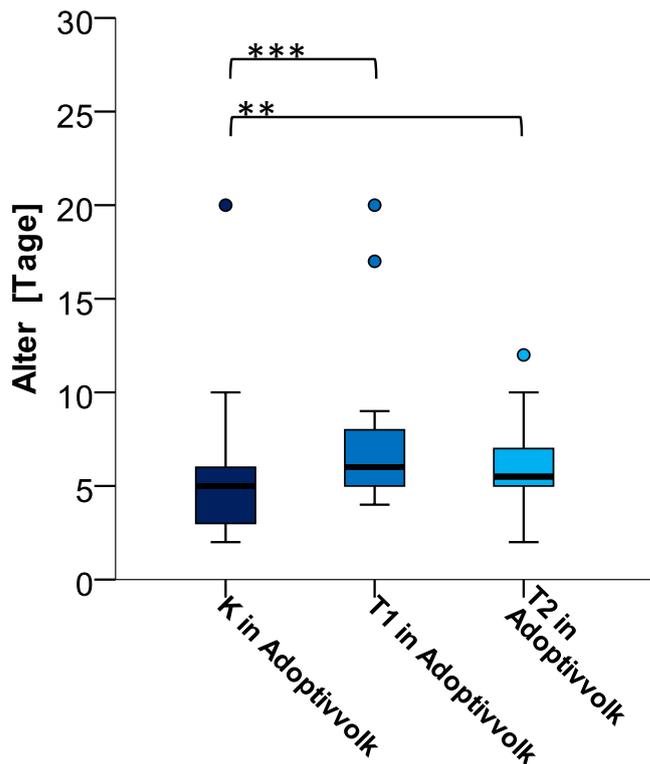
**Abbildung 14: Alter der Bienen in den Originalvölkern bei ihrem ersten Ausflug aus dem Bienenstock.**

Aufgetragen ist das Alter in Tagen, mit dem die Bienen der Originalvölker zum ersten Mal aus dem Stock ausflogen. Kreise stellen Ausreißer dar. Die Bienen der Kontrollvölker flogen signifikant früher aus als die Bienen der Versuchsvölker. Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 10. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 23.

(K = Kontrolle, T = Thiaclopid)

\*\*\* =  $p < 0,001$  (Mann-Whitney-U)

Die Bienen der Kontrollvölker flogen signifikant früher aus als die Bienen der Versuchsvölker (Abbildung 14). Während das Alter der Kontrollbienen 5 Tage (Median) beträgt, starteten die Bienen der mit Thiaclopid eingefütterten Völker erst im Alter von 15 Tagen (Median) zu ihrem ersten Flug.



**Abbildung 15: Alter der Bienen im Adoptivvolk bei ihrem ersten Ausflug aus dem Bienenstock.**

Aufgetragen ist das Alter in Tagen, mit dem die Bienen der verschiedenen Gruppen, die in das Adoptivvolk gesetzt wurden, zum ersten Mal aus dem Stock ausflogen. Kreise stellen Ausreißer dar. Auch im Adoptivvolk flogen die Bienen der Kontrollvölker signifikant früher aus als die Bienen der Versuchsvölker. Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 10. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 23.

(K = Kontrolle, T = Thiaclopid)

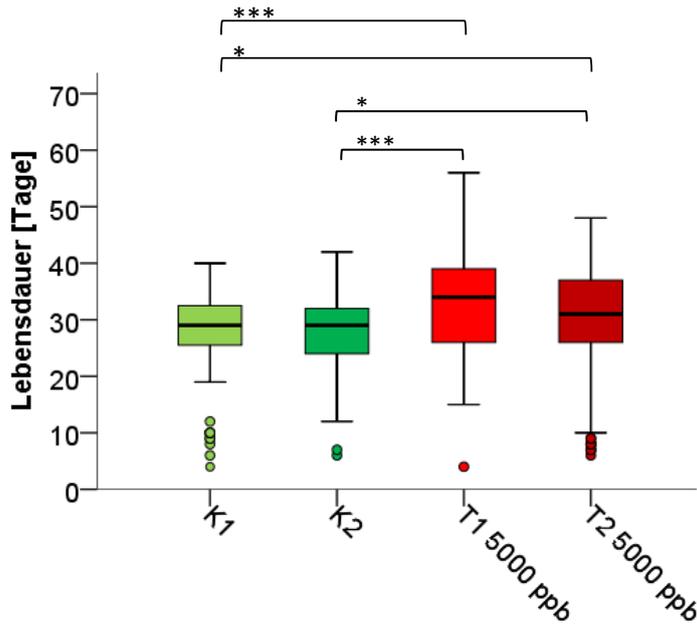
\*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$

(Mann-Whitney-U)

Im Adoptivvolk ist der Unterschied zwischen den Bienen der unterschiedlichen Fütterungsgruppen ebenfalls signifikant, jedoch schwächer (Abbildung 15). Die Bienen, die aus dem Kontrollvolk stammten, flogen am 5. Tag nach dem Schlupf (Median) zum ersten Mal aus. Die Bienen aus den mit Thiaclopid eingefütterten Völkern hingegen waren bei ihrem ersten Flug sechs (T2), beziehungsweise sieben (T1) Tage alt. Bienen aller Gruppen aus den Ursprungsvölkern flogen in den Originalvölkern signifikant später aus als ihre Geschwisterbienen, die ins Adoptivvolk gesetzt wurden. Eine Tabelle mit allen Signifikanzwerten ist im Anhang beigelegt (Tabelle 23).

### 5.3.2.4 Lebensdauer

Das Datum, an dem eine mit RFID-Chip markierte Biene zum letzten Mal am Scanner registriert wurde, wurde für die folgenden Auswertungen als Todeszeitpunkt festgelegt. Für alle markierten und registrierten Bienen in den verschiedenen Völkern wurde die Lebensdauer berechnet (Abbildung 16 und Abbildung 17).



**Abbildung 16: Lebensdauer der Bienen in den Originalvölkern.**

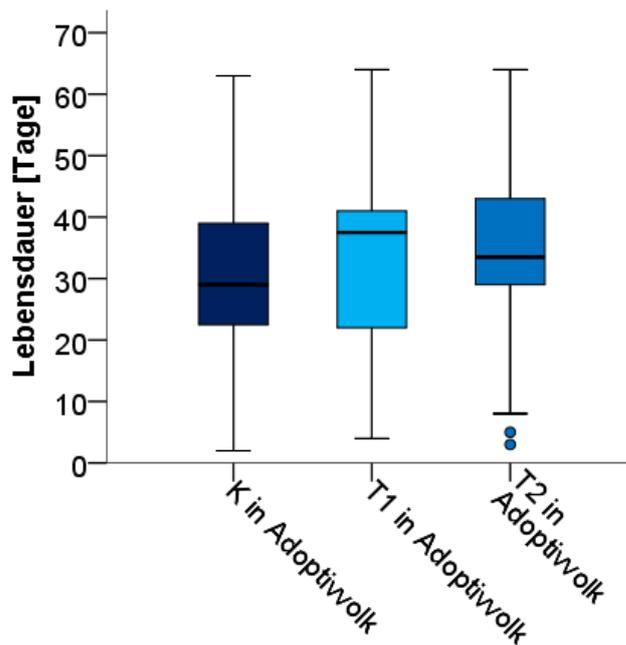
Die Lebensdauer in Tagen ist für jede Gruppe als Box aufgetragen. Ausreißer sind als Kreise dargestellt. Die Kontrollbienen lebten signifikant kürzer als Versuchsbienen.

Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 10.

Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 24.

\* =  $p < 0,05$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$  (Mann-Whitney-U)

Der Vergleich der Originalvölker miteinander zeigt einen Unterschied zwischen den Bienen der Kontroll- und Versuchsvölker (Abbildung 16). Während die Lebensdauer der Bienen aus den Kontrollvölkern bei 30 Tagen (Median) lag, lebten die Bienen aus den mit Thiacloprid gefütterten Völkern im Median 32 Tage (T2) beziehungsweise 35 Tage (T1). Die Unterschiede sind statistisch signifikant (Test: Mann-Whitney-U). Auch bei den Bienen im Adoptivvolk deutet sich dieser Trend an (Abbildung 17).



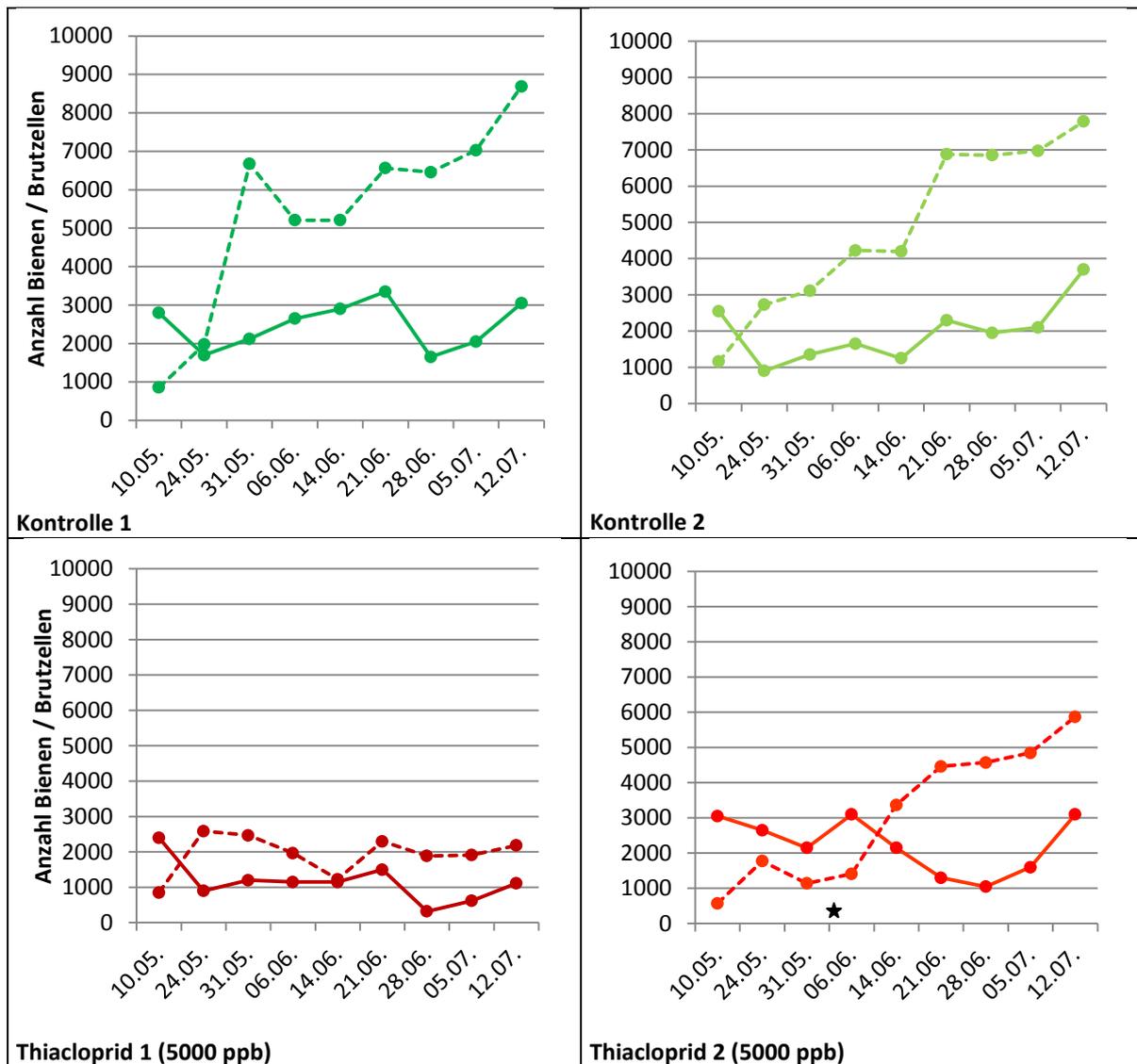
**Abbildung 17: Lebensdauer der Bienen im Adoptivvolk.**

Die Lebensdauer in Tagen ist für jede Gruppe als Box aufgetragen. Ausreißer sind als Kreise dargestellt. Zwischen den Gruppen der Bienen, die ins Adoptivvolk gesetzt wurden, konnte kein signifikanter Unterschied in der Lebensdauer festgestellt werden. Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 10. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 24 (Mann-Whitney-U)

Hier ergab sich für die Bienen des Kontrollvolkes ebenfalls eine Lebensdauer von 30 Tagen (Median). Die Bienen aus den Versuchsvölkern lebten auch im Adoptivvolk mit 33 Tagen (T2) beziehungsweise 37 Tagen (T1) länger als die Kontrollbienen. Allerdings ist die Streuung in der Lebensdauer der Bienen in allen drei Gruppen sehr groß, sodass die Unterschiede zwischen den Bienen der verschiedenen Völker nicht statistisch signifikant sind. Bei Bienen, die aus dem gleichen Ursprungsvolk stammten, konnten zwischen Originalvolk und Adoptivvolk ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Lebensdauer festgestellt werden. Eine Tabelle mit allen Signifikanzwerten ist im Anhang beigefügt (Tabelle 24).

### 5.3.2.5 Populationsschätzung 2012

Über einen Zeitraum von acht Wochen wurden an den Originalvölkern Populationsschätzungen durchgeführt (Abbildung 18), um die Entwicklung der Völker zu beobachten.



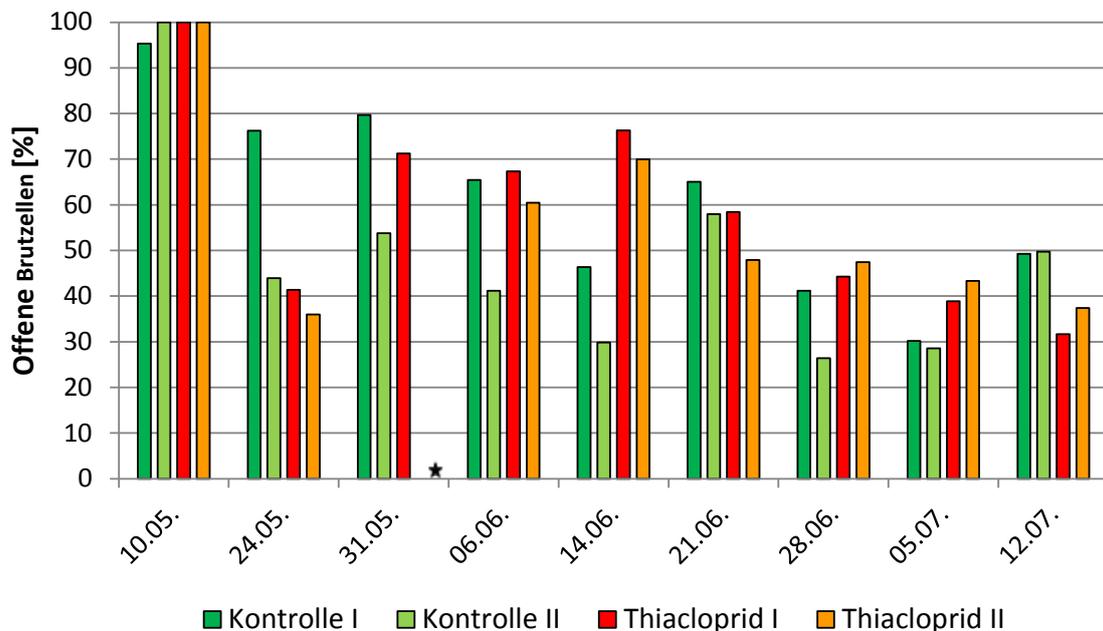
**Abbildung 18: Anzahl der Bienen und Brutzellen pro Volk.**

Die durchgezogenen Linien stellen die Anzahl der Bienen dar, die gestrichelten Linien die Anzahl der Brutzellen. Populationsschätzungen wurden bei den vier künstlich eingefütterten Völkern durchgeführt. Die Bienenanzahl ist in drei Völkern (K1, K2 und T2) sehr ähnlich. Die Kontrollvölker (K1 und K2) haben deutlich mehr Brutzellen als die Versuchsvölker (T1 und T2). Da am dritten Schätztermin festgestellt wurde, dass das Volk T2 weissellos war, wurde eine neue Königin zugesetzt (schwarzes Sternchen).

Die geschätzte Anzahl an Bienen lag zu Beginn des Versuchs zwischen 2500 und 3000 Bienen pro Mini-Volk. Die Anzahl der Bienen sank bis zum zweiten Schätztermin bei allen Völkern um 500 Bienen (T2) bis 1500 Bienen (K2) ab. In den folgenden fünf Wochen stiegen die Zahlen in den Bienenvölkern K1, K2 und T1 jedoch wieder an. Eine Ausnahme bildete das Versuchsvolk T2, bei dem die Anzahl an Bienen ab der vierten Versuchswoche stark absank. In diesem Volk wurde am dritten Schätztermin der Verlust der Königin festgestellt, sodass eine neue Königin eingesetzt werden musste.

Zum Ende des Versuchs beinhalteten die drei Bienenvölker K1, K2 und T1 ähnlich viele oder mehr Bienen als zu Versuchsbeginn (zwischen 3000 und 3700 Bienen). Das Versuchsvolk T1 ist dagegen mit 1000 Bienen zum Versuchsende sehr schwach geworden. Die errechnete Anzahl an Brutzellen pro Volk stieg während des Versuchsdurchlaufs relativ stetig von etwa 1000 Brutzellen zum Zeitpunkt der ersten Schätzung auf 2000 (T1) bis über 8000 (K1) Brutzellen pro Volk an. Die Brutzellenanzahl der beiden Versuchsvölker lag beinahe durchgehend deutlich unter der Brutzellenanzahl der Kontrollvölker.

An jedem Schätztermin wurde der Anteil an offenen Brutzellen von der gesamten Brutfläche geschätzt (Abbildung 19).



**Abbildung 19: Anteil an offenen Brutzellen [%] der gesamten Brutzellen pro Volk.**

Der Anteil an unverdeckelten Brutzellen pro Volk wurde geschätzt und in Prozent von der Gesamtzahl der Brutzellen pro Volk aufgetragen. In Versuchsvolk T2 wurde beim dritten Schätztermin keine offene Brut mehr festgestellt und anschließend eine neue Königin zugesetzt (schwarzes Sternchen).

Zu Beginn des Versuchs lag der Anteil an offener Brut bei über 95 %. In den folgenden Wochen variierte der prozentuale Anteil zwischen den Völkern und Schätzterminen. Der Anteil an offener Brut war zu den letzten drei Schätzterminen sehr ähnlich und lag bei allen vier Bienenvölkern zwischen 25 und 50 %. Zum dritten Schätztermin wurde in Volk T2 der Verlust der Königin durch das Fehlen von offener Brut festgestellt (Abbildung 19, schwarzes Sternchen).

### 5.3.3 Zweiter Versuchsdurchlauf

#### 5.3.3.1 Rückstandsanalysen

Die Konzentration des hergestellten Futters für die Versuchsvölker lag mit 4500 ppb etwas unter der angestrebten Konzentration von 5000 ppb (Tabelle 11).

**Tabelle 11: Analysewerte von Proben des angesetzten Futters.**

Die Konzentration des angesetzten Futters war mit 4500 ppb geringer als die geplante Konzentration von 5000 ppb Thiacloprid. Im Kontrollfutter wurde kein Thiacloprid nachgewiesen.

	Probe	Konzentration Thiacloprid [ppb]
Kontrolle	angerührtes Futter	0
Thiacloprid 5000 ppb		4500

Vom eingelagerten Futter wurden keine Proben analysiert.

#### 5.3.3.2 Anzahl registrierter Bienen pro Volk

Von der Brutwabe aus dem Kontrollvolk, die ins Versuchsvolk (Thiacloprid-gefüttert) umgehängt wurde, wurden 121 geschlüpfte Bienen mit RFID-Chips markiert. Davon wurden während des Versuchs 95 Bienen (= 78,5 %) von den Scannern registriert. Von der Brutwabe aus dem Versuchsvolk, die ins Kontrollvolk umgehängt wurde, wurden 143 Bienen markiert, von denen 110 Bienen (= 76,9 %) von den Scannern registriert wurden. Die Verlustrate der Bienen oder RFID-Chips lag mit 22 %, beziehungsweise 23 % etwas höher als die Verlustrate bei dem im vorherigen Abschnitt (Kapitel 5.3.2.2) beschriebenen Versuch (19,6 %). Die markierten Bienen wurden auf zwei Adoptivvölker aufgeteilt. In Adoptivvolk 1 wurden insgesamt 106 Bienen registriert, in Adoptivvolk 2 wurden 99 Bienen registriert (Tabelle 12).

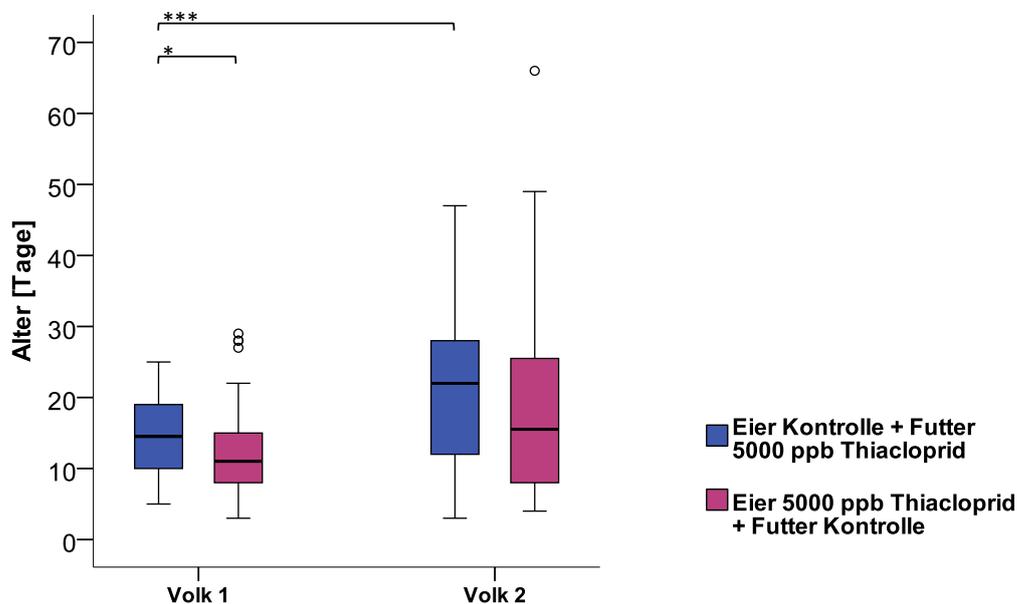
**Tabelle 12: Anzahl und Aufteilung der RFID-markierten Bienen auf die Adoptivvölker.**

Nach dem Austausch der offenen Brutwaben zwischen Kontroll- und Versuchsvolk wurden die RFID-markierten Bienen auf zwei Adoptivvölker verteilt. Die Anzahl der Bienen, die von den Scannern registriert wurden, ist pro Gruppe und Volk angegeben.

	Adoptivvolk 1		Adoptivvolk 2	
	Eier Kontrolle + Futter Thiaclopid 5000 ppb	Eier Thiaclopid 5000 ppb + Futter Kontrolle	Eier Kontrolle + Futter Thiaclopid 5000 ppb	Eier Thiaclopid 5000 ppb + Futter Kontrolle
Markierte, registrierte Bienen	<b>50</b>	<b>56</b>	<b>45</b>	<b>54</b>
gesamt	106		99	

### 5.3.3.3 Alter beim ersten Flug

Wie bereits bei den Versuchen im Vorjahr wurde das Alter der Bienen bei ihrem ersten Ausflug aus dem Bienenstock ausgewertet. Das Alter der Bienen beim ersten Ausflug wurde sowohl zwischen den Gruppen im selben Adoptivvolk als auch zwischen den Geschwistergruppen aus den verschiedenen Adoptivvölkern verglichen (Abbildung 20).



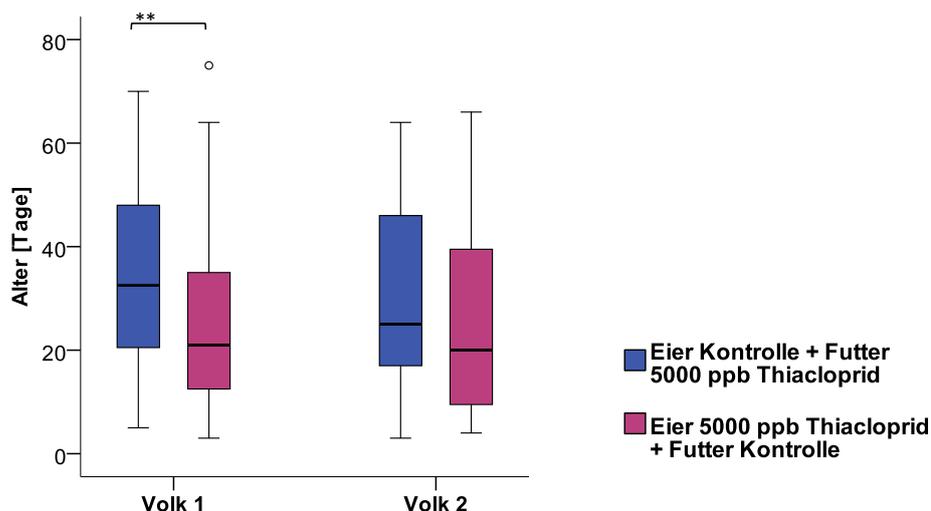
**Abbildung 20: Alter beim ersten Ausflug.**

Aufgetragen ist das Alter, mit dem die Bienen zum ersten Mal aus dem Bienenstock ausgeflogen sind. Die Daten wurden hier getrennt nach den beiden Adoptivvölkern aufgetragen. Ausreißer sind als Kreis dargestellt. In Volk 1 flogen die im Kontrollvolk aufgezogenen Bienen signifikant früher aus als die Bienen, die im mit Thiaclopid gefütterten Volk aufgezogen wurden. Bienen aus Volk 2 waren bei ihrem ersten Ausflug deutlich älter. Zwischen den im Versuchsvolk aufgezogenen Bienen aus Volk 1 und Volk 2 ist der Altersunterschied signifikant (\*= $p < 0,05$ ; \*\*\*= $p < 0,001$ , Mann-Whitney-U). Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 12. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 25.

In Volk 1 flogen die Bienen, die im Versuchsvolk (Thiacloprid-gefüttert) aufgezogenen worden waren, mit einem Alter von 15 Tagen (Median) signifikant später aus als die im Kontrollvolk aufgezogenen Bienen, die im Median mit 10 Tagen ausflogen ( $p = 0,016$ ; Mann-Whitney-U). In Volk 2 zeigt sich die gleiche Tendenz, auch hier liegt der Altersunterschied im Median bei 5 Tagen. Allerdings gibt es hier eine große Streuung von 5 bis 50 Tagen, und statistisch ist kein signifikanter Unterschied nachweisbar. Zwischen den beiden Völkern unterscheidet sich das Alter der Bienen bei ihrem ersten Ausflug deutlich. Die im Versuchsvolk aufgezogenen Bienen aus Volk 2 flogen statistisch signifikant später zu ihrem ersten Flug aus als ihre Geschwisterbienen in Volk 1 ( $p = 0,001$ ).

#### 5.3.3.4 Lebensdauer

Als Zeitpunkt des Todes der markierten Bienen wurde der Tag festgelegt, an dem die Bienen von den Scannern zum letzten Mal registriert wurden. Die Überlebensdauer der Bienen wurde sowohl zwischen den Gruppen im selben Adoptivvolk als auch zwischen den Geschwistergruppen aus den verschiedenen Adoptivvölkern verglichen (Abbildung 21).



**Abbildung 21: Überlebensdauer.**

Die Überlebensdauer der Bienen ist in Tagen dargestellt. In Volk 1 wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen festgestellt; die mit Thiacloprid aufgezogenen Bienen lebten länger als die mit Kontrollfutter aufgezogenen Bienen (\*\*= $p < 0,01$ ; Mann-Whitney-U). Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 12. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 26.

Die Lebensdauer der Bienen aus den mit Thiaclopid eingefütterten Versuchsvölkern in Volk 1 war signifikant höher (über 10 Tage im Median) als die Lebensdauer der im Kontrollvolk aufgezogenen Bienen ( $p = 0,002$ ; Mann-Whitney-U). Zwischen den zwei Gruppen konnte in Adoptivvolk 2 kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Ebenso gab es keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Geschwisterbienen in beiden Adoptivvölkern.

### 5.3.4 Dritter Versuchsdurchlauf

Die aus den unterschiedlich eingefütterten Völkern geschlüpften Bienen wurden mit RFID-Chips markiert und auf zwei Adoptivvölker (A1 und A2) aufgeteilt (Tabelle 13).

**Tabelle 13: Anzahl an mit RFID-Chips markierten Bienen sowie Anzahl von Bienen, die an den Scannern registriert wurden.**

Bienen aus folgenden Völkern wurden markiert:

- (1) A1/A2 = Bienen aus Adoptivvolk 1 bzw. Adoptivvolk 2
- (2) K = Kontrolle
- (3) T in K = Eier aus Thiaclopid 5000 ppb (Volk) in Kontrolle (Futter)
- (4) T 5000 = Thiaclopid 5000 ppb (Futter)
- (5) T 8800 = Thiaclopid 8800 ppb (Futter)

	Adoptivvolk 1					gesamt
	(1) A1	(2) K	(3) T in K	(4) T 5000	(5) T 8800	
Bienen markiert	50	45	18	72	50	235
Registrierte Bienen	20	19	8	40	16	103
Registrierte Bienen [%]	40	42	44	56	32	44

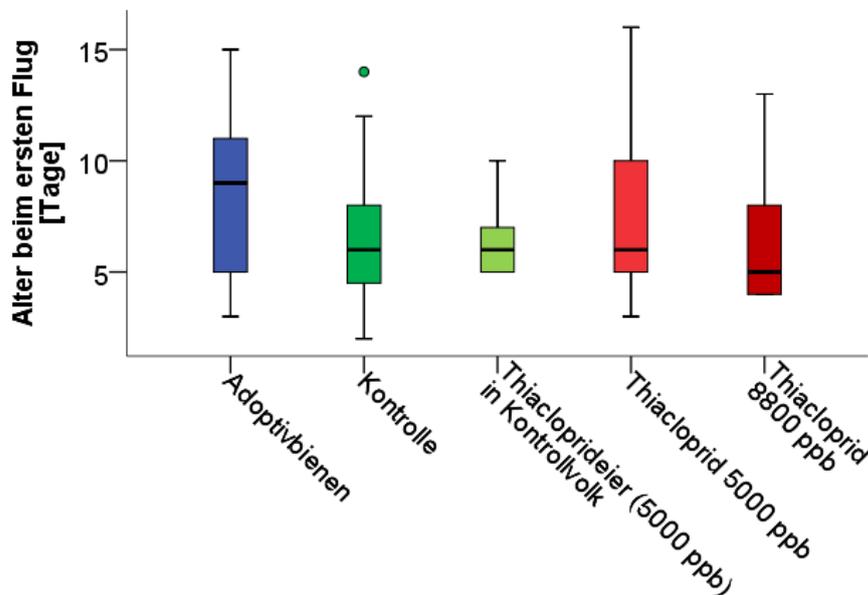
	Adoptivvolk 2					gesamt
	(1) A1	(2) K	(3) T in K	(4) T 5000	(5) T 8800	
Bienen markiert	51	55	19	66	69	260
Registrierte Bienen	40	48	10	62	24	184
Registrierte Bienen [%]	78	87	53	94	35	71

Insgesamt wurden in Adoptivvolk A1 235 markierte Bienen aus unterschiedlich gefütterten Völkern (Kontrolle, Thiaclopid 5000 ppb, Thiaclopid 8800 ppb und Adoptivvolk) eingesetzt. Von diesen wurden 103 Bienen (44%) mit auswertbaren Flügen von den Scannern registriert. In Adoptivvolk A2 wurden insgesamt 260 Bienen

eingesetzt, von denen 184 Bienen (71%) mit auswertbaren Flügen von den Scannern registriert wurden.

### 5.3.4.1 Alter beim ersten Flug

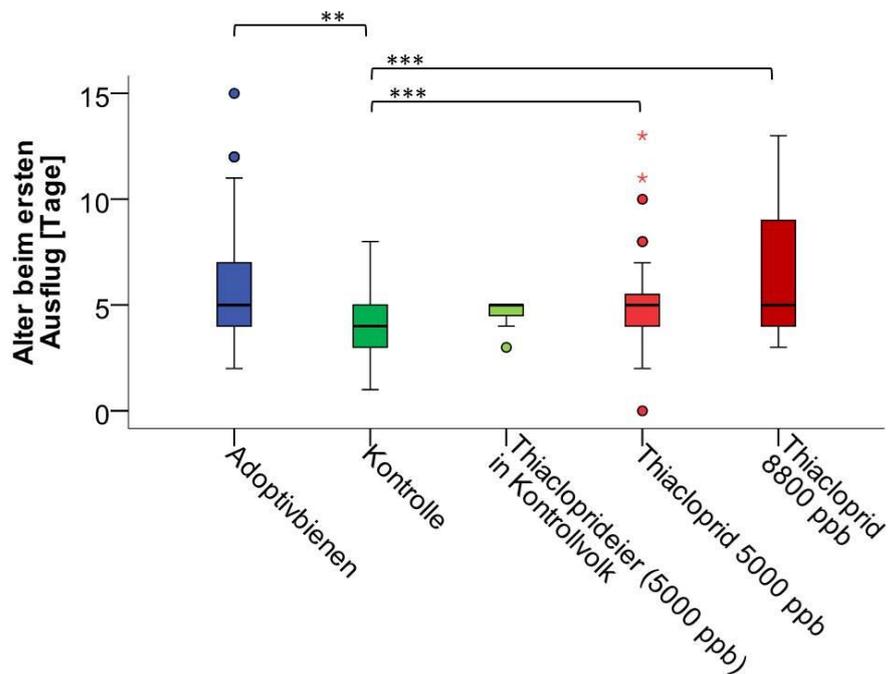
Die in die Adoptivvölker eingesetzten Bienen wurden bei jedem Ein- und Ausflug von den Scannern am Stockeingang registriert. Aus den Daten wurde ausgewertet, mit welchem Alter die Bienen zu ihrem ersten Ausflug starteten. Die Ergebnisse sind getrennt für Volk A1 (Abbildung 22) und für Volk A2 (Abbildung 23) dargestellt.



**Abbildung 22: Volk A1 - Alter beim ersten Flug.**

Aufgetragen ist das Alter in Tagen, mit dem die Bienen der verschiedenen Gruppen zum ersten Mal aus dem Stock ausflogen. Kreise stellen Ausreißer dar. Im Adoptivvolk A1 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Völkern festgestellt (\*= $p < 0,05$ ; \*\*= $p < 0,01$ ; \*\*\*= $p < 0,001$ , Mann-Whitney-U). Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 13. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 28.

In Adoptivvolk A1 sind Unterschiede im Alter beim ersten Ausflug zu sehen. Die Bienen aus den mit 8800 ppb Thiacloprid gefütterten Völkern (Gruppe 5) flogen mit 5 Tagen im Median zum ersten Mal aus, während die „Originalbienen“ aus dem Adoptivvolk (Gruppe 1) erst 4 Tage später (Median) ausflogen. Die Unterschiede sind jedoch nicht statistisch signifikant.



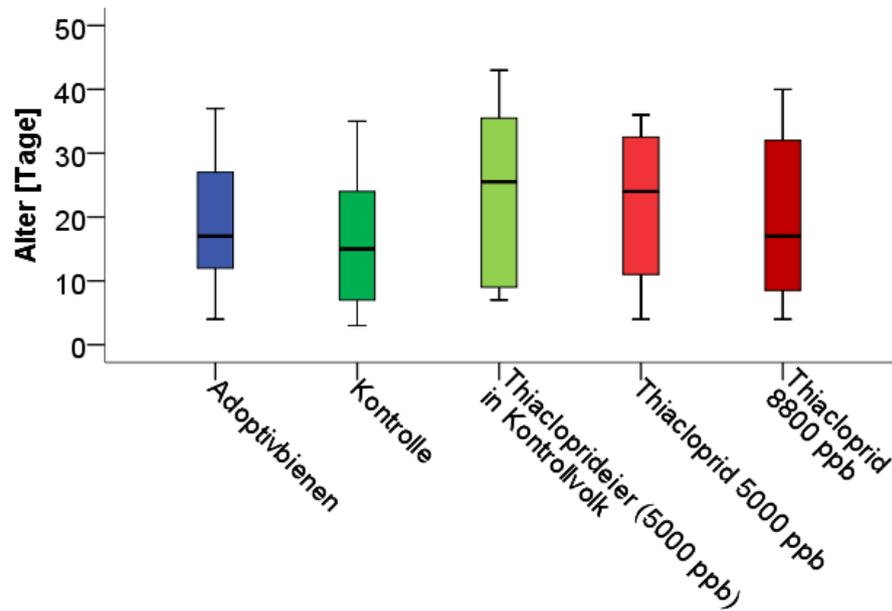
**Abbildung 23: Volk A2 - Alter beim ersten Flug.**

Aufgetragen ist das Alter in Tagen, mit dem die Bienen der verschiedenen Gruppen zum ersten Mal aus dem Stock ausflogen. Kreise stellen Ausreißer dar, Sternchen Extremwerte. Im Adoptivvolk A2 wurden signifikante Unterschiede zwischen den Bienen des Kontrollvolkes (2) zu den Bienen der anderen Ursprungsvölker 1 (Adoptivvolk), 4 (Thiacloprid 5000 ppb) und 5 (Thiacloprid 8800 ppb) festgestellt. Die Kontrollbienen starteten signifikant früher zum ersten Flug. Keinen Unterschied gibt es zwischen den Bienen der Gruppe (2) („Kontrolle“) und den Bienen der Gruppe (3) („Thiacloprid-Eier in Kontrollvolk“). \*\*= $p < 0,01$ ; \*\*\*= $p < 0,001$ , Test: Mann-Whitney-U. Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 13. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 29.

In Adoptivvolk A2 dagegen flogen die Bienen des Kontrollvolkes früher aus als die Bienen der Thiacloprid-gefütterten Völker und die Bienen des Adoptivvolkes (Abbildung 23). Der Unterschied zwischen den Bienengruppen beträgt hier nur einen Tag (Median), ist jedoch statistisch signifikant (Mann-Whitney-U). Zwischen den Bienen aus den mit Kontrollfutter eingefütterten Völkern (Gruppe 2 „Kontrolle“ und Gruppe 3 „Thiacloprid-Eier in Kontrollvolk“) konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

#### 5.3.4.2 Lebensdauer

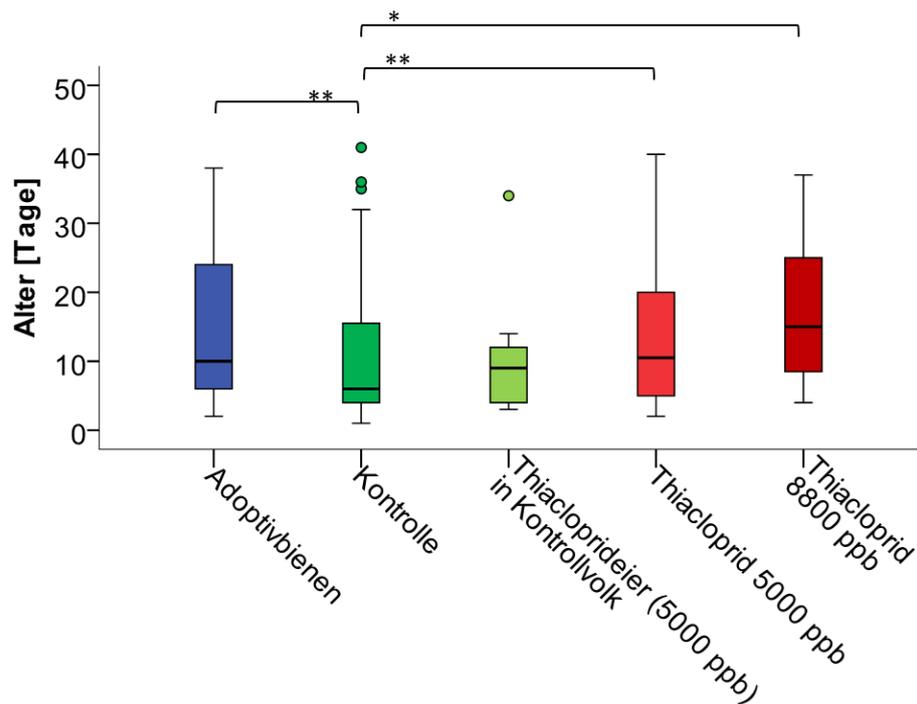
Wie in den vorherigen Versuchen wurde die Lebensdauer aller Bienen bestimmt, und die Werte der verschiedenen Gruppen in einem Adoptivvolk untereinander sowie die jeweiligen Werte der Geschwisterbienen aus beiden Adoptivvölkern miteinander verglichen (Abbildung 24 und Abbildung 25).



**Abbildung 24: Volk A1 – Lebensdauer.**

Die Lebensdauer in Tagen ist für jede Gruppe aufgetragen. Zwischen den Bienen der unterschiedlichen Völker bzw. Fütterungsgruppen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Mann-Whitney-U). Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 13. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 30.

In Adoptivvolk A1 lebten die Bienen im Median zwischen 15 Tagen (Kontrolle) und 25 Tagen („Thiacloprid-Eier in Kontrollvolk“). Wie bereits beim Alter der Bienen beim ersten Flug, konnten hier keine signifikanten Unterschiede in der Lebensdauer der Bienen aus den verschiedenen Gruppen festgestellt werden (Test: Mann-Whitney-U).



**Abbildung 25: Volk A2 – Lebensdauer.**

Die Lebensdauer in Tagen ist für jede Gruppe aufgetragen. Kreise stellen Ausreißer dar. In Adoptivvolk A2 wurden signifikante Unterschiede zwischen den Bienen des Kontrollvolkes zu den Bienen der anderen Völker/ Fütterungsgruppen festgestellt. Die Kontrollbienen lebten signifikant kürzer. Keinen Unterschied gibt es zwischen den Bienen der Gruppe (2) („Kontrolle“) und den Bienen der Gruppe (3) („Thiacloprid-Eier in Kontrollvolk“). (\*= $p < 0,05$ ; \*\*= $p < 0,01$ , Test: Mann-Whitney-U). Anzahl der Bienen pro Gruppe: siehe Tabelle 13. Signifikanzwerte: siehe Anhang, Tabelle 31.

In Adoptivvolk A2 lebten die Bienen der Kontrollgruppe im Median sechs Tage und damit signifikant kürzer als die Bienen der Gruppe 1 (Adoptivvolk) mit 10 Tagen im Median, Gruppe 4 (5000 ppb Thiacloprid) mit 11 Tagen im Median und Gruppe 5 (8800 ppb Thiacloprid) mit 15 Tagen im Median.

### 5.3.4.3 Populationsschätzung in den Ursprungsvölkern (Flugzelt)

In wöchentlichem Abstand wurden an den eingefütterten Völkern unter den Flugzelten Populationsschätzungen durchgeführt (Abbildung 26).

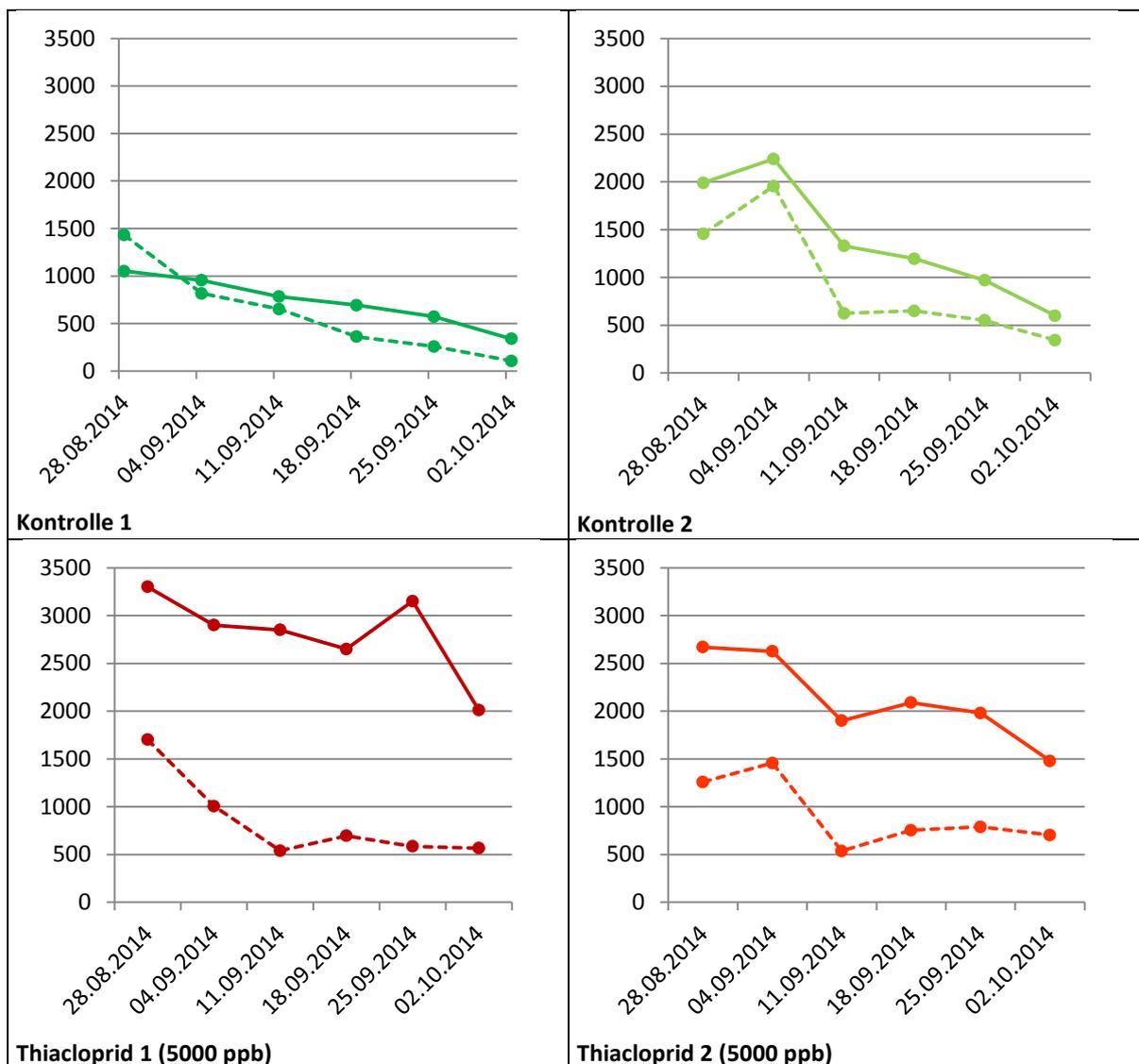


Abbildung 26: Populationsschätzung an den 4 Mini-Plus-Völkern im Flugzelt (Kontrolle und 5000 ppb Thiacloprid).

Die geschätzte Anzahl der Bienen (durchgehende Linie) und die errechnete Anzahl an Brutzellen (gestrichelte Linie) sind pro Volk jeweils über einen Zeitraum von 6 Wochen aufgetragen. Die Anzahl an Bienen in den Kontrollvölkern war deutlich geringer als in den Versuchsvölkern. Die Anzahl der Brutzellen war in allen Völkern ähnlich. Die Anzahl an Bienen und Brutzellen sinkt in allen Völkern über den Verlauf des Versuchs deutlich ab.

Die Mini-Völker unterschieden sich bereits zu Beginn des Versuchs stark in der Anzahl der Bienen. So starteten die Kontrollvölker mit ca. 1000 bzw. 2000 Bienen. Die Versuchsvölker (Thiacloprid) dagegen starteten mit ca. 2700 bzw. 3300 Bienen. Über den Zeitraum von

sechs Wochen nahm die Anzahl an Bienen in allen vier Völkern deutlich ab. Die Anzahl an Brutzellen war in allen Völkern ähnlich. Zu Beginn des Versuchs wurden jeweils ca. 1500 Brutzellen errechnet. Im Laufe des Versuchs nahm die Anzahl der Brutzellen auf ca. 500 ab. In Kontrollvolk 1 war am letzten Schätztermin mit ca. 100 Brutzellen nur noch sehr wenig Brut vorhanden.

#### 5.3.4.4 Rückstandsanalysen

Vom hergestellten Futter und dem von den Bienen eingelagerten Futter wurden Proben genommen und auf die Konzentration an Thiacloprid untersucht. Zusätzlich wurden aus den Völkern Bienenproben sowie zum Teil Puppenproben ebenfalls auf Thiacloprid untersucht (Tabelle 14 und Tabelle 15).

**Tabelle 14: Rückstandsanalysen.**

Das hergestellte Futter sowie das anschließend eingelagerte Futter aus den Völkern wurden auf den Gehalt an Thiacloprid untersucht. LOQ = nicht quantifizierbar (< 0,001 mg/kg bzw. < 1 ppb); LOD = nicht nachweisbar (< 0,0003 mg/kg bzw. < 0,3 ppb).

Versuchsgruppe	Probe	Volk	Konzentration Thiacloprid [ppb]	Konzentration Thiacloprid Amid [ppb]
Kontrolle	angerührtes Futter		< LOD	< LOD
	eingelagertes Futter	1	< LOD	< LOD
		2	< LOQ	< LOD
Thiacloprid 5000 ppb	angerührtes Futter		4900	< LOQ
	eingelagertes Futter	1	4100	8
		2	4100	7

**Tabelle 15: Rückstandsanalysen.**

Das hergestellte Futter, das anschließend eingelagerte Futter sowie Bienen- und Puppenproben aus den Völkern wurden auf den Gehalt an Thiacloprid untersucht. LOQ = nicht quantifizierbar (< 0,001 mg/kg bzw. < 1 ppb); LOD = nicht nachweisbar (< 0,0003 mg/kg bzw. < 0,3 ppb).

Versuchsgruppe	Probe	Volk	Konzentration Thiacloprid [ppb]	Konzentration Thiacloprid Amid [ppb]
<b>Kontrolle</b>	angerührtes Futter		< LOD	< LOD
	eingelagertes Futter	1	2	< LOD
		2	2	< LOD
	Bienen	1	3	< LOD
		2	1	< LOD
	Puppen	1	1	< LOD
<b>Thiacloprid 8800 ppb</b>	angerührtes Futter		8900	< LOQ
	eingelagertes Futter	1	6500	120
		2	5000	95
	Bienen	1	390	14
		2	260	12
	Puppen	1	< LOD	< LOD
		2	2	< LOD

Im hergestellten Kontrollfutter wurde kein Thiacloprid (bzw. keine Konzentration über 0,3 ppb) nachgewiesen. Im eingelagerten Futter der Kontrollvölker sowie in den untersuchten Bienen und Puppen wurden teils Thiacloprid-Konzentrationen von 1-3 ppb detektiert. In dem nach fünf Wochen entnommenen Futter der Versuchsvölker (5000 ppb und 8800 ppb) war die Konzentration an Thiacloprid im Vergleich zur Konzentration im hergestellten Futter verringert. Im eingelagerten Futter wurde noch ein Anteil von ca. 60-80 % der ursprünglichen Konzentration nachgewiesen. In den Bienenproben wurde ein Thiacloprid-Gehalt ermittelt, der einem Anteil von ca. 3-6 % der Konzentration im eingelagerten Futter entspricht. Die Puppenproben enthielten bis zu 2 ppb Thiacloprid. Die Proben wurden zusätzlich auf den Gehalt des Abbauprodukts von Thiacloprid (Thiacloprid-Amid) untersucht. In den Futter- und Bienenproben der Versuchsvölker wurde das Amid in Konzentrationen von bis zu 120 ppb im Futter bzw. 14 ppb in den Bienenproben gefunden.

## 5.4 Diskussion

### 5.4.1 Verlustrate an Bienen vor der ersten Registrierung am Scanner

Von den frisch geschlüpften Bienen, die mit RFID-Chips markiert und in die verschiedenen Völker eingesetzt wurden, wurden oftmals etwa 30 %, teils sogar bis zu 60 % oder mehr niemals von den Scannern registriert. Da alle Identifikationsnummern nach dem Aufbringen der Chips auf dem Thorax der Bienen ausgelesen wurden, kann ausgeschlossen werden, dass die Chips, die niemals registriert wurden, defekt waren. Möglicherweise ist ein Teil der frisch geschlüpften Bienen sehr früh gestorben. Tote Bienen werden von Arbeiterinnen aus dem Bienenstock getragen (Morse 1972, Suzuki et al. 1974). Die Metalltunnel stellen hier ein großes Hindernis dar. Die toten Bienen werden von den Arbeiterinnen meist in seitlich liegender Position durch die Tunnel geschoben und gezogen. Hierbei kommen die RFID-Chips nicht nahe genug an die Antennen der Scanner, um ausgelesen zu werden.

Darüber hinaus werden die RFID-Chips auf dem Thorax von den Bienen als Fremdkörper wahrgenommen. Nach dem Aufkleben der Chips kann man beobachten, wie die markierten Bienen selbst Putzbewegungen mit den Beinen durchführen. Bienen putzen sich jedoch nicht nur selbst mithilfe der Beine, sondern auch gegenseitig mithilfe der Mundwerkzeuge (Haydak 1929 zitiert nach: Bozic und Valentincic 1995). Es wird vermutet, dass das gegenseitige Putzen dazu dient, andere Bienen von Ektoparasiten zu befreien (Moosbeckhofer 1992, Ruttner and Hänel 1992) oder kleine Partikel an den Flügelansätzen zu entfernen, die die Bienen beim Fliegen behindern könnten und die von den betroffenen Bienen nicht selbst entfernt werden können (Winston 1987, Bozic und Valentincic 1995). Über einen sogenannten „Putz-Tanz“ regen Bienen andere Arbeiterinnen dazu an, sie zu putzen (Milum 1947, Kolmes 1989). Es muss davon ausgegangen werden, dass im Bienenstock auch andere Arbeiterinnen versuchen, die Chips von den markierten Bienen zu entfernen. Der Reiz zum Entfernen der Chips könnte durch eventuelle Kleberreste gegeben werden, die über den Rand des Chips hinausragen oder die Haare am Flügelansatz verkleben. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass sich einige wenige der aufgeklebten RFID-Chips vom Thorax der Bienen gelöst haben, nachdem die Bienen in die Völker zurückgesetzt wurden.

#### **5.4.2 Alter der Bienen beim ersten Ausflug**

Honigbienen starten im Durchschnitt mit einem Alter von 6 Tagen zu ihrem ersten Flug (Capaldi et al. 2000). In der hier vorgestellten Arbeit wurden vergleichbare Ergebnisse beobachtet. Das Alter der Kontrollbienen beim ersten Ausflug lag bei fast allen Völkern zwischen 5 und 10 Tagen. In allen drei Versuchsjahren waren die Bienen, die aus den Thiaclopid-gefütterten Völkern stammten, bei ihrem ersten Ausflug aus dem Bienenstock älter als die Kontrollbienen. Teilweise zeigte sich zumindest eine Tendenz, zum Teil waren die Unterschiede statistisch signifikant. Es fällt auf, dass die Bienen des ersten Versuchsjahres, die nicht in ein Adoptivvolk umgesetzt wurden sondern in den Thiaclopid-gefütterten Originalvölkern verblieben sind, sehr viel später ausflogen als alle Bienen aus den Adoptivvölkern. Die Bienen, die in die Adoptivvölker gesetzt wurden, waren der möglichen Wirkung des Thiacloprids nur während der Larvenentwicklung ausgesetzt. Die Bienen in den Originalvölkern hingegen haben vermutlich auch als adulte Tiere Thiaclopid über das Futter aufgenommen.

Die Unterschiede im Alter zwischen Versuchsbienen und Kontrollbienen in den Adoptivvölkern sind deutlich zu sehen und meist statistisch signifikant. Es wurden keine Unterschiede zwischen den Bienen der Gruppe 2 „Kontrolle“ und der Gruppe 3 „Eier aus Thiaclopid-gefüttertem Volk in Kontrollvolk umgehängt“ festgestellt, was darauf hindeutet, dass eine Schädigung der Eier durch eine chronische Fütterung des Volkes mit Thiaclopid ausgeschlossen werden kann. Durch Rückstandsanalysen von jungen Puppen wurde festgestellt, dass sowohl in den Puppen der Kontrollvölker als auch der Versuchsvölker ähnliche, sehr geringe Mengen an Thiaclopid vorhanden waren.

Man muss davon ausgehen, dass die Bienenlarven nur eine sehr geringe Menge an Thiaclopid aufnehmen, und dies ist ebenfalls bei den Larven in den Kontrollvölkern der Fall. Eine Aufnahme von Thiaclopid im Larvenstadium scheint also keinen direkten Einfluss auf die Entwicklung der adulten Bienen beziehungsweise deren Ausflugsverhalten zu haben. Vielmehr muss bedacht werden, dass die Ammenbienen, die die Brut versorgen, Thiaclopid aufnehmen, was durch die Rückstandsanalysen bestätigt wird (Punkt 5.3.4.4). Wie bereits unter Kapitel 4 diskutiert, fanden Wessler et al. (eingereicht) heraus, dass unter chronischer Fütterung mit Thiaclopid die Futtersaftdrüsen der Ammenbienen schlecht ausgebildet sind und weniger Acetylcholin im Futtersaft vorhanden ist. Die Entwicklung des Bienenhirns beginnt bereits im Larven- und

Puppenstadium (Malun 1998). Im Laufe des Lebens der adulten Bienen ändert sich die Expression des AChE (Acetylcholinesterase)-Gens (Shapira et al. 2001). Das Enzym AChE baut Acetylcholin im synaptischen Spalt ab. Je älter die Bienen werden, desto weniger AChE wird gebildet, was zu einer Erhöhung der Acetylcholin-Konzentration führt. Shapira et al. (2001) vermuten, dass sich hierdurch die Lernfähigkeit der Bienen erhöht. Besonders für Sammlerbienen ist eine erhöhte Lernfähigkeit von großer Wichtigkeit. In dieser Phase werden viele Informationen zu Landmarken und Flugrouten abgespeichert und das Navigationsgedächtnis weiterentwickelt (Menzel et al. 2005). Wenn Bienenlarven während ihrer Entwicklung wenig Acetylcholin über das Futter der Ammen aufnehmen, könnte sich dies negativ auf die Entwicklung des Gehirns auswirken. Zusätzlich wird vermutet, dass sich Thiacloprid möglicherweise inhibierend auf die Synthese von Acetylcholin auswirken könnte (Wessler et al., eingereicht). Würde unter dieser Voraussetzung jedoch die Bildung der Acetylcholinesterase ebenfalls erst mit steigendem Alter der Bienen verringert werden, wie von Shapira et al. beschrieben, so würde in Thiacloprid-gefütterten Bienen erst einige Tage später dasselbe Ach/AChE-Verhältnis erreicht werden wie in Kontrollbienen. Somit würde sich möglicherweise bei Thiacloprid-gefütterten Bienen erst entsprechende Zeit später die Lernfähigkeit erhöhen. Dies wiederum hätte zur Folge, dass diese Bienen erst später in der Lage sind, auszufliegen und Sammlerinnen zu werden, wofür die Entwicklung des Navigationsgedächtnisses unabdingbar ist. Bei den mit Thiacloprid gefütterten Bienen könnte eine verzögerte Gehirnentwicklung durch Mangel an Acetylcholin der Fall sein, was ein Grund für die Verzögerung des Zeitpunkts des ersten Ausflugs sein könnte.

Ebenfalls könnte hiermit die Tatsache erklärt werden, dass Bienen, die als Larven in Thiacloprid-gefütterten Völkern aufgezogen, aber nach dem Schlupf in ein Adoptivvolk umgesetzt wurden, deutlich weniger Unterschiede zu den Kontrollbienen zeigten als deren Geschwister, die als adulte Bienen in den Thiacloprid-gefütterten Völkern blieben. Bei ersteren lag nur eine mutmaßliche Mangelversorgung an Acetylcholin während des Larven- und Puppenstadiums vor. Letztere waren möglicherweise auch als adulte Bienen durch einen Mangel an Acetylcholin, verursacht durch die Aufnahme von Thiacloprid, beeinträchtigt.

Eine weitere mögliche Erklärung für die beobachteten Unterschiede beim Alter des ersten Ausflugs der Bienen wäre ein Einfluss des Thiacloprids auf den Zucker-Stoffwechsel der

Bienen. Derecka et al. (2013) stellten bei Bienenlarven aus Völkern, die mit dem Neonikotinoid Imidacloprid eingefüttert wurden, eine erhöhte Expression von P450s-Genen (verantwortlich für Detoxifizierung) und gleichzeitig eine geringere Expression von Genen des Zucker-Stoffwechselwegs fest. Sie vermuten, dass in adulten Bienen über vergleichbare Mechanismen die Flugleistungsfähigkeit der Bienen beeinträchtigt und hierdurch der Beginn der Sammeltätigkeit beeinflusst werden könnte. Wenn vergleichbare Änderungen in der Genexpression auch durch die Aufnahme von Thiacloprid hervorgerufen werden, könnte dies ebenfalls ein Grund für den verspäteten Zeitpunkt des ersten Ausflugs der Bienen aus Thiacloprid-gefütterten Völkern sein.

Unterschiede in der Entwicklung von Bienen können auch genetischen Ursprung haben und sich beispielsweise in einem früheren oder späteren Zeitpunkt des Übergangs von der Stockbiene zur Sammlerbiene äußern (Guzman-Novoa et al. 1994). Da die Bienen aus unterschiedlichen Völkern stammen, könnte auch dieser Aspekt in die beobachteten Unterschiede mit hineinspielen. Obwohl in allen Versuchsjahren Geschwisterköniginnen eingesetzt wurden, können genetische Unterschiede nicht ausgeschlossen werden.

### **5.4.3 Lebensdauer**

Die letzte Arbeit im Leben einer Biene ist die Tätigkeit als Sammlerin. Der Zeitpunkt, an dem sie von der Phase als Stockbiene zur Phase als Sammlerin übergehen, ist ein wichtiger begrenzender Faktor für die Lebensdauer von Arbeiterbienen (Rueppell et al. 2007). Neben den Gefahren, denen Sammlerinnen außerhalb des Bienenstockes ausgesetzt sind, wie zum Beispiel Witterung oder Fressfeinde, wird unter anderem vermutet, dass Sammlerinnen ihren körpereigenen Proteinvorrat verbrauchen, um die Ressourcen des Volkes zu schonen (Amdam et al. 2005), was beispielsweise in einer verringerten Immunabwehr resultieren würde.

Bienen, die aus einem Thiacloprid-gefütterten Volk stammten, zeigten eine starke Tendenz dazu, einige Tage länger zu leben als Kontrollbienen. Wie auch beim Zeitpunkt des ersten Ausflugs der Bienen ist dieses Ergebnis bei den Bienen in den Originalvölkern (chronisch mit Thiacloprid eingefüttert) am deutlichsten und statistisch signifikant. Die Lebensdauer ab dem ersten Ausflug einer Biene und bis zu ihrem letzten Lebenstag ist sowohl bei den Kontrollbienen als auch bei den Versuchsbienen der verschiedenen Völker sehr ähnlich. Es kann nicht auf eine direkte Auswirkung des Thiacloprids auf die

Lebensdauer der Bienen geschlossen werden. Vermutlich bewirkt Thiacloprid vielmehr direkt oder indirekt eine Verspätung des Zeitpunkts des ersten Ausflugs, was wiederum in einer verlängerten Gesamtlebensdauer resultieren könnte.

Die Lebensdauer der Bienen variierte in jeder Gruppe sehr stark. Bienen, die nur kurz gelebt haben, waren möglicherweise durch den Befall von Pathogenen oder Viren geschwächt, oder kehrten von einem Orientierungsflug nicht wieder zurück. Gefahren, denen die ausfliegenden Bienen außerhalb des Stockes ausgesetzt sind, spielen sicher ebenfalls eine Rolle. Die in diesen Versuchen ausgewertete Lebensdauer der Bienen liegt im Median zwischen 20 und 30 Tagen. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit Literaturangaben über die durchschnittliche Lebenserwartung einer Biene von 3 bis 8 Wochen im Sommer (Winston 1987; Omholt und Amdam 2004). Einige wenige Bienen lebten sehr lange, bis über 40 oder in selteneren Fällen bis über 60 Tage. Da die Versuche teilweise erst im Juli oder August gestartet worden sind, ist es möglich dass es sich bei einem Teil der markierten Bienen um Winterbienen gehandelt hat, da die Entwicklung von Winterbienen schon ab August beginnt (Mattila 2001). Insbesondere sind hier die dargestellten Ergebnisse des dritten Versuchsjahres zu erwähnen. Hier wurden nur Daten bis zur ersten Kälteperiode im Herbst, in der die Temperatur für einige Tage unter 13°C sank, ausgewertet (Temperaturen im Anhang, Abbildung 38). Bei einer geringeren Außentemperatur fliegen Bienen nicht mehr aus. Die Daten konnten somit nicht mehr verlässlich zur Bestimmung der Lebensdauer herangezogen werden. Knappe 6 Monate später, im folgenden Frühjahr, wurden noch von drei Bienen mehrere Flüge über die Scanner am Stockeingang registriert, womit ein weiterer Hinweis auf das Vorkommen von Winterbienen innerhalb der Versuchsgruppen gegeben ist.

Für einen aussagekräftigen Vergleich des Flugverhaltens zwischen Kontrollbienen und Versuchsbienen ist die Angabe der zeitlichen Dauer, während der die Bienen als Sammlerinnen lebten, nicht ausreichend genug. Wichtig wären zusätzliche Informationen und genaue Daten über die Flugdauer und Wegstrecke jedes Fluges von jeder einzelnen Biene.

Hierbei stößt die RFID-Methode an ihre Grenzen. Sie ist unzureichend, um eindeutige Aussagen über das Verhalten der Bienen während des Fluges zu treffen. Aus der Registrierung des RFID-Chips beim Verlassen des Bienenstocks und beim Zurückkehren in den Bienenstock wird eine Zeit ermittelt, zu der sich die Biene außerhalb des Bienenstocks befand. Es ist jedoch unbekannt, wie lange die Biene während dieser Zeit tatsächlich im Flug verbracht hat, und wie lange sie während des Aufenthalts außerhalb des Bienenstocks beispielweise mit Nektarsammeln beschäftigt war. Zudem ist es nicht möglich zu bestimmen, wohin die Bienen geflogen sind und welche Strecke sie zurückgelegt haben. Auch kann mit der RFID-Technik nicht ermittelt werden, mit welcher Geschwindigkeit die Bienen einen Flug zurückgelegt haben. Für aussagekräftige Ergebnisse wäre hier eine Aufnahme der Flugrouten und Fluggeschwindigkeiten der Bienen über harmonisches Radar notwendig.

#### **5.4.4 Populationsschätzungen**

Neben der Beobachtung von Einzelbienen wurden in den künstlich eingefütterten Völkern regelmäßige Populationsschätzungen durchgeführt. Der Verlauf der Bienen- und Brutzellenanzahl pro Volk ist wichtig, um mögliche Auswirkungen auf die Volksentwicklung feststellen zu können. Im ersten und dritten Versuchsjahr wurden jeweils an den mit 5000 ppb Thiacloprid eingefütterten Völkern sowie den entsprechenden Kontrollvölkern Populationsschätzungen vorgenommen. Nachdem die Versuche mit Kunstschwärmen ohne Brut gestartet wurden, wurde bei der Anzahl der Brutzellen ein starker Anstieg erwartet. Da die Völker in den ersten drei Wochen keinen Nachwuchs an schlüpfenden Bienen hatten, wurde erwartet, dass die Anzahl an Bienen möglicherweise zunächst etwas absinken, nach einigen Wochen aber wieder ansteigen würde. Die Schätzungen im ersten Versuchsjahr zeigten die erwarteten Ergebnisse mehr oder weniger deutlich. In Versuchsvolk T2 verlief die Entwicklung des Bienenvolkes ähnlich der Entwicklung in den Kontrollvölkern. Die Anzahl der Brutzellen stieg erst etwas später an, aber mit der gleichen Steigung wie die der Kontrollvölker. Grund hierfür ist vermutlich die Tatsache, dass nach der dritten Schätzung eine neue Königin eingesetzt wurde, da das Volk weiselos, also ohne Königin, war. Hierdurch wurde die gesamte Entwicklung des Volkes um einige Wochen nach hinten verschoben. Im Gegensatz zu den übrigen Völkern zeigte sich im Versuchsvolk T1 kein deutlicher Anstieg in der

Brutzellenanzahl, und auch die Anzahl an Bienen sank im Laufe des Versuchs insgesamt ab. Es könnte vermutet werden, dass das Thiacloprid einen Einfluss auf die Brutentwicklung oder das Brutpflegeverhalten haben könnte, was in einer geringen Anzahl an Brutzellen und folglich auch Bienen resultieren würde. Nach den in Kapitel 4 dargestellten Versuchen und Ergebnissen zur Brutentwicklung unter Fütterung mit 8800 ppb Thiacloprid ist diese Erklärung jedoch nicht wahrscheinlich. Der Verlust der Königin in einem mit Thiacloprid gefütterten Volk (T1) könnte auf Auswirkungen des Thiacloprids hindeuten. Scholer und Krischik (2014) berichten erhöhte Mortalitätsraten bei Hummelköniginnen durch chronische Fütterung mit den Neonikotinoiden Clothianidin und Imidacloprid. Wie bereits in Kapitel 4.4 diskutiert wurde, deuten die Ergebnisse der Rückstandsanalysen jedoch nicht darauf hin, dass die Bienenköniginnen selber große Mengen an Thiacloprid aufnehmen. Da zudem ein solcher Fall nur in einem von sechs Thiacloprid-gefütterten Völkern über einen Zeitraum von drei Jahren auftrat, kann hier keine sichere Aussage getroffen werden.

Drei Wochen nach Starten des Versuchs wurde für Versuchszwecke je eine Brutwabe aus jedem Volk entnommen. Die daraus geschlüpften Bienen wurden nicht, oder nur zum Teil, in die Völker zurückgesetzt, an denen Populationsschätzungen vorgenommen wurden. Die auf den Waben vorhandene offene Brut ging hierbei verloren, da sie nicht mehr weiter gepflegt werden konnte. Möglicherweise wurde durch diesen Vorgang aus dem Versuchsvolk T1 mehr offene Brut entfernt als aus den anderen drei Völkern, was den fehlenden Anstieg an Brutzellen in den ersten Wochen des Versuchs erklären würde. Allerdings hätte sich hier folglich einige Zeit später, ähnlich wie in Volk T2, ein verspäteter aber deutlicher Anstieg der Brutzellenanzahl einstellen müssen.

Eine Anzahl von zwei Völkern pro Versuchsgruppe hat nur sehr geringe Aussagekraft. Die Versuche müssten mit einer größeren Zahl an Völkern wiederholt werden, um eindeutigere Ergebnisse liefern zu können.

Die Ergebnisse der Schätzungen aus dem dritten Versuchsjahr unterscheiden sich stark von denen des ersten Versuchsjahres. Die Anzahl an Brutzellen und Bienen sank vom ersten zum letzten Schätztermin in allen Völkern stark ab. Die Unterschiede im Verlauf der Volksentwicklung zwischen erstem und drittem Versuchsjahr begründen sich in der Jahreszeit, während der die Versuche durchgeführt wurden. Der erste Versuch startete im Frühjahr, einem Zeitpunkt, an dem sich Bienenvölker entwickeln und wachsen. Der dritte

Versuch wurde im Herbst durchgeführt. Eine Verringerung der Brutzellen- und Bienenanzahl ist in dieser Jahreszeit normal, wie auch die Entwicklung von Bienen- und Brutzellenanzahl in Vollvölkern unter Kapitel 2 der hier vorliegenden Arbeit zeigt.

Ruppell et al. (2009) beobachteten, dass Bienen in kleinen Völkern länger lebten als Bienen in großen Völkern. Diese Beobachtung wird in den Versuchen dieser Arbeit nicht bestätigt. Die Anzahlen für Bienen und Brutzellen sind für die Kontrollvölker und ein Thiacloprid-gefüttertes Volk (T2) ähnlich hoch; die Lebensdauer der Bienen unterschied sich jedoch deutlich. Hingegen war die Lebensdauer der Bienen aus beiden mit Thiacloprid eingefütterten Völkern ähnlich lang, obwohl ein Volk (T1) deutlich schwächer war als das andere (T2). Die Vermutung liegt nahe, dass Thiacloprid stärkere Auswirkungen auf die Lebensdauer der Bienen hat als die Größe des Bienenvolkes.

Die Ergebnisse der Rückstandanalysen werden ausführlich unter Punkt 7.1 diskutiert.

---

## 6 Auswirkung einer subletalen Dosis Thiacloprid auf das Heimkehrvermögen von Honigbienen

### 6.1 Einleitung

Für die Orientierung außerhalb des Bienenstocks nutzen Bienen den Sonnenkompass, das polarisierte Licht und Landmarken (Kapitel 1.1). Sie können die Form und Farbe, sowie die Position von Landmarken erlernen (von Frisch 1977, Gould 1987). Nach Menzel et al. (2005) navigieren Bienen in einer ihnen bekannten Umgebung über ein räumliches, Landkarten-ähnliches Gedächtnis. Sie sind in der Lage, von jedem beliebigen Punkt in einer ihnen bekannten Umgebung ihre Position zu bestimmen und die Navigation zu starten, und können hierbei zwischen verschiedenen Zielen unterscheiden.

Bienen können beim Sammeln von Nektar und Pollen mit Insektiziden in Kontakt kommen oder sie aufnehmen. Insektizide werden in Konzentrationen ausgebracht, die im für die Bienen subletalen Bereich liegen. Untersuchungen haben gezeigt, dass das Heimkehrvermögen von Bienen durch die Aufnahme sublethaler Mengen an Neonikotinoiden zu verringerten Heimkehrraten (Bortolotti et al. 2003, Henry et al. 2012, Henry et al. 2014,) und einer schlechteren Orientierungsfähigkeit (Decourtye et al. 2009, Fischer et al. 2014) führen kann. Zur Orientierung während des Fluges spielen Landmarken für die Heimkehr der Bienen eine wichtige Rolle (Dyer und Gould 1983). Im Vergleich zu einer niedrigen Landmarkendichte fördert eine hohe Dichte an Landmarken die Heimkehrrate an Bienen. Unter dem Einfluss von subletalen Mengen des Neonikotinoids Thiamethoxam hat eine hohe Landmarkendichte jedoch keinen steigernden Effekt auf die Heimkehrrate (Henry et al. 2014). Medrzycki et al. (2003) beobachteten in Käfigversuchen, dass bei Bienen nach der Fütterung mit dem Neonikotinoid Imidacloprid die Bewegungsgeschwindigkeit und die Bewegungshäufigkeit im Gegensatz zu Kontrollbienen signifikant reduziert waren. Diese Effekte begannen 30-60 Minuten nach der Fütterung und dauerten mehrere Stunden an.

In der hier vorgestellten Arbeit wurden Versuche zum Heimkehrverhalten von Bienen nach einer akuten Aufnahme von Thiacloprid ohne vorheriges Training auf eine Futterstelle durchgeführt. Hierbei wurden die Heimkehrrate und die Heimkehrdauer der

Bienen, sowie der Einfluss von Landmarken und verschiedenen zeitlichen Intervallen zwischen der Fütterung und dem Zeitpunkt des Auflassens auf diese untersucht.

## 6.2 Material und Methoden

### 6.2.1 Versuchsdurchlauf

Die Versuche zum Heimkehrvermögen der Bienen wurden in zwei aufeinander folgenden Jahren, jeweils in den Monaten Juni und Juli, durchgeführt.

Die Völker wurden in Mini-Plus-Beuten im Inneren eines Gebäudes (N 50° 13.207, E 8° 33.157) aufgestellt. Der Stockausgang zeigte in Richtung Nord-Westen, die Temperatur im Gebäude betrug ca. 20°C. Über einen Plexiglas® Tunnel (26 x 7,7cm; Länge x Breite) konnten die Bienen nach draußen fliegen und Orientierungs- und Sammelflüge unternehmen.

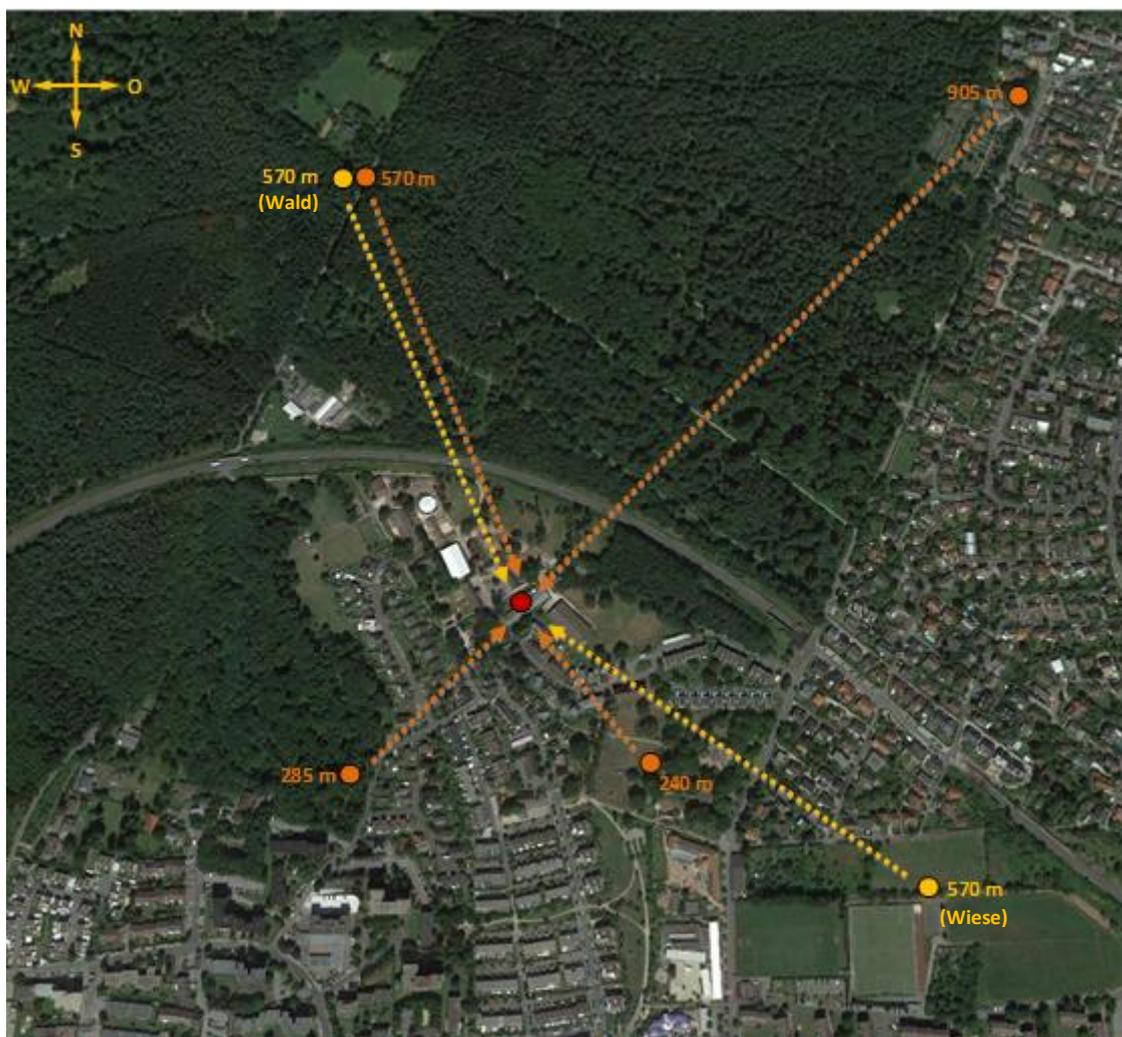
Für die Versuche wurden Bienen beim Ausfliegen aus dem Bienenstock mit Hilfe einer Plexiglas® Pyramide abgefangen. Anschließend wurden sie in Königinnen-Zeichenröhrchen eingespannt und nach der wie unter Punkt 3.1.4 beschriebenen Methode mit RFID-Chips markiert. Anschließend wurden die Bienen zu unterschiedlichen Auflassplätzen transportiert. Der Transport fand im Dunkeln statt, um zu vermeiden, dass sich die Bienen orientieren können. Am Auflassort wurden die Bienen mit 10 µl des entsprechenden Futters gefüttert. Die Versuchsbienen wurden mit 250 ng Thiacloprid, das mithilfe von Aceton gelöst wurde, in 10 µl Honigwasser gefüttert. Die Kontrollbienen bekamen 10 µl Honigwasser mit der entsprechenden Menge an Aceton. Anschließend wurde den Bienen bis zum Zeitpunkt des Auflassens reines Honigwasser *ad libitum* angeboten.

Im ersten Versuchsjahr wurden die Bienen, nachdem sie aufgehört hatten das ihnen angebotene reine Honigwasser aufzunehmen, direkt freigelassen. Die Auflasszeiten wurden notiert. Über die am Stockeingang aufgestellten RFID-Scanner wurden die Bienen bei ihrer Heimkehr mit Datum und Uhrzeit erfasst, sodass sowohl der Anteil der heimkehrenden Bienen, als auch die Dauer, die die Bienen für die Heimkehr benötigten, ermittelt werden konnte.

Im zweiten Versuchsjahr wurde zusätzlich eine zeitliche Komponente in den Versuch aufgenommen. Die Bienen wurden in unterschiedlichen Intervallen, jeweils 0, 30, 60 oder 90 Minuten nach der Fütterung aufgelassen. Bis zum Zeitpunkt des Auflassens bekamen sie weiterhin kontinuierlich reines Honigwasser angeboten.

### **6.2.2 Auflassorte**

Um das Heimfindevermögen der Bienen nach akuter Fütterung mit 250 ng Thiacloprid zu untersuchen, wurden unterschiedliche Plätze im Umkreis von 1 km um den Bienenstock herum ausgewählt, an denen die Bienen aufgelassen wurden. Im ersten Versuchsjahr sollte überprüft werden, ob die Entfernung und Ausrichtung zum Bienenstock einen Einfluss auf die Heimkehrrate und die Heimkehrdauer zeigt. Die vier gewählten Auflassplätze waren zwischen 237 und 905 Meter vom Bienenstock entfernt und lagen in vier unterschiedlichen Himmelsrichtungen (Abbildung 27). Sowohl die Auflassorte selbst als auch die Luftlinienstrecke zwischen Auflassort und Bienenstock unterschieden sich in der Art der Landmarken und der Landmarkendichte. So mussten die Bienen teils auf freier Fläche, teils im Wald starten und Bäume, Wiesen, Straßen, Bäche oder Wohngebiete überfliegen.



**Abbildung 27: Auflassorte.**

Im ersten Versuchsjahr wurden die Bienen von 4 Auflassplätzen (orange) aufgelassen, die in unterschiedlichen Entfernungen (237 bis 905 Meter) und Richtungen zum Bienenstock (roter Punkt) lagen. Im zweiten Versuchsjahr wurden die Bienen in von zwei gleichweit (570 Meter) vom Bienenstock entfernten Plätzen (gelb) aufgelassen. Die Auflassplätze und Strecken (Luftlinie) zum Bienenstock unterscheiden sich in der Art der Landmarken und Landmarkendichte. (Quelle: verändert nach Google Earth <https://earth.google.de>)

Im zweiten Versuchsjahr wurden zwei Auflassorte gewählt, die in gleichem Abstand zum Bienenstock, jedoch in unterschiedlichen geographischen Umgebungen (Wald und Wiese) lagen (Abbildung 27). Auch die Umgebungen, die die Bienen bei ihrer Heimkehr überfliegen mussten, unterscheiden sich deutlich. So verläuft die Heimkehrroute (Luftlinie) vom Auflassplatz „Wald“ über eine weite Baum-bewachsene Fläche und eine große Straße. Die Heimkehrroute (Luftlinie) vom Auflassplatz „Wiese“ hingegen verläuft über freie Flächen, Wiesen, Wohngebiete mit Häusern, mehreren kleineren Straßen und Buschreihen.

## 6.3 Ergebnisse

### 6.3.1 Erster Versuchsdurchlauf

#### 6.3.1.1 Heimkehrrate

Von den aufgelassenen Bienen (Tabelle 16) kehrten insgesamt 108 Bienen der Kontrollgruppe (73%) und 77 Bienen der Versuchsgruppe (53%) zurück. 104 Kontrollbienen (70%) und 71 Versuchsbienen (49%) wurden am Tag des Auflassens wieder am Bienenstockeingang registriert. Eine Kontrollbiene und zwei Versuchsbienen wurden erst am nächsten Tag am Bienenstock registriert.

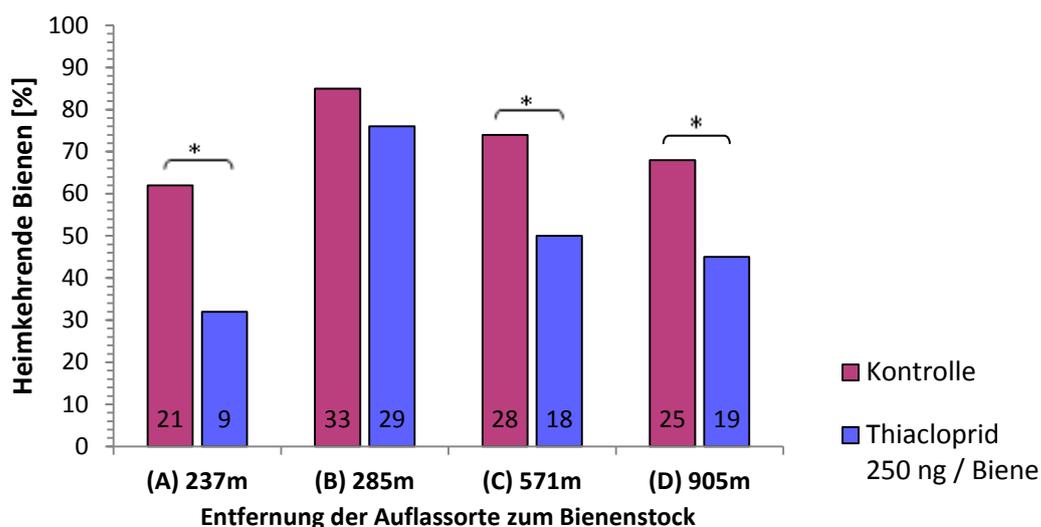
**Tabelle 16: Zahlen der RFID-markierten und registrierten Bienen**

Aufgetragen sind die Anzahl der aufgelassenen und heimgekehrten Bienen pro Ort und Fütterungsgruppe insgesamt, sowie die Anzahl der Bienen, die am Tag des Auflassens zurückgekehrt sind.

K = Kontrolle, T = Thiacloprid

	(A) 237 m		(B) 285 m		(C) 571 m		(D) 905 m	
	K	T	K	T	K	T	K	T
<b>aufgelassene Bienen</b>	<b>34</b>	<b>28</b>	<b>39</b>	<b>38</b>	<b>38</b>	<b>36</b>	<b>37</b>	<b>42</b>
heimgekehrte Bienen insgesamt	22	9	33	30	28	19	25	19
heimgekehrt insgesamt [%]	65	32	85	79	74	53	68	45
<b>am Auflassstag heimgekehrte Bienen</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>33</b>	<b>29</b>	<b>28</b>	<b>18</b>	<b>25</b>	<b>19</b>
<b>am Auflassstag heimgekehrt [%]</b>	<b>62</b>	<b>32</b>	<b>85</b>	<b>76</b>	<b>74</b>	<b>50</b>	<b>68</b>	<b>45</b>
p-Wert (Auflassstag) (Exakter Test nach Fisher)	0,019		0,264		0,031		0,038	

Von jedem Auflasplatz kehrten mehr Kontrollbienen als Versuchsbienen zurück (Abbildung 28). Bei drei Auflasplätzen waren die Unterschiede signifikant ( $p < 0,05$ ; Exakter Test nach Fisher).



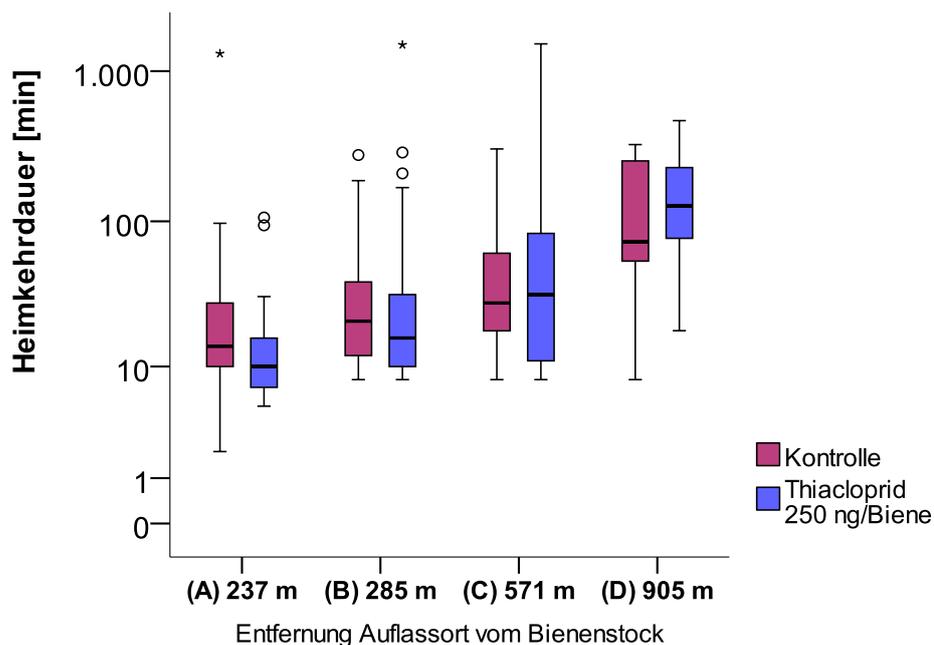
**Abbildung 28: Rückkehrrate: Heimkehrende Bienen am Tag des Auflassens.**

N = 35-40 Bienen pro Auflassort und Fütterungsgruppe. Der Anteil der Bienen, die nach Fütterung und Auflass zum Bienenstock zurückgekehrt sind, ist in Prozent als Balken dargestellt; die exakte Anzahl ist in jedem Balken angegeben.

(\*= $p < 0,05$ ; Test: Exakter Test nach Fisher).

### 6.3.1.2 Heimkehrdauer

Von allen Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind, wurde die Dauer ausgerechnet, die für die Heimkehr benötigt wurde. In Abbildung 29 sind die Zeiten in logarithmischer Auftragung in Minuten pro Auflassort und Fütterungsgruppe dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsbienen konnten nicht beobachtet werden (Signifikanzwerte im Anhang, Tabelle 32). Die Bienen benötigten für die Heimkehr von den verschiedenen Auflassplätzen unterschiedlich lang; je größer die Entfernung zum Bienenstock, desto mehr Zeit wurde benötigt.



**Abbildung 29: Heimkehrdauer am Tag des Auflassens.**

Die Auflassplätze lagen in Distanzen von 237 m bis 905 m vom Bienenstock entfernt. Die Zeit, die die Bienen benötigten, um zum Bienenstock zurück zu gelangen, ist logarithmisch in Minuten dargestellt. Zwischen Kontroll- und Versuchsbiene gab es keine signifikanten Unterschiede in der Heimkehrdauer vom selben Auflassplatz (Test: Mann-Whitney-U). Kreise = Ausreißer, Sternchen = Extremwert. Signifikanzwerte: Anhang, Tabelle 32.

### 6.3.2 Zweiter Versuchsdurchlauf

Im zweiten Versuchsdurchlauf zum Heimkehrvermögen sollte untersucht werden, ob die Auswirkung des Thiacloprids auf das Heimkehrvermögen über einen längeren Zeitraum andauert. Es wurden insgesamt 329 Bienen von den zwei Auflassplätzen „Wiese“ und „Wald“ zu vier Zeitpunkten nach der Fütterung aufgelassen. Die Gesamtzahl der Bienen pro Auflassort, Fütterungsgruppe und Auflass-Zeitpunkt lag zwischen 20 und 22 (Tabelle 17). Ausgewertet wurde der Anteil der Bienen, die nach Auflass und Fütterung wieder zum Bienenstock zurückkehrten, sowie die dafür benötigte Dauer.

**Tabelle 17: Anzahl aufgelassene Bienen**

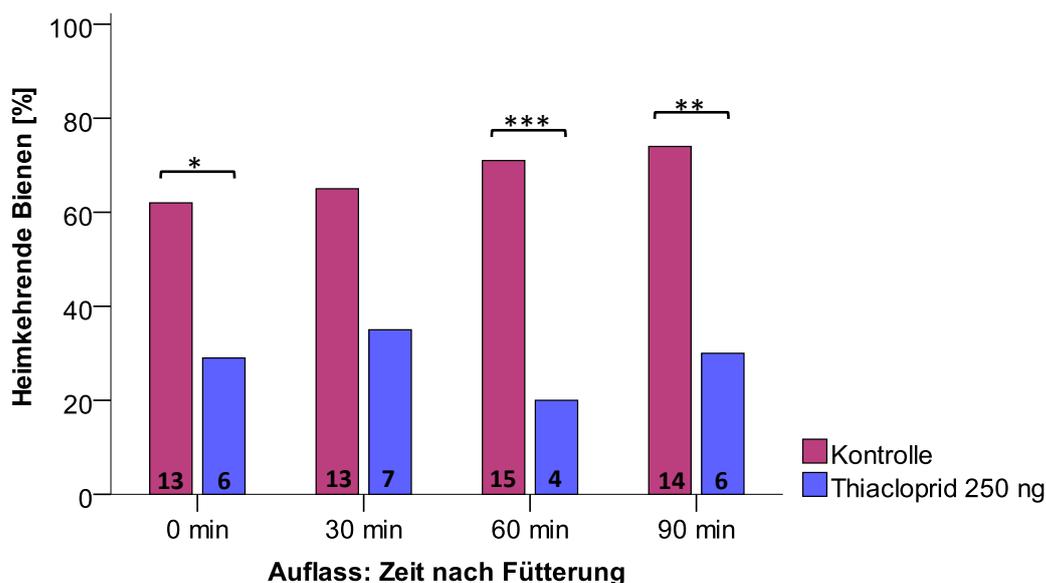
Aufgetragen ist die Anzahl der aufgelassenen Bienen pro Zeitpunkt, Fütterungsgruppe und Auflasort. Die Rückkehrate (Anzahl und Prozent) ist nur von den Bienen angegeben, die am Auflasstag zum Bienenstock zurückgekehrt sind.

	0 min		30 min		60 min		90 min	
	K	T	K	T	K	T	K	T
<b>Wiese</b> aufgelassen	21	21	20	20	21	20	19	20
heim am Auflasstag	13	6	13	7	15	4	14	6
heim am Auflasstag [%]	<b>62</b>	<b>29</b>	<b>65</b>	<b>35</b>	<b>71</b>	<b>20</b>	<b>74</b>	<b>30</b>
<b>Wald</b>								
aufgelassen	23	23	20	20	20	21	20	20
heim am Auflasstag	16	4	15	6	13	2	12	4
heim am Auflasstag [%]	<b>70</b>	<b>17</b>	<b>75</b>	<b>30</b>	<b>65</b>	<b>10</b>	<b>60</b>	<b>20</b>

### 6.3.2.1 Heimkehrrate

Nach einer akuten Aufnahme von 250 ng Thiacloprid ist die Heimkehrrate der Bienen im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich reduziert.

Bei der Auswertung der Daten zum Heimkehrvermögen wurde festgestellt, dass wiederholt einzelne Bienen von beiden Auflasorten und beiden Gruppen erst an den folgenden Tagen (1 bis 3 Tage nach dem Versuchstag) wieder am Bienenstock registriert wurden. Im Folgenden (Abbildung 30 und Abbildung 31) sind die Heimkehraten am Tag des Auflassens dargestellt.



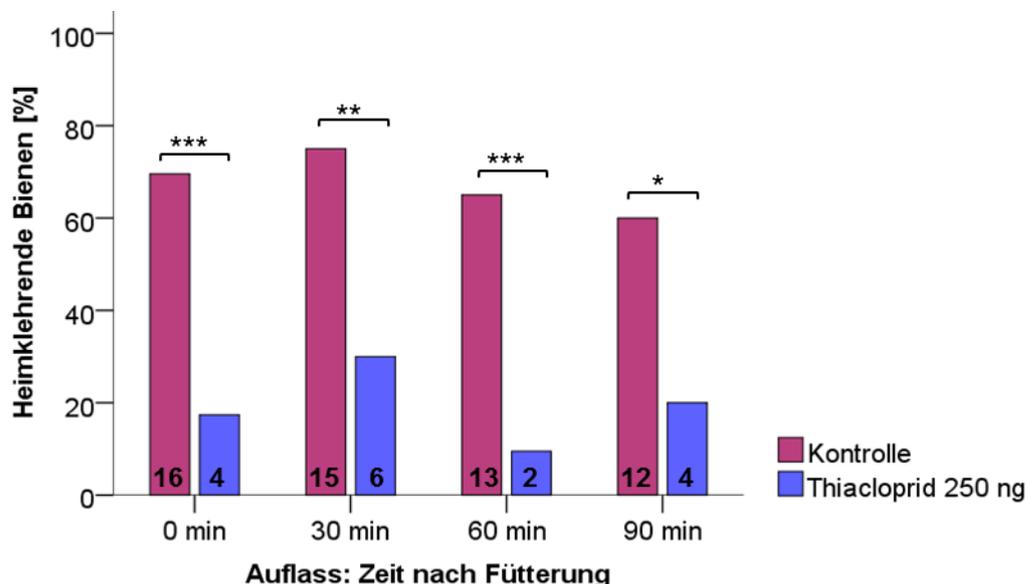
**Abbildung 30: Anteil der am Tag des Auflassens vom Standort „Wiese“ zurückgekehrten Bienen.**

N = 19-21 Bienen pro Auflassintervall und Fütterungsgruppe. Der Anteil der Bienen, die nach Fütterung und Auflass am selben Tag zum Bienenstock zurückgekehrt sind, ist in Prozent als Balken dargestellt; die exakte Anzahl ist in jedem Balken angegeben. Bei direktem Auflass nach der Fütterung mit 250 ng Thiacloprid und nach einem Zeitintervall von 60 und 90 Minuten nach der Fütterung kehrten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant weniger Bienen zurück (\*= $p < 0,05$ ; \*\*= $p < 0,01$ ; \*\*\*= $p < 0,001$ ; Test: Exakter Test nach Fisher).

Der Anteil der Bienen, die vom Auflassort „Wiese“ zurückgekehrt sind, ist in Abbildung 30 in Prozent dargestellt. Zu allen Auflass-Zeitpunkten nach der Fütterung liegen die Heimkehrraten der Bienen, die eine akute Menge von 250 ng Thiacloprid aufgenommen haben (zwischen 20% beim Zeitpunkt 60 Minuten und 35% beim Zeitpunkt 30 Minuten), deutlich unter denen der Kontrollgruppen (62% beim Zeitpunkt 0 Minuten bis 74% beim Zeitpunkt 90 Minuten). Um die Daten statistisch zu testen, wurden die Gruppen pro Auflass-Zeitpunkt gegeneinander getestet. Bei direktem Auflass und nach einem Zeitintervall von 60 und 90 Minuten nach der Fütterung mit 250 ng Thiacloprid wurde ein signifikanter Unterschied in der Heimkehrrate festgestellt.

Ähnliche Beobachtungen zu den Heimkehraten wurden auch vom Auflassort „Wald“ gemacht (Abbildung 31). Auch hier lag der Anteil an Bienen, die nach einer akuten Aufnahme von 250 ng Thiacloprid zum Bienenstock zurückgekehrt sind, mit 10% zum Zeitpunkt 60 Minuten bis 30% zum Zeitpunkt 30 Minuten zu jedem Auflasszeitpunkt

deutlich unter dem Anteil der heimkehrenden Kontrollbienen (60% zum Zeitpunkt 90 Minuten bis 75% zum Zeitpunkt 30 Minuten).



**Abbildung 31: Anteil der Bienen die am Tag des Auflassens vom Standort „Wald“ zurückkehrten.**

N = 20-23 Bienen pro Auflassintervall und Fütterungsgruppe. Der Anteil der Bienen, die nach Fütterung und Auflass am selben Tag zum Bienenstock zurückgekehrt sind, ist in Prozent als Balken dargestellt; die exakte Anzahl ist in jedem Balken angegeben. Nach der Fütterung mit 250 ng Thiacloprid kehrten nach allen Zeitintervallen signifikant weniger Bienen im Vergleich zur Kontrollgruppe zurück (\*= $p < 0,05$ ; \*\*= $p < 0,01$ ; \*\*\*= $p < 0,001$ ; Test: Exakter Test nach Fisher).

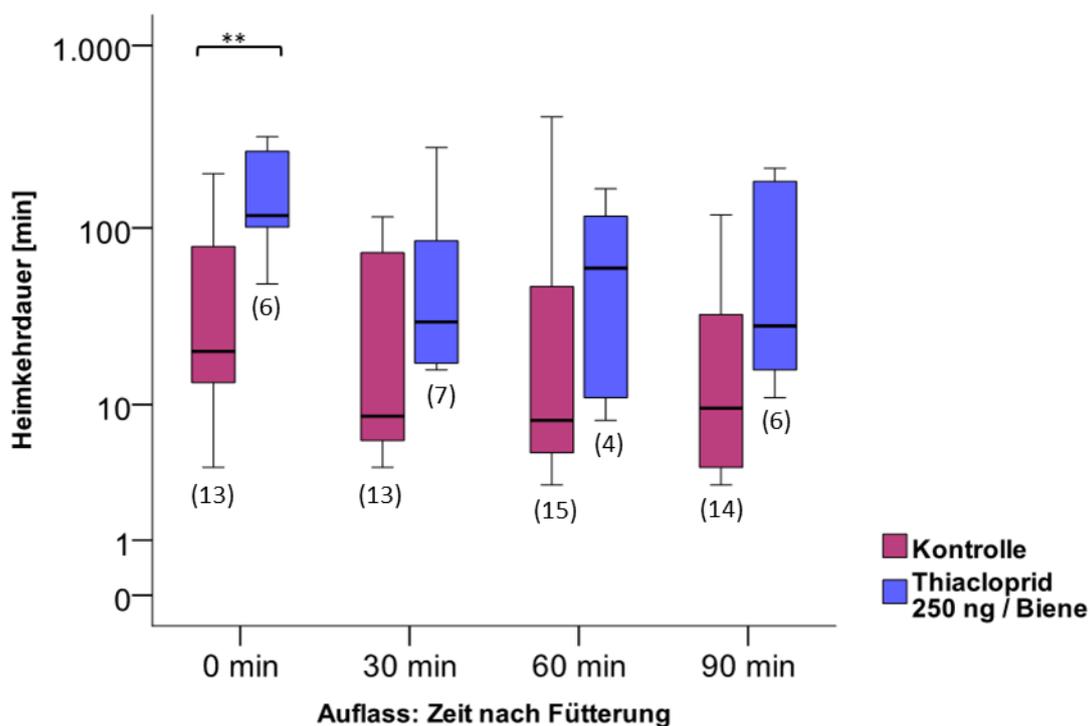
Um die Daten statistisch zu testen, wurden die Gruppen pro Auflass-Zeitpunkt gegeneinander getestet. Zu allen getesteten Zeitpunkten nach der Fütterung wurden signifikante Unterschiede in der Heimkehrrate zwischen Kontrollbienen und Versuchsbienen festgestellt werden.

Der Anteil aller mit 250 ng Thiacloprid gefütterten Bienen, die noch am Auflasstag zum Stock zurückgekehrt sind, ist sowohl beim Auflassplatz „Wiese“ als auch beim Auflassplatz „Wald“ signifikant geringer als der Anteil aller aufgelassenen Kontrollbienen.

### 6.3.2.2 Heimkehrdauer

Nach der Rückkehr der Bienen wurde ausgewertet, wie viel Zeit sie für die Rückkehr benötigten. Die folgenden beiden Abbildungen zeigen die Dauer an, die die Bienen pro Fütterungsgruppe und Auflassintervall benötigten, um von den Auflasorten „Wiese“ (Abbildung 32) und „Wald“ (Abbildung 33) zum Bienenstock zurückzukehren.

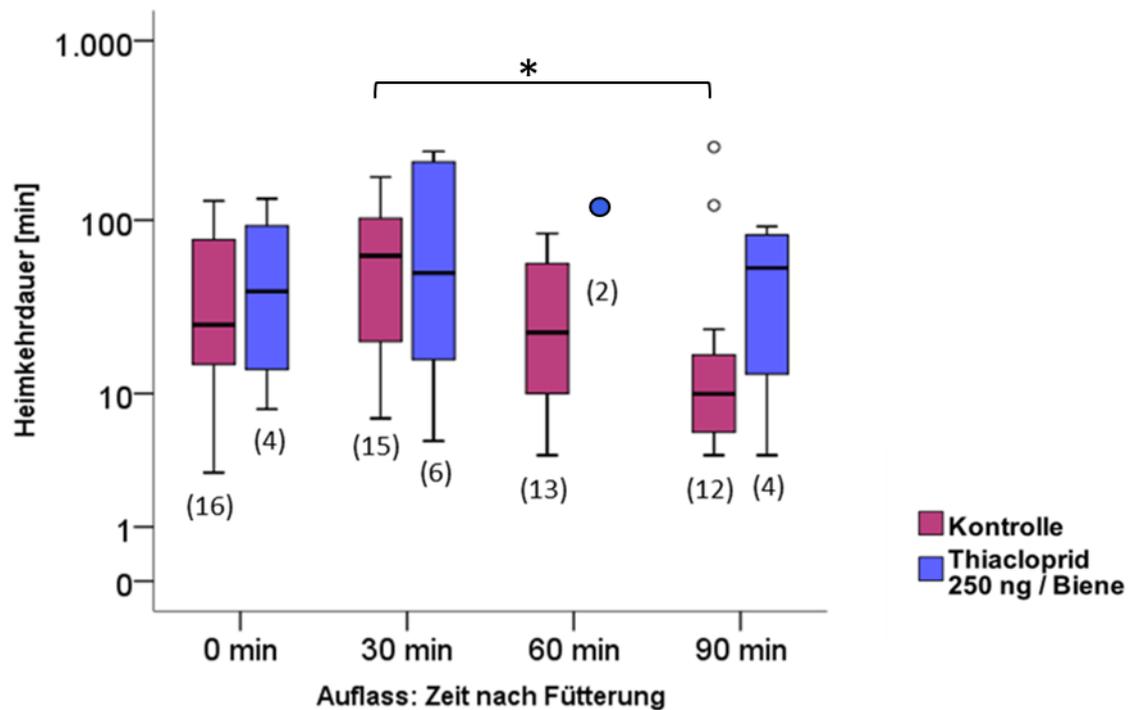
Bei der Heimkehrdauer vom Auflassort „Wiese“ wurde zum Auflassintervall von 0 min ein signifikanter Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen festgestellt. Die Versuchsbienen benötigten ca. 150 min (Median) zur Rückkehr, die Kontrollbienen nur ca. 50 min (Median). Auch bei der Heimkehrdauer nach den Intervallen von 30, 60, und 90 min geht der Trend in dieselbe Richtung. Die Signifikanzwerte sind im Anhang in Tabelle 33 zu finden.



**Abbildung 32: Heimkehrdauer Wiese. Nur Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind.**

Die Zeit, die die Bienen benötigten, um vom Auflassplatz zum Bienenstock zu gelangen, ist logarithmisch in Minuten dargestellt. Die n-Zahl pro Fütterungsgruppe und Auflassintervall ist unter den Boxen in Klammern angegeben. Bienen, die eine akute Dosis von 250 ng Thiacloprid aufgenommen hatten, benötigten zu allen getesteten Zeitpunkten nach der Fütterung signifikant länger für die Heimkehr als Bienen der Kontrollgruppe (\*\*= $p < 0,01$ ; Test: Mann-Whitney-U).

Bei der Heimkehrdauer vom Auflassort „Wald“ konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen festgestellt werden (Abbildung 33, Tabelle 34). Zu den Auflass-Intervallen von 0 und 30 min ist die mediane Heimkehrdauer in den Kontroll- und Versuchsgruppen sehr ähnlich. Zu den Auflass-Zeitpunkten von 60 bzw. 90 min nach der Fütterung zeigt sich der gleiche Trend wie beim Auflassort „Wiese“; die Versuchsbienen benötigen mehr Zeit für die Heimkehr als die Kontrollbienen.



**Abbildung 33: Heimkehrdauer Wald. Nur Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind.**

Die Zeit, die die Bienen benötigten, um vom Auflassplatz zum Bienenstock zu gelangen, ist logarithmisch in Minuten dargestellt. Die n-Zahl pro Fütterungsgruppe und Auflassintervall ist unter den Boxen in Klammern angegeben. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zum gleichen Zeitpunkt (Test: Mann-Whitney-U). Die Kontrollbienen, die nach 30 Minuten aufgelassen wurden, benötigten signifikant mehr Zeit für die Heimkehr als Kontrollbienen die nach 90 Minuten aufgelassen wurden. Da bei der Versuchsgruppe zum Auflassintervall 60 Minuten nach der Fütterung nur zwei Bienen am selben Tag zurückgekehrt sind, konnte beim 60-Minuten-Intervall kein Test durchgeführt werden. In der Abbildung ist von diesen beiden Bienen die mittlere Heimkehrdauer (blauer Punkt) aufgetragen. Kreise = Ausreißer

Beim Vergleich der Heimkehrdauer vom Auflassort „Wald“ wurde in der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied zwischen dem 30-Minuten-Zeitpunkt und dem 90-Minuten-Zeitpunkt errechnet.

Beim Vergleich der beiden unterschiedlichen Auflassorte gab es zum je gleichen Zeitpunkt nach der Fütterung keine signifikanten Unterschiede in der Heimkehrdauer und der Heimkehrrate.

## 6.4 Diskussion

In den Kontrollgruppen der aufgelassenen Bienen gab es Verlustraten (Bienen, die nach dem Auflass nicht mehr am Bienenstock registriert wurden) von bis zu 40 %. Für dieses Ergebnis sind mehrere mögliche Erklärungen zu diskutieren. Die abgefangenen Bienen waren nicht altersmarkiert, sodass die Möglichkeit besteht, dass sich einzelne Bienen auf ihrem ersten Ausflug befanden, und sich noch nicht zum Bienenstock zurück orientieren konnten. Da, wie in Kapitel 5 gezeigt wurde, die Streuung beim Alter mit dem die Bienen zum ersten Mal ausfliegen sehr breit ist, wäre auch eine Altersmarkierung der Bienen nicht sicher genug, um einen solchen Fall auszuschließen. Wie in den Versuchen aus Kapitel 5 müssten die Bienen hierfür direkt nach dem Schlupf mit RFID-Chips markiert werden. Nur so kann festgestellt werden, ob eine am Stockausgang abgefangene Biene den Bienenstock bereits vorher über einen Zeitraum von mehreren Minuten verlassen hatte, was auf einen durchgeführten Orientierungsflug hindeuten würde.

Für die Versuche zum Heimkehrverhalten wurden Bienen abgefangen, die zum Sammeln von Pollen und Nektar aus dem Bienenstock ausgeflogen sind. Den Bienen wurde nach der Aufnahme des Versuchsfutters bis zum Zeitpunkt des Auflassens kontinuierlich Honigwasser angeboten. Hiermit sollte die Möglichkeit zum Nektar-Sammeln für die Bienen nachgestellt und die Wahrscheinlichkeit erhöht werden, dass die Bienen nach dem Auflass direkt zum Bienenstock zurückfliegen und keine weiteren Sammeltätigkeiten ausführen.

Bei den ausfliegenden Bienen ist nicht zu erkennen, ob es sich um eine Nektarsammlerin oder um eine Pollensammlerin handelt. Es ist davon auszugehen, dass die Bienen, die zum Sammeln von Nektar ausgeflogen sind, das angebotene reine Honigwasser besser annehmen und nach dem Auflass direkt zum Bienenstock zurückkehren. Im Falle von Pollensammlerinnen liegt die Vermutung nahe, dass diese eine geringere Menge vom angebotenen reinen Honigwasser aufnehmen und nach dem Auflass versuchen, die Pollenquelle anzufliegen, bevor sie zum Stock zurückkehren. In Versuchen von Parker 1926 und Free 1960b (zitiert nach Winston 1987) wurde beobachtet, dass 58 % der Sammlerbienen nur Nektar, und 25 % der Sammlerinnen nur Pollen sammelten. Demnach

ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass die für die Heimkehrversuche abgefangenen Bienen zum großen Teil Nektarsammlerinnen waren.

Es ist unbekannt, mit welcher Menge an Honigvorrat im Honigmagen die Bienen bei ihrem Ausflug aus dem Bienenstock abgefangen worden sind. Auch die am Auflassplatz aufgenommene Menge an angebotenen reinem Honigwasser war von Biene zu Biene unterschiedlich und konnte nicht genau überprüft werden. Sammlerinnen nehmen oft eine geringere als mögliche Menge an Nektar in den Honigmagen auf, wenn die Qualität der Nektarquelle schlecht ist, oder die Nektarquelle nicht ergiebig, bzw. der Zuckergehalt zu niedrig ist (Núñez 1966 und 1982). Durch die 1:1-Verdünnung des angebotenen Honigwassers ist es gut möglich, dass der Zuckergehalt im Honigwasser im Vergleich zum Zuckergehalt der natürlichen Nektarquellen deutlich geringer und somit für die Bienen weniger attraktiv war. Es ist also nicht sicher, ob die Bienen eine Menge von durchschnittlich 40 mg Futter in den Honigmagen aufgenommen hatten, wie es bei einem Sammelflug zu erwarten gewesen wäre (Parker 1926, zitiert nach Winston 1987; von Frisch 1965).

Es besteht die Möglichkeit, dass manche Bienen vom Auflassort nicht den Weg zum Bienenstock zurück gesucht haben, sondern den Weg zur Nektar- bzw. Pollenquelle, die sie ursprünglich anfliegen wollten. Die Bienen wurden für die Versuche an Orte gebracht, die bis zu einem Kilometer vom Stock entfernt lagen. Sollten sie von dort aus in die vermeintliche Richtung des Sammelortes weitergeflogen sein, könnte es passiert sein, dass sich die Bienen an einem mehrere Kilometer weit entfernten, unbekanntem Ort wiedergefunden haben, von dem aus sie sich nicht mehr zum Bienenstock zurück orientieren können. Eine solche Orientierungslosigkeit könnte besonders in den Waldgebieten vorgekommen sein.

Die Versuche zeigten deutliche beeinträchtigende Auswirkungen einer akuten Dosis von 250 ng Thiacloprid pro Biene auf die Heimkehrrate, wie sie bereits Bortolotti et al. (2003) und Henry et al. (2012) nach der Gabe sublethaler Dosen von Imidacloprid und Thiamethoxam beobachtet haben. Mit einer Verlustrate von bis zu 80 % kehrten im Vergleich zu den Kontrollbienen signifikant weniger Bienen nach der Aufnahme von Thiacloprid zum Bienenstock zurück. Fischer et al. (2014) beobachteten mittels Radarverfolgung einen Orientierungsverlust der Bienen nach Aufnahme von 1250 ng

Thiacloprid pro Biene. Bereits im Jahr 2005 machten Menzel et al. ähnliche Beobachtungen, durch die sie Rückschlüsse auf das Vorhandensein eines räumlichen, Landkarten-ähnlichen Gedächtnisses der Bienen zogen. Im Gegensatz zu den Kontrollbienen zeigten die mit Thiacloprid gefütterten Bienen bei Fischer et al. (2014) keinen orientierten, gerichteten Flug zum Stock zurück. Da die RFID-Methode nicht ermöglicht, die Flugspuren von Bienen zu beobachten, kann nur vermutet werden, dass ein ähnliches Flugverhalten auch in den Versuchen dieser Arbeit aufgetreten ist. Es kann nur vermutet werden, dass Bienen, die nach der Aufnahme des angebotenen Honigwassers zum Bienenstock zurückfliegen wollten, einen Vektorflug durchgeführt haben. Dieser würde nicht zum Bienenstock zurückführen, sodass sich die Bienen anschließend neu orientieren müssten. Die Thiacloprid-gefütterten Bienen könnten dabei, im Gegensatz zu den Kontrollbienen, Schwierigkeiten beim Abrufen des Navigations-Gedächtnisses haben, und in der Folge nicht mehr zum Bienenstock zurückfinden.

Die verringerte Heimkehrrate deutet also auf einen Orientierungsverlust der Bienen durch die Aufnahme von Thiacloprid hin. Diese Schlussfolgerung ist jedoch nicht mehr eindeutig, wenn man die Ergebnisse zur Heimkehrdauer betrachtet. In den Versuchen von Fischer et al. (2014) wurde festgestellt, dass die Fluggeschwindigkeit von Bienen nach Aufnahme von Thiacloprid signifikant verringert war. In der hier vorgestellten Arbeit konnten diese Beobachtungen nicht bestätigt werden; allerdings kann über die RFID-Methode nicht die Fluggeschwindigkeit selbst, sondern nur die Heimkehrdauer als Vergleich herangezogen werden. In nur einem Fall unterschied sich die Heimkehrdauer der Versuchsgruppe signifikant zu der Heimkehrdauer der Kontrollgruppe (siehe Punkt 6.3.2.2, „Wiese“, Auflassintervall 0 min). Die übrigen Ergebnisse zeigen teils einen Trend in dieselbe Richtung, bei anderen allerdings ist dies nicht der Fall. Bei Thiacloprid-gefütterten Bienen, die sich schlechter orientieren können als Kontrollbienen, würde man erwarten, dass sie deutlich mehr Zeit für die Heimkehr benötigen. Während die Kontrollbienen nach der Neuorientierung relativ zielgerichtet zum Bienenstock zurückfliegen würden, würden die Versuchsbiene Suchflüge unternehmen, und dabei sowohl mehr Strecke zurücklegen, als auch mehr Zeit benötigen.

Die beobachteten Umstände wirken sehr widersprüchlich. Einerseits sieht man einen deutlichen Effekt des Thiacloprids auf die Heimkehrrate, andererseits sind aber die Rückkehrzeiten der Versuchsbienen, die dennoch zum Volk zurückfliegen, mit denen der Kontrollbienen vergleichbar. Ähnliche Beobachtungen machte Matsumoto (2013). Nach Aufnahme des Neonikotinoids Clothianidin verringerte sich die Heimkehrrate der Bienen, jedoch nicht die Heimkehrdauer. Allerdings erfasste er nur Daten von Bienen, die bis zu 30 Minuten nach dem Auflassen wieder zum Bienenstock zurückgekehrt waren, sodass eine starke Auswirkung des Clothianidins auf die Heimkehrdauer möglicherweise vorhanden war, jedoch nicht festgestellt wurde.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die tatsächliche von den Bienen in die Hämolymphe absorbierte Menge Thiacloprid von Biene zu Biene stark variiert. Zum einen besteht die Möglichkeit, dass einzelne Bienen das Versuchsfutter, oder einen Teil davon, nach der Fütterung unbemerkt wieder ausgestoßen haben. Da die Bienen nach der kontrollierten Fütterung mit 10 µl Versuchsfutter weiterhin reines Honigwasser nach Belieben aufnehmen konnten, wurde dadurch die Konzentration des Thiacloprids (im Honigmagen der Biene) verdünnt. Diese Verdünnung ist abhängig von der jeweiligen zusätzlich aufgenommenen Menge an Honigwasser. Folglich könnte es passieren, dass die Aufnahme der gesamten Thiacloprid-Menge von 250 ng in die Hämolymphe verzögert stattfindet, oder nur ein Anteil absorbiert wird. Es ist also möglich, dass die zum selben Zeitpunkt aufgelassenen Bienen unterschiedliche Mengen an Thiacloprid aufgenommen haben, was wiederum in unterschiedlichen starken Auswirkungen auf das Orientierungs- bzw. Navigationsvermögen resultieren würde.

Iwasa et al. (2004) schließen aus ihren Untersuchungen, dass Thiacloprid in Bienen schnell mithilfe von Enzymen aus der Gruppe der Cytochrom-P450-Monooxygenasen (P450s) abgebaut wird. Nach Untersuchungen von Suchail et al. (2003) wurden bereits 20 Minuten nach akuter Verfütterung von Imidacloprid bis zu 50 % der Substanz metabolisiert. Obwohl Imidacloprid als nitro-substituiertes Neonikotinoid vermutlich über andere Wege abgebaut wird als das cyano-substituierte Thiacloprid (Iwasa et al. 2004), kann dennoch davon ausgegangen werden, dass während der Zeit, die bis zum Auflassen der Bienen vergangen ist, bereits ein Anteil des aufgenommenen Thiacloprids in den Bienen abgebaut wurde.

Der Abbau von Giftstoffen resultiert in einem höheren Energieverbrauch der Insekten (Kliot und Ghanim, 2012). So besteht die Möglichkeit, dass Bienen nach der akuten Aufnahme von Thiacloprid durch die Entgiftungsvorgänge weniger Energie für den Rückflug zur Verfügung steht. Wenn in diesem Fall zunächst ein Vektorflug vorgenommen wird, und sich die Bienen anschließend noch neu in Richtung des Bienenstocks orientieren müssen, haben sie eventuell nicht mehr genügend Energiereserven, um die Strecke bis zum Bienenstock zurückzulegen. Als Folge würden deutlich weniger Bienen am Zielpunkt ankommen, wie auch in den Ergebnissen der Versuche zum Heimfindevermögen zu sehen war.

Im ersten Versuchsdurchlauf wurden Bienen von vier Orten aufgelassen, von denen die Bedingungen für die Rückkehr sehr unterschiedlich waren. Da sich hier sowohl die Richtungen zum Bienenstock als auch die Entfernungen und das Vorkommen von Landmarken im Bereich zwischen Auflassort und Bienenstock sehr stark unterscheiden, konnte kein Vergleich zwischen den Gruppen von unterschiedlichen Auflassorten durchgeführt werden. Die Rückkehrdauer verlängerte sich entsprechend der Entfernung des Auflassortes zum Bienenstock, was den Erwartungen entsprach. Ob jedoch das Vorkommen von Landmarken einen zusätzlichen Einfluss hatten, konnte durch diesen Versuch nicht überprüft werden. Da die Bienen im Dunklen vom Bienenstock aus zu den Auflassorten gebracht wurden, konnten sie nicht wissen, in welcher Himmelsrichtung sich der Bienenstock befand. In diesem Fall sind die Bienen darauf angewiesen, Landmarken wiederzuerkennen, um sich zu orientieren und anschließend in Richtung des Bienenstocks navigieren zu können (Palikij et al. 2012).

Deshalb wurden für den zweiten Versuchsdurchlauf zwei Auflassorte gewählt, die dieselbe Entfernung zum Bienenstock hatten. Das Vorkommen von Landmarken unterschied sich jedoch in den jeweiligen Bereichen zwischen Auflassort und Bienenstock deutlich. Hiermit bot sich durch den veränderten Versuchsaufbau die Möglichkeit, den Einfluss von Landmarken auf das Heimkehrvermögen zu untersuchen. Henry et al. (2014) beobachteten bei niedriger Landmarkendichte sowohl in der Gruppe der Kontrollbienen als auch in der Gruppe der mit dem Neonikotinoid Thiamethoxam gefütterten Bienen eine ähnlich hohe Verlustrate. Bei hoher Landmarkendichte war die Heimkehrrate der Kontrollbienen deutlich höher, die Rate der mit Thiamethoxam gefütterten Bienen blieb

gering. Auf der Heimflugstrecke vom Auflassort „Wiese“ des hier vorgestellten Versuchs besteht eine größere Landmarkendichte als auf der Heimflugstrecke vom Auflassort „Wald“. Hierdurch wurde erwartet, dass auf der Strecke mit der größeren Landmarkendichte ein größerer Unterschied in der Heimkehrrate von Kontrollbienen und mit Thiacloprid gefütterten Bienen auftreten würde. Dies konnte jedoch nicht beobachtet werden. Die Verlustraten der mit Thiacloprid gefütterten Bienen waren von beiden Auflassorten aus signifikant höher als die der Kontrollbienen.

Bei einem Sammelflug werden von den Bienen im Durchschnitt 40 mg Nektar transportiert (Parker 1926, zitiert nach Winston 1987; von Frisch 1965). Ausgehend von diesem Wert würde eine Biene, bei einer feldrelevanten Konzentration von 200 ppb Thiacloprid, pro Sammelflug eine Menge von 8 ng Thiacloprid transportieren und gegebenenfalls absorbieren. Die in den hier vorgestellten Versuchen eingesetzte akute Dosis von 250 ng ist also um mehr als 30fach höher. Möglicherweise ist bei einer solch hohen Dosis ein zusätzlicher Effekt der Landmarkendichte auf das Heimkehrverhalten der Bienen zu gering, um in den Daten erfasst zu werden. Allerdings konnte auch keine Änderung in der Heimkehrrate der Kontrollbienen, wie es Henry et al. (2014) in Abhängigkeit von der Landmarkendichte beobachtet haben, festgestellt werden. Es besteht also die Möglichkeit, dass der Unterschied der Landmarkendichte zwischen den gewählten Auflassorten und dem Bienenstock nicht groß genug war, um sich unterschiedlich auf das Heimkehrvermögen der Bienen auszuwirken.

Nachdem in ersten Versuchen zum Heimfindevermögen von Bienen bereits ein Effekt des Thiacloprids durch eine deutliche geringere Heimkehrrate beobachtet wurde, sollte nun überprüft werden, ob zeitabhängige Auswirkungen nach der Aufnahme von Thiacloprid zu beobachten sind. Subletale Mengen des Neonikotinoids Imidacloprid führen bei Bienen zu langsameren und verringerten Bewegungen, die im Zeitraum ab 30 Minuten nach der Fütterung bis zu mehreren Stunden anhielten (Medrzycki et al. 2003). Eine Zeitreihe mit vier Messzeitpunkten im Abstand von je 30 Minuten sollte hierfür einen Beobachtungszeitraum von 90 Minuten abdecken. In den hier vorgestellten Versuchen konnte im Zeitraum von 90 Minuten nach der Aufnahme von Thiacloprid jedoch keine eindeutige zeitabhängige Wirkung des Thiacloprids festgestellt werden. Über den genauen Vorgang und die Geschwindigkeit des Abbauprozesses von Thiacloprid in Bienen

ist noch nicht viel bekannt. Somit kann über Gründe für die beobachteten Ergebnisse nur spekuliert werden.

Sammlerinnen verbrauchen pro Flugstunde 8-12 mg Zucker (Balderrama et al. 1992), dies entspricht 20-30  $\mu$ l des während der Versuche gefütterten Honigwassers. Es wurden nur Bienen aufgelassen, die 10  $\mu$ l Versuchsfutter (Kontrolle oder Thiacloprid) aufgenommen hatten. Die meisten Bienen nahmen zusätzlich etwas des anschließend angebotenen reinen Honigwassers auf. Die Energieversorgung durch Zucker müsste somit für mindestens eine halbe Stunde, in den meisten Fällen jedoch länger, sichergestellt gewesen sein. Das Futter wird zunächst im Honigmagen gespeichert, von dem aus es je nach Bedarf in den Darm aufgenommen wird. Während des Heimflugs wird vermutlich das im Honigmagen vorhandene Futter und somit jeweils ein Anteil des darin enthaltenen Thiacloprids nach und nach in dem Darm aufgenommen. Auch wenn Thiacloprid, wie Iwasa et al. (2004) es vermuten, schnell über P450-Oxidasen metabolisiert wird und die Abbauprodukte nur gering toxisch auf Bienen wirken, könnte es sich durch die fortlaufende Aufnahme in den Darm und im Folgenden in die Hämolymphe trotzdem auf die Orientierungsfähigkeit und das Navigationsvermögen auswirken.

In den hier vorgestellten Versuchen wurden starke Auswirkungen des Thiacloprids auf das Heimkehrvermögen von Honigbienen festgestellt, die auf Volksebene zu einem großen Verlust an Sammlerinnen und letztendlich zum Zusammenbruch eines Bienenvolkes führen könnten.

Ausgehend von einer feldrelevanten Thiacloprid-Konzentration von 200 ppb würde eine Biene bei einem Sammelflug mit 40 mg Nektar eine Menge von 8 ng Thiacloprid aufnehmen. Wenn man mit 10 durchgeführten Sammelflügen pro Tag rechnet (Winston 1987), und davon ausgeht, dass das Thiacloprid nicht abgebaut wird, sondern in der Biene akkumuliert, würde die insgesamt aufgenommene tägliche Dosis noch weit unter der in den Versuchen zum Heimkehrvermögen eingesetzten Menge von 250 ng liegen. Da Neonikotinoide in Bienen metabolisiert werden (Iwasa 2004, Suchail 2003), ist nicht davon auszugehen, dass sich eine solche Menge an Thiacloprid in den Bienen anreichert. Ob bei der Aufnahme einer feldrelevanten Konzentration von 8 ng dieselben Beobachtungen gemacht werden würden ist sehr fraglich, zumal, wie in Kapitel 2 gezeigt

wurde, Bienenvölker unter chronischer Fütterung von feldrelevanten und zehnfach höheren Konzentrationen an Thiacloprid nicht zusammenbrechen.

---

## 7 Allgemeine Diskussion

### 7.1 Rückstandsanalysen

Die Rückstandsanalysen des angerührten Futters ergaben, dass die nachgewiesenen Konzentrationen an Thiacloprid oft etwas oberhalb oder unterhalb der angestrebten Konzentrationen lagen. Für das hergestellte Versuchsfutter wurde das in Aceton und Wasser gelöste Thiacloprid per Hand in den Futtersirup eingerührt. Es besteht die Möglichkeit, dass beim Herstellen des Futters das Thiacloprid nicht vollständig gleichmäßig im Futtersirup verteilt wurde. Zudem können kleinere Ungenauigkeiten beim Abwiegen der Substanz zu geringen Abweichungen von der angestrebten Thiacloprid-Konzentration geführt haben. Abweichung von bis zu 500 ppb liegen aber durchaus in einem noch akzeptablen Rahmen.

Die nachgewiesenen Konzentrationen an Thiacloprid waren im eingelagerten Futter der Versuchsvölker wesentlich geringer als im frisch hergestellten Futter. Möglicherweise nehmen die Bienen beim Umtragen des Futters vom Fütterer in die Waben kleine Mengen an Thiacloprid aus dem Futter auf. Hierdurch könnte die Konzentration im Futter leicht verringert werden. In den ersten zwei Versuchsjahren wurde mit Flugzelten gearbeitet, die kleinere Löcher aufwiesen, sodass einzelne Bienen aus den Zelten herausfliegen konnten. Besonders in den Versuchen die im Frühjahr durchgeführt wurden, könnte man vermuten, dass ein geringer Teil des Futters von außen eingetragen und zusätzlich zu dem im Fütterer angebotenen Futter in die Waben eingelagert wurde. Feldrelevante Dosen an Thiacloprid liegen mit Maximalwerten von 130 und 498 ppb (Genersch et al. 2010, von der Ohe und Martens 2011) deutlich unter der Dosis des angerührten Futters. Ein Futtereintrag von außen könnte somit ebenfalls zu einer leichten Verringerung der Thiacloprid-Konzentration im eingelagerten Futter führen, ist jedoch als eher unerheblich zu betrachten. Im letzten Versuchsjahr wurde mit neuen Flugzelten gearbeitet, die den Bienen keine Möglichkeiten zum Verlassen des Zeltens und zum Eintrag fremden Futters boten. Auch in diesem Versuchsjahr lagen die Thiacloprid-Konzentrationen im eingelagerten Futter deutlich unter den Konzentrationen im frisch hergestellten Futter. Die Vermutung, dass die Thiacloprid-Konzentration im Futter durch den Eintrag von zusätzlichem Nektar verringert werden würde, hat sich nicht bestätigt.

Die deutliche Verringerung der Thiaclopid-Konzentration deutet darauf hin, dass ein Teil der Substanz im Versuchszeitraum abgebaut wird. Die Futterproben wurden deshalb im letzten Versuchsjahr nicht nur auf Thiaclopid, sondern auch auf ein Abbauprodukt, Thialcoprid-Amid, untersucht. Nachdem im frisch hergestellten Versuchsfutter kein Thiaclopid-Amid nachgewiesen werden konnte oder der Gehalt unter der Bestimmbarkeitsgrenze lag, wurde im eingelagerten Futter eine Konzentration bestimmt, die bis zu 2 % der Konzentration an Thiaclopid entsprach. Die Analysen bestätigen die Vermutung des Abbaus von Thiaclopid. Möglicherweise sind noch andere Abbauprodukte des Thiacloprids im Futter vorhanden, auf die jedoch nicht analysiert wurde.

In den Bienenproben wurden 5-6 % der im Futter vorhandenen Konzentration an Thiaclopid gefunden. Beobachtungen mit vergleichbaren Ergebnissen wurden von Pohorecka et al. (2012) bei Feldversuchen in Polen gemacht. Hier wurden verschiedene Proben von gesammeltem Nektar und Pollen, Honig, Bienenbrot und Bienen aus Bienenvölkern entnommen und die Konzentrationen der Insektizide Imidaclopid, Clothianidin, Thiamethoxam, Acetamiprid und auch Thiaclopid bestimmt. Die Thiaclopid-Konzentration in den Bienenproben entsprach auch hier ca. 4-7 % der im Honig detektierten Konzentration an Thiaclopid.

Wenn der Bienenstock geöffnet wird, wird ein Rauchstoß ins Volk gegeben. Dieser bewirkt, dass sich die Bienen auf die Waben zurückziehen und den Honigmagen mit Honig füllen. Bienen können im Durchschnitt 40 mg Honig in ihren Magen aufnehmen (Parker 1926, zitiert nach Winston 1987). Wäre dies der Fall und würde kein Abbauprozess in den Bienen stattfinden, hätte eine Menge Thiaclopid in den Bienenproben detektiert werden müssen, die achtmal so hoch gewesen wäre wie die tatsächlich gefundene Menge. Es ist möglich, dass die Bienen eine geringere Menge an Futter aufgenommen haben, bevor sie zur Probenanalyse von den Waben abgesammelt wurden. Den Analyseergebnissen zufolge hätten sie ca. 5 mg Futter aufgenommen. Dies würde der Thiaclopid-Konzentration im Futter zum selben Zeitpunkt entsprechen. Als weiterer Aspekt muss jedoch auch der Metabolismus von Thiaclopid in der Biene bedacht werden. Cresswell et al. (2012) beobachteten in Versuchen mit Honigbienen, dass eine Dosis des Neonikotinoids Imidaclopid von 4,5 ng, die bei akuter Aufnahme letal ist, keine Auswirkungen auf die Futteraufnahme, die Bewegung und die Lebensdauer hatte, wenn

sie über den ganzen Tag verteilt aufgenommen wurde. Sie vermuten, dass die Bienen die Substanz kontinuierlich metabolisieren. So käme es nicht zu einer Anreicherung der Substanz bis zur letalen Dosis. Im Gegensatz zu den Honigbienen zeigten Hummeln eine verringerte Futteraufnahme, woraus Cresswell et al. schlussfolgern, dass Honigbienen besser als Hummeln an die Aufnahme von Imidacloprid angepasst sind.

Suchail et al. (2003) haben den Metabolismus von Imidacloprid in Honigbienen untersucht. Sie konnten nach 20 Minuten nur noch 70 % der gefütterten Substanzmenge in den Bienen nachweisen, davon 50 % Imidacloprid, und 9 bzw. 8 % von zwei Metaboliten. Die höchste Konzentration dieser zwei detektierten Metabolite wurde nach vier Stunden gemessen. Die höchste Sterberate nach der akuten Aufnahme von Imidacloprid trat ebenfalls nach vier Stunden auf. Suchail et al. vermuten, dass auch die Metabolite Einfluss auf die Mortalität haben könnten. Im Gegensatz hierzu schlossen Iwasa et al. durch ihre Versuche auf einen schnellen Abbau von Thiacloprid, der durch die Ungiftigkeit der entstehenden Metabolite gleichzeitig eine Entgiftung bedeuten sollte (Iwasa et al. 2004). Hiernach würde das Thiacloprid-Amid keine toxische Wirkung auf Bienen haben. Anhand der Ergebnisse der Rückstandanalysen kann vermutet werden, dass die chronisch gefütterten Bienen in den Mini-Völkern das gefütterte Thiacloprid relativ schnell und konstant abbauen.

Die aus den Versuchsvölkern entnommenen Bienenproben wurden erst nach 30 Minuten bei -20°C eingefroren. Enzyme, die am Abbau von Thiacloprid beteiligt sind, waren während dieser Zeit möglicherweise noch aktiv. Dies könnte die Tatsache erklären, dass die analysierten Thiacloprid-Konzentrationen geringer als erwartet waren. Die Bienenproben wurden von den Randwaben entnommen, auf denen sich meist die älteren Bienen befinden. Diese Bienen haben das Versuchsfutter vermutlich bereits über mehrere Tage oder Wochen aufgenommen. Die geringen Konzentrationen in den Proben deuten nicht darauf hin, dass das Thiacloprid in den Bienen akkumuliert.

Im angerührten Kontrollfutter konnte kein Thiacloprid nachgewiesen werden. Im eingelagerten Futter, den Bienenproben und Puppenproben aus den Kontrollvölkern wurden jedoch jeweils sehr geringe Thiacloprid-Konzentrationen von bis zu 4 ppb festgestellt. Thiacloprid besitzt hydrophobe Eigenschaften (Wang 2001). Viele Substanzen die hydrophob sind, sind gleichzeitig lipophil. Es besteht die Möglichkeit, dass im Wachs

der ins Volk eingehängten Waben bereits Rückstände von Thiaclopid vorhanden waren, die aus vorherig eingelagertem Honig ins Wachs diffundiert sind.

Um die Unterschiede zwischen Kontrollfutter und Versuchsfutter so gering wie möglich zu halten, wurde ins Kontrollfutter dieselbe Menge an Aceton gemischt wie ins Versuchsfutter. Der größte Anteil an Aceton sollte während des Anrührens verdunsten; es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass ein geringer Anteil im angerührten Futter zurückbleibt. Dies könnte dazu führen, dass im Wachs vorhandene Thiaclopid-Rückstände durch das Aceton aus dem Wachs gelöst und von den Bienen über das Futter aufgenommen werden. Dies würde die geringen nachgewiesenen Mengen an Thiaclopid in den Bienenproben erklären. Die Puppenproben der mit Thiaclopid gefütterten Versuchsvölker enthielten eine ähnlich geringe Menge an Thiaclopid wie die Puppen der Kontrollvölker. Nach Rortais et al. (2005) nimmt eine Arbeiterinnen-Larve knapp 60 mg Zucker über den Entwicklungszeitraum von fünf Tagen auf. Dies würde eine Menge von 83 mg Zuckersirup pro Larve entsprechen. Bei einer Konzentration von 8800 ppb im Futter wären dies 0,7 µg Thiaclopid pro Larve oder etwa 7000 ppb. Die analysierten Werte ergeben weniger als 0,1 % dieser errechneten Konzentration. Die Larven bekommen zum großen Teil nicht den direkten Futtersirup gefüttert, sondern ein von den Ammenbienen produziertes Larvenfutter (siehe Kapitel 4). Der Zuckergehalt in diesem Futter beträgt in den ersten drei Tagen der Larvenphase 18 %, in den letzten zwei Tagen bis zu 45 % (Brodschneider und Crailsheim 2010). Vermutlich wird das Thiaclopid in den Ammenbienen metabolisiert oder kommt gar nicht mit dem Larvenfutter in Kontakt, da dieses in speziellen Drüsen hergestellt wird. Die geringen in den Larven nachgewiesenen Mengen an Thiaclopid lassen sich durch die Beimischung geringerer Mengen an Futtersirup zum Larvenfutter (Winston 1987, Kunert und Crailsheim 1988) erklären. Möglicherweise könnte sich auch im Wachs vorhandenes Thiaclopid durch den recht geringen pH-Wert des Larvenfutters (dieser liegt nach Wessler et al. (eingereicht) im Gelée Royal bei etwa 4) aus dem Wachs lösen und ins Larvenfutter diffundieren. Dies würde die detektierten Mengen an Thiaclopid in den Puppen der Kontrollvölker erklären. Die Tatsache, dass sowohl im eingelagerten Futter als auch in Bienen und Puppen der Kontrollvölker ähnliche Konzentrationen nachgewiesen wurden, deutet darauf hin dass von den Larven aufgenommenes Thiaclopid nicht oder nicht vollständig wieder

ausgeschieden wird. Diese Vermutung müsste über Rückstandsanalysen der Ausscheidungen von entsprechend gefütterten Larven überprüft werden.

## **7.2 Die Wirkung von Thiacloprid auf Einzelbienen und Bienenvölker**

In der hier vorliegenden Arbeit wurden in Bezug auf das Phänomen „Colony Collapse Disorder“, das Zusammenbrechen von Bienenvölkern, die Auswirkungen des bisher uneingeschränkt zugelassenen Neonikotinoids Thiacloprid auf Einzelbienen und Bienenvölker untersucht.

In Teilen der Versuche standen die Bienenvölker unter den Flugzelten und konnten nur in einem Raum von etwa 65 m<sup>3</sup> fliegen. Da die Bienen direkt im Volk mit Zuckersirup gefüttert wurden und der Pollen sowohl in ca. zwei Metern Entfernung vom Stockeingang als auch direkt in der Wabe angeboten wurde, unterscheiden sich die Bedingungen von Bedingungen im Freiland, unter denen die Sammlerinnen kilometerweit fliegen müssen, um Nektar und Pollen zu sammeln und zahlreichen Gefahren, wie beispielsweise Witterung und Fressfeinden, ausgesetzt sind. Zudem wurden für die Versuche unter den Flugzelten kleine Bienenvölker mit bis zu 4.000 Bienen eingesetzt. Im Gegensatz dazu bestanden die Völker des Feldversuchs aus bis zu 30.000 oder mehr Bienen. Die Entwicklung der Bienenvölker, welche über regelmäßige Schätzungen nachverfolgt wurde, verlief in den großen Völkern des Feldversuchs und den Mini-Völkern unter den Flugzelten ähnlich. Im Herbst wurde ein Rückgang der Bienenzahlen beobachtet, im Frühjahr ein Anstieg der Zahlen von Bienen und Brutzellen. Dennoch ist aufgrund der unterschiedlichen Größe der Bienenvölker und der Tatsache, dass die Mini-Völker nur über einen Zeitraum von mehreren Wochen bis zu zwei Monaten beobachtet wurden, ist ein Vergleich der Mini-Völker unter den Flugzelten mit Bienenvölkern im Freiland und mit normaler Volksstärke nur bedingt möglich.

Beim über drei Jahre angelegten Feldversuch (Kapitel 2) wurde bei einer 10fach höheren als der feldrelevanten Dosis an Thiacloprid eine leichte Verringerung der Anzahl an Brutzellen festgestellt. Versuche zur Brutbeobachtung (Kapitel 4), die mit 40fach höherer Konzentration in Mini-Plus-Völkern unter den Flugzelten durchgeführt wurden,

bestätigten diese Beobachtung jedoch nicht. Es zeigte sich keine Änderung in der Größe der Brutfläche oder ein vermehrter Verlust an Brut, somit gibt es hier keinen eindeutigen Hinweis auf eine Wirkung des Thiacloprids auf die Brutmenge. In diesen Versuchen wurde die Schlupfrate an jungen Bienen nicht bestimmt. Jedoch wurde bei den Versuchen zum Ausflugverhalten und zur Lebensdauer der Bienen (Kapitel 5) beim Markieren der frisch geschlüpften Bienen keine verringerte Schlupfrate aus den Waben der mit Thiacloprid gefütterten Völker festgestellt. Auch wenn sich in den chronisch mit Thiacloprid eingefütterten Mini-Völkern keine Verringerung der Schlupfrate zeigte, wurde bei RFID-markierten Bienen aus diesen Völkern festgestellt, dass sie beim ersten Orientierungsflug älter waren als die Kontrollbienen. Beeinträchtigende Auswirkungen des Thiacloprids auf die Ausbildung oder das Abrufen des Navigationsgedächtnisses, wie es bereits Menzel et al. (2005) und Fischer et al. (2014) vermuteten, oder auf die Flugleistungsfähigkeit (Derecka et al. 2013), müssen in diesen Untersuchungen ebenso wie in den Versuchen zum Heimkehrvermögen (Kapitel 6) angenommen werden.

Wäre der Einfluss auf das Navigationsvermögen und die Flugleistung allerdings sehr groß, könnte dies zu einem Verlust an Sammlerinnen führen, die nicht in der Lage sind, zum Bienenstock zurückzufinden. Ein solcher Effekt hätte sich möglicherweise bei den lebenslangen Aufzeichnungen der Bienen über RFID insofern äußern können, dass die Bienen bereits nach dem ersten Ausflug nicht mehr registriert wurden oder die Lebensdauer deutlich kürzer wäre als die der Kontrollbienen. Solche Beobachtungen wurden hier jedoch nicht gemacht.

Eine stark verringerte Heimkehrrate nach der Aufnahme subletaler Dosen an Neonikotinoiden könnte dazu führen, dass die Stärke eines Bienenvolkes deutlich reduziert und damit das Risiko des Zusammenbruchs eines Volkes erhöht wird (Bortolotti et al. 2003, Medrzycki et al. 2003, Henry et al. 2012). Aus den Ergebnissen der Populationsschätzungen sowohl an großen Völkern als auch in den Mini-Völkern kann ein solcher Verlust an Flugbienen beziehungsweise eine deutliche Verminderung der Anzahl an Bienen jedoch nicht bestätigt werden.

Trotz der beobachteten Auswirkungen von Thiacloprid in subletalen Mengen auf das Verhalten von Einzelbienen wurde in dieser Arbeit gezeigt, dass durch Thiacloprid als alleinigen Faktor kein Zusammenbruch von Bienenvölkern zu erwarten ist. Da

Bienenvölker jedoch meist multifaktoriellen Belastungen durch Pathogene, Parasiten und Rückstände unterschiedlichster Pestizide in Nektar und Pollen ausgesetzt sind, besteht die Möglichkeit, dass sich die beobachteten Effekte durch Wechselwirkungen potenzieren und als Folge die Entwicklung der Bienenvölker beeinträchtigt wird.

---

## Fazit

Die Anwendung der RFID-Technik bietet die Möglichkeit, die Bewegungen am Stockeingang einer großen Anzahl an Bienen über viele Wochen oder Monate ohne größere oder wiederholte Eingriffe ins Volk aufzuzeichnen. Dennoch kommt diese Methode an ihre Grenzen, da hierdurch keine Einblicke in das Verhalten der Bienen während des Fluges beziehungsweise während ihres Aufenthaltes außerhalb des Bienenstocks gewährt werden. Besonders für die Versuche zum Heimkehrvermögen wären diese Daten wichtig, um genauere Aussagen über die Ursachen für die stark verminderte Heimkehrrate nach der Aufnahme von Thiaclopid treffen zu können. Ebenso könnten Aufzeichnungen der Flugspuren von Bienen aus chronisch eingefütterten Völkern weitere Erkenntnisse über mögliche Auswirkungen auf das Sammelverhalten, die Fluggeschwindigkeit oder die Ausführung der Orientierungsflüge geben. Die ebenfalls aktuell verwendete Technik der Aufzeichnung der Flugspuren mithilfe von harmonischem Radar hingegen erlaubt jedoch nicht die lebenslange Beobachtung einer großen Anzahl an Bienen. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen dennoch in verschiedenen Bereichen zahlreiche neue Erkenntnisse über die Wirkung des Insektizids Thiaclopid. Obwohl die beobachteten Veränderungen des Verhaltens von Honigbienen in den hier vorgestellten Versuchen nicht unmittelbar mit dem Zusammenbrechen von Bienenvölkern in Zusammenhang gebracht werden können, muss eine mögliche ähnliche Wirkung auf beispielsweise Hummeln und Wildbienen bedacht werden. Da diese nur in sehr kleinen Völkern oder solitär leben, könnten sich die verursachten Effekte, die in einem großen Volk von Honigbienen möglicherweise abgeschwächt werden könnten, schneller oder stärker auswirken. Die Gefährdung von Hummeln und Wildbienen durch Neonicotinoide wurden schon in zahlreichen Arbeiten beobachtet (Whitehorn 2012, Gill 2012, Feltham 2014, Scholer und Krischik 2014, Rundlöf 2015) was deutlich zeigt, dass weitere Untersuchungen zu Auswirkungen von Neonicotinoiden besonders auf solitär lebende Nutzinsekten dringend notwendig sind.

---

## Literatur

- Alaux C, Brunet JL, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M, Brillard J, Baldy A, Belzunces LP and Le Conte Y (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
- Amdam GV, Aase AL, Seehuus SC, Fondrk MK, Norberg K, Hartfelder K (2005): Social reversal of immunosenescence in honey bee workers. *Experimental Gerontology*, 40:939–947
- Aufauvre J, Biron D, Vidau C, Fontbonne R, Roudel M, Diogon M, Viguès B, Belzunces L, Delbac F and Blot N (2012): Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. *Scientific Reports* 2, 326
- Balderrama NM, Almeida LO and Núñez JA (1992): Metabolic rate during foraging in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology B* 162, 440–447
- Bass C, Zimmer CT, Riveron JM, Wilding CS, Wondji CS, Kausmann M, Field LM, Williamson MS and Nauen R (2013): Gene amplification and microsatellite polymorphism underlie a recent insect host shift. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, pp. 19460–19465
- Becker L (1958): Untersuchungen über das Heimfindevermögen der Bienen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, Bd. 41, S. 1-25
- Blacquièrè T, Smagghe G, van Gestel C and Mommaerts V (2012): Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology (London, England)* vol: 21 (4) pp: 973-92
- Bortolotti L, Montanari R, Marcelino J, Medrzycki P, Maini S, Porrini C (2003): Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. *Bulletin of Insectology* 56: 63-67
- Bowen-Walker PL, Martin SJ and Gunn A (1999): The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the Ectoparasitic Mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology* 73, 101–106
- Bozic J and Valentincic T (1995): Quantitative analysis of social grooming behavior of the honey bee *Apis mellifera* carnica. *Apidologie* 26, 141-147
- Breed MD (1983): Nestmate recognition in honey bees. *Animal Behaviour* vol: 31 pp: 86-91
- Brodschneider R and Crailsheim K (2010): Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41: 278–294 DOI: 10.1051

- 
- Brown LA, Ihara M, Buckingham SD, Matsuda K, Sattelle DB (2006): Neonicotinoid insecticides display partial and super agonist actions on native insect nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Neurochemistry* 99: 608-615
- Capaldi E and Dyer F (1999): The role of orientation flights on homing performance in honeybees. *Journal of Experimental Biology* Vol: 202 (Pt 12) pp: 1655-1666
- Capaldi EA, Smith AD, Osborne JL, Fahrbach SE, Farris SM, Reynolds DR, Edwards AS, Martin A, Robinson GE, Poppy GM and Riley JR (2000): Ontogeny of orientation flight in the honeybee revealed by harmonic radar. *Nature* Vol: 403 (6769) pp: 537-540
- Chang LH, Barron AB and Cheng K (2015): Effects of the juvenile hormone analogue methoprene on rate of behavioural development, foraging performance and navigation in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Experimental Biology* 218, 1715-1724 doi:10.1242/jeb.119198
- Collett M, Harland D and Collett TS (2002): The use of landmarks and panoramic context in the performance of local vectors by navigating honeybees. *Journal of Experimental Biology* 205 (Pt 6): 807-814
- Crane, E (1975): *Honey: A Comprehensive Survey*. Morrison and Gibb Ltd., London
- Cresswell JE, Page CJ, Uygun MB, Holmbergh M, Li Y, Wheeler JG, Laycock I, Pook CJ, Hempel de Ibarra N, Smirnoff N, Tyler CR (2012): Differential sensitivity of honey bees and bumble bees to a dietary insecticide (imidacloprid). *Zoology* 115: 365-371
- DeBiMo Schlussbericht (2011-2013) Rosenkranz P, von der Ohe W, Moritz RFA, Genersch E, Büchler R, Berg S und Otten C. Eingereicht bei der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE).
- Decourtye A, Lefort S, Devillers J, Gauthier M, Aupinel P and Tisseur M (2009): Sublethal effects of fipronil on the ability of honeybees (*Apis mellifera* L.) to orientate in a complex maze. *Hazards of pesticides to bees – 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group, Julius-Kühn-Archiv* 423
- Decourtye A, Devillers J, Aupinel P, Brun F, Bagnis C, Fourrier J and Gauthier M (2011): Honeybee tracking with microchips: a new methodology to measure the effects of pesticides. *Ecotoxicology (London, England)* vol: 20 (2) pp: 429-3
- Derecka K, Blythe MJ, Malla S, Genereux DP, Guffanti A, Pavan P, Moles A, Snart C, Ryder T, Ortori CA, Barrett DA, Schuster E and Stöger R (2013): Transient exposure to low levels of insecticide affects metabolic networks of honey bee larvae. *PLoS ONE* 8(7): e68191. doi:10.1371/journal.pone.0068191

- 
- Dong S, Qiao K, Wang H, Zhu Y, Xia X and Wang K (2014): Dissipation rate of Thiacloprid and its control effect against *Bemisia tabaci* in greenhouse tomato after soil application. *Pest Management Science* 70: 1267–1273
- Durchführungsverordnung (EU): Nr. 485/2013 der Kommission vom 24. Mai 2013 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 540/2011 hinsichtlich der Bedingungen für die Genehmigung der Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid sowie des Verbots der Anwendung und des Verkaufs von Saatgut, das mit diese Wirkstoffe enthaltenden Pflanzenschutzmitteln behandelt wurde. *Amtsblatt der Europäischen Union*, L139/12
- Dyer FC and Gould JL (1983): Honey bee navigation. *American Scientist* 71:587-597
- Emsen B, Hamiduzzaman M, Goodwin PH and Guzman-Novoa E (2015): Lower virus infections in *Varroa destructor*-infested and uninfested brood and adult honey bees (*Apis mellifera*) of a low mite population growth colony compared to a high mite population growth colony. *PLoS ONE* 10(2): e0118885  
doi: 10.1371/journal.pone.0118885
- EPPO (2010): Efficacy evaluation of plant protection products. Side-effects on honeybees. *EPPO Bulletin* 40, 313–319
- European Food Safety Authority (2012): Statement on the findings in recent studies investigating sub-lethal effects in bees of some neonicotinoids in consideration of the uses currently authorised in Europe. *EFSA Journal*; 10(6):2752, 27 pp.  
doi: 10.2903/j.efsa.2012.2752
- Farrar CL (1937): The influence of colony populations on honey production. *Journal of Agricultural Research* 54 (12), 945-953
- Feltham H, Park K and Goulson D (2014): Field realistic doses of pesticide imidacloprid reduce bumblebee pollen foraging efficiency. *Ecotoxicology* 23: 317–323  
DOI:10.1007/s10646-014-1189-7
- Fischer J, Müller T, Spatz A-K, Greggers U, Grünewald B and Menzel R (2014): Neonicotinoids Interfere with Specific Components of Navigation in Honeybees. *PLoS ONE* 9(3): e91364. doi:10.1371/journal.pone.0091364
- Free JB (1960b): The pollination of fruit trees. *Bee World* 41:141-151, 169-186 (zitiert nach Winston 1987)
- Free JB (1963): The flower constancy of honeybees. *The Journal of Animal Ecology* 32 (1): 119–131
- Free JB and Winder ME (1983): Brood recognition by honeybee (*Apis mellifera*) workers. *Animal Behaviour* 31:539-545

- 
- von Frisch K (1949): Die Polarisation des Himmelslichtes als orientierender Faktor bei den Tänzen der Bienen. *Experientia* 5: 142-148
- von Frisch K (1965): *Tanzsprache und Orientierung der Bienen*. Springer-Verlag, Heidelberg
- von Frisch K (1977): *Aus dem Leben der Bienen*. 9. Auflage, Springer-Verlag, Berlin
- Fukuda H and Sakagami SF (1968): Worker brood survival in honeybees. *Researches on Population Ecology* 10: 31-39.
- Genersch E, von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Büchler R, Berg S, Ritter W; Mühlen W, Gider S, Meixner M, Liebig G and Rosenkranz P (2010): The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* 41(3): 332–352
- Gerig L (1983): Lehrgang zur Erfassung der Volksstärke. *Schweizerische Bienen-Zeitung*, 106, (4), 199-204.
- Gill RJ, Ramos-Rodriguez O and Raine NE (2012): Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature*, 491 (7422), 105–108
- Gill RJ and Raine NE (2014): Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure. *Functional Ecology*, 28, 1459–1471 doi: 10.1111/1365-2435.12292
- Gould JL (1987): Landmark learning by honey bees. *Animal Behaviour* 35, 26-34
- Guzman-Novoa E, Page RE Jr. and Gary NE (1994): Behavioral and life-history components of division of labor in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34:409–417
- Haydak MH (1929): Some new observations of the bee life. *Cesky Vcelar* 63, 229-231 (zitiert nach: Bozic und Valentincic 1995)
- Haydak MH (1970): Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology* 15:143-156
- Hayashiya K, Kato M and Hamamura Y (1965): Acetylcholine as a Growth Factor in Early Larval Development of the Silkworm. *Nature* 205, 620-621; doi: 10.1038/205620a
- Henry M, Béguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S and Decourtye A (2012): A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336: 348-350
- Henry M, Bertrand C, Le Féon V, Requier F, Odoux J, Aupinel P, Bretagnolle V and Decourtye A (2014): Pesticide risk assessment in free-ranging bees is weather and landscape dependent. *Nature Communications* Vol. 5, doi: 10.1038/ncomms5359

- 
- Illies I, Mühlen W, Dücker G and Sachser N (2002): The influence of different bee traps on undertaking behaviour of the honey bee (*Apis mellifera*) and development of a new trap. *Apidologie* 33 (2002) 315–326
- Imdorf A, Buehlmann G, Gerig L, Kilchenmann V, und Wille H (1987): Überprüfung der Schätzmethode zur Ermittlung der Brutfläche und der Anzahl an Arbeiterinnen in freifliegenden Bienenvölkern. *Apidologie*, Springer Verlag (Germany), 18 (2), pp.137-146
- Iwasa T, Motoyama N, Ambrose J and Roe R (2004): Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* vol: 23 pp: 371-378
- Jay SC (1963): The development of honeybees in their cells. *Journal of Apicultural Research* 2: 117-134
- Jeffree EP (1951): A photographic presentation of estimated numbers of honeybees on combs in 14 x 8 ½ inch frames. *Bee World*, 32, (12), 89-91.
- Jeschke P, Moriya K, Lantsch R, Seifert H, Lindner W, Jelich K, Göhr A, Beck ME and Etzel W (2001): Thiacloprid ( Bay YRC 2894 ) – A new member of the chloro-nicotinyl insecticide ( CNI ) family. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer*, 54(2): 147–160
- Jeschke P and Nauen R (2008): Neonicotinoids – from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science* 64:1084–1098
- Johnson RM, Mao W, Pollock HS, Niu G, Schuler MA and Berenbaum MA (2012): Ecologically appropriate xenobiotics induce Cytochrome P450s in *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 7(2): e31051. doi:10.1371/journal.pone.0031051
- Kliot A and Ghanim M (2012): Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Management Science* 68, 1431–1437
- Kramer E (1976): The orientation of walking honeybees in odour fields with smell concentration gradients. *Physiological Entomology* 1:27-37
- Kunert K and Crailsheim K (1987): Sugar and protein in the food for honeybee worker larvae. In: J. Eder and H. Rembold (Eds.), *Chemistry and biology of social insects* pp. 164-165, München: Verlag J. Peperny
- Laurino D, Porporato M, Patetta A, Manino A (2011): Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. *Bulletin of Insectology*, 64(1): 107–113
- Lindauer M (1952): Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstaat. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 34: 299–345
- Malun D (1998): Early development of mushroom bodies in the brain of the honeybee *apis mellifera* as revealed by BrdU incorporation and ablation experiments. *Learning and Memory* 5: 90-101

- 
- Matsuda K, Buckingham SD, Kleiner D, Rauh JJ, Grauso M and Sattelle DB (2001): Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 22: 573-580
- Matsumoto T (2013): Reduction in homing flights in the honey bee *Apis mellifera* after a sublethal dose of neonicotinoid insecticides. *Bulletin of Insectology* 66 (1): 1-9, ISSN 1721-8861
- Mattila HR, Harris JL and Otis GW (2001): Timing of production of winter bees in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Insectes Sociaux* 48: 88–93
- Maurizio A (1950): The influence of pollen feeding and brood rearing on the length of life and physiological condition of the honeybee. *Bee World* 31:9-12
- Medrzycki P, Montanari R, Bortolotti L, Sabatini AG, Maini S and Porrini C (2003): Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. *Bulletin of Insectology* 56: 59-62
- Menzel R, Greggers U, Smith A, Berger S, Brandt R, et al. (2005) Honey bees navigate according to a map-like spatial memory. *Proceedings of the National Academy of Science* 102: 3040–3045. doi: 10.1073/pnas.0408550102
- Milum VG (1947): Grooming dance and associated activities of the honey bee. *Illinois Academy of Science Transactions* 40, 194-196
- Molet M, Chittka L, Stelzer RJ, Streit S and Raine NE (2008): Colony nutritional status modulates worker responses to foraging recruitment pheromone in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Behav Ecol Sociobiol* (2008) 62:1919–1926 DOI 10.1007/s00265-008-0623-3
- Moosbeckhofer R (1992): Observations on the occurrence of damaged Varroa mites in natural mite fall of *Apis mellifera* carnica colonies. *Apidologie* 23, 523-531
- Morse RA (1972): Environmental control of the bee-hive. *Scientific American* 226, 93–98
- Núñez JA (1966): Quantitative Beziehungen zwischen den Eigenschaften von Futterquellen und dem Verhalten von Sammelbienen. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 53, 142-164
- Núñez JA (1982): Honeybee foraging strategies at a food source in relation to its distance from the hive and the rate of sugarflow. *Journal of Apicultural Research* 21: 139-150
- OECD (1998): Honeybees, acute oral toxicity test. OECD guidelines for the testing of chemicals 213, 1-8
- OECD (1998): Honeybees, acute contact toxicity test. OECD guidelines for the testing of chemicals 214, 1-7

- 
- OECD (2007): Guidance document on the honey bee (*Apis mellifera* L.) brood test under semi-field conditions. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 75
- OECD (2013): Honey bee (*Apis mellifera*) larval toxicity test, single exposure. OECD guidelines for the testing of chemicals 237 1-10
- von der Ohe W und Martens D (2011): Das Deutsche Bienenmonitoring: Pflanzenschutzmittel-Rückstände im Bienenbrot. ADIZ/db/IF 10/2011; S. 8-9
- Omholt SW and Amdam GV (2004): Epigenetic regulation of aging in honeybee workers. *Science Aging Knowledge Environ*, 26:pe28
- Page RE and Robinson GE (1991): The genetics of division of labour in honey bee colonies. *Advances in Insect Physiology* 23:117–171
- Palikij J, Ebert E, Preston M, McBride A and Jander R (2012): Evidence for the honeybee's place knowledge in the vicinity of the hive. *Journal of Insect Physiology* 58, 1289-1298
- Papadopoulos A, Polemitou I, Laifi P, Yiangou A and Tananaki C (2004): Glutathione S-transferase in the insect *Apis mellifera macedonica*: Kinetic characteristics and effect of stress on the expression of GST isoenzymes in the adult worker bee. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 139 (2004) 93–97
- Parker RL (1926): The collection and utilization of pollen by the honeybee. *Memoir - Cornell University Agricultural Experiment Station* 98: 1-55 (zitiert nach Winston 1987)
- Perrya CJ, Søvika E, Myerscoughd MR and Barrona AB (2015): Rapid behavioral maturation accelerates failure of stressed honey bee colonies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 112, no. 11, p. 3427–3432
- Pettis JS, vanEngelsdorp D, Johnson J and Dively G (2012): Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Die Naturwissenschaften*, 99:153–158
- Pirk C, Neumann P and Hepburn R (2007): Nestmate recognition for eggs in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology* vol: 61 pp: 1685-1693
- Pohorecka K, Skubida P, Miszczak A, Semkiw P, Sikorski P, Zagibajło K, Teper D, Kołtowski Z, Skubida M, Zdańska D and Bober A (2012): Residues of neonicotinoid insecticides in bee collected plant materials from oilseed rape crops and their effect on bee colonies. *Journal of Apicultural Science* vol: 56 (2) pp: 115-134
- Robinson GE, Page RE, Strambi C, and Strambi A (1989): Hormonal and genetic control of behavioral integration in honey bee colonies. *Science (Washington, D.C.)* 246:109-112

- 
- Robinson GE (1992): The regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review of Entomology* 37:637–665
- Rortais A, Arnold G, Halm M and Touffet-Briens F (2005): Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie* vol: 36 pp: 71-83
- Rothenbuhler WC (1964): Behavior Genetics of Nest Cleaning in Honey Bees. IV. Responses of F1 and Backcross Generations to Disease-Killed Brood. *American Zoologist*, Vol. 4, No. 2 pp. 111-123
- Rueppell O, Bachelier C, Fondrk MK and Page Jr. ER (2007): Regulation of life history determines lifespan of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Experimental Gerontology* Volume 42, Issue 10, P. 1020–1032
- Rundlöf M, Andersson GKS, Bommarco R, Fries I, Hederström V, Herbertsson L, Jonsson O, Klatt BK, Pedersen TR, Yourstone J and Smith HG (2015): Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* 521, 77-80; doi: 10.1038/nature14420
- Ruttner F and Hänel H (1992): Active defense against *Varroa* mites in a Carniolan strain of honeybee (*Apis mellifera* carnica Pollmann). *Apidologie* 23, 173-187
- Sandrock C, Tanadini LG, Pettis JS, Biesmeijer CB, Potts SG and Neumann P (2014): Sublethal neonicotinoid insecticide exposure reduces solitary bee reproductive success. *Agricultural and Forest Entomology* 16, 119–128
- Sandrock C, Tanadini M, Tanadini LG, Fauser-Misslin A, Potts SG and Neumann P (2014): Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. *PLoS ONE* 9(8): e103592. doi:10.1371/journal.pone.0103592
- Saour G (2008): Effect of thiacloprid against the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Pest Science*, 81(1):3-8
- Schmickl T and Crailsheim K (2002): How honeybees (*Apis mellifera* L.) change their broodcare behaviour in response to non-foraging conditions and poor pollen conditions. *Behavioral Ecology and Sociobiology* vol: 51 pp: 415-425
- Schmuck R (2001): Ecotoxicological profile of the insecticide thiacloprid. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer*, 54(2): 161–184.
- Schneider CW (2011): Detecting the influence of different potential stress factors on the behavior of the honeybee *Apis mellifera* using Radiofrequency Identification (RFID). Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Deutschland
- Schneider CW, Tautz J, Grünewald B, Fuchs S (2012): RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera*. *PLoS One* 7:e30023

- 
- Scholer J and Krischik V (2014): Chronic exposure of Imidacloprid and Clothianidin reduce queen survival, foraging, and nectar storing in colonies of *Bombus impatiens*. PLoS ONE 9(3): e91573. doi:10.1371/journal.pone.0091573
- Schroeder A (2014): Das Deutsche Bienenmonitoring - "DeBiMo". Bienenpflege 12/2014; S. 492-494
- Seeley TD (1983): Division of labor between scouts and recruits in honeybee foraging. Behavioral Ecology and Sociobiology 12: 253-259
- Shapira M, Thompson CK, Soreq H and Robinson GE (2001): Changes in neuronal acetylcholinesterase gene expression and division of labor in honey bee colonies. Journal of Molecular Neuroscience, Vol. 17
- Snyder MJ, Stevens JL, Andersen JF and Feyereisen R (1995): Expression of cytochrome genes of the CYP4 family in midgut and fat body of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. Archives of Biochemistry and Biophysics 321, 13–20
- Srinivasan MV, Zhang SW, Lehrer M and Collett TS (1996): Honeybee navigation en route to the goal: visual flight control and odometry. Journal of Experimental Biology 199 (1): 237-244
- Staveley JP, Law SA, Fairbrother A and Menzie CA (2014): A causal analysis of observed declines in managed honey bees (*Apis mellifera*). Human and ecological risk assessment 20:2, 566-591, DOI: 10.1080/10807039.2013.8312
- Streit S, Bock F, Pirk CW, Tautz J (2003): Automatic life-long monitoring of individual insect behaviour now possible. Zoology 106: 169-171 doi: 10.1078/0944-2006-00113
- Suchail S, Debrauwer L and Belzunces LP (2003): Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. Pest Management Science 60: 291 – 296 DOI:10.1002/ps.772
- Suzuki K, Yoshihama T and Shigematsu Y (1974): Sweeping behaviours of honey bees at the hive entrance. Bulletin of the Faculty of Education Chiba University 23,273-281
- Tenczar P, Lutz CC, Rao VD, Goldenfeld N and Robinson GE (2014): Automated monitoring reveals extreme interindividual variation and plasticity in honeybee foraging activity levels. Animal Behaviour 95, 41-48
- Thompson HM (2010): Risk assessment for honey bees and pesticides – recent developments and “new issues”. Pest Management Science, 66: 1157–1162
- Tomizawa M and Casida JE (2005): Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 45, 247–268

- 
- vanEngelsdorp D, Cox Foster D, Frazier M, Ostiguy N and Hayes J (2007): "Fall-dwindle Disease": Investigations into the causes of sudden and alarming colony losses experienced by Beekeepers in the Fall of 2006. Preliminary Report: First Revision, p.22, Pennsylvania Department of Agriculture, Harrisburg, PA, USA
- vanEngelsdorp D and Meixner MD (2010): A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103:80–95
- Vidau C, Diogon M, Aufauvre J, Fontbonne R, Vigue `s B, et al. (2011): Exposure to sublethal doses of Fipronil and Thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by nosema ceranae. *PLoS ONE* 6(6): e21550. doi:10.1371/journal.pone.0021550
- Visscher PK and Seeley TD (1982): Foraging strategy of honeybee colonies in a temperate deciduous forest. *Ecology* 63 (6): 1790-1801 doi: 10.2307/1940121
- Visscher PK (1986): Kinship discrimination in queen rearing by honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 1986 vol: 18 pp: 453-460
- Vollbehre J (1975): Zur Orientierung junger Honigbienen bei ihrem ersten Orientierungsflug. *Zoologische Jahrbücher; Abteilung für allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere* 79: 33-69
- Wang C, Chu Q, Chen C and Boc Z (2011): Investigation of the mechanism of binding of Thiacloprid to human serum albumin using spectroscopic techniques and molecular modeling methods. *Spectroscopy* 25 113–122, DOI10.3233/SPE-2011-0498
- Wessler I, Kilbinger H, Bittinger F and Kirkpatrick CJ (2001): The biological role of non-neuronal acetylcholine in plants and humans. *Japanese Journal of Pharmacology* 85, 2-10
- Wessler I, Gärtner HA, Michel-Schmidt R, Brochhausen C, Schmitz L, Ansbach L, Grünewald B and Kirkpatrick CJ (2016): Honeybees produce millimolar concentrations of non-neuronal acetylcholine for breeding: possible adverse effects of neonicotinoids. Eingereicht zur Publikation (Science)
- Whitehorn PR, O'Connor S, Wackers FL and Goulson D (2012): Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 336: 351-352
- Wille H und Gerig L (1976): Massenwechsel des Bienenvolkes. IV. Zusammenspiel der Eilegetätigkeit der Königin, der Bienenschlüpfrate und der Lebensdauer der Arbeiterinnen. *Schweizerische Bienen-Zeitung* 99, (1),16-25, (3),125-140, (5),245-257

- 
- Williamson SM and Wright GA (2013): Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. *Journal of Experimental Biology* 216, 1799-1807 doi:10.1242/jeb.083931
- Winston ML (1987): *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press
- Wise JC, Jenkins PE, Vander Poppen R and Isaacs R (2010): Activity of broad-spectrum and reduced-risk insecticides on various life stages of Cranberry Fruitworm (Lepidoptera: Pyralidae) in Highbush Blueberry. *Journal of Economic Entomology* 103(5): 1720-1728 DOI: 10.1603/EC10079
- Wu JY, Anelli CM, Sheppard WS (2011): Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLoS ONE* 6(2): e14720. doi:10.1371/journal.pone.0014720
- Yang E-C, Chuang Y, Chen Y-W and Chang L (2008): Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* vol: 101 (6) pp: 1743-1748
- Yang E-C, Chang H-C, Wu W-Y and Chen Y-W (2012): Impaired olfactory associative behavior of honeybee workers due to contamination of Imidacloprid in the larval stage. *PLoS ONE* 7(11): e49472. doi:10.1371/journal.pone.004947

---

Internet:

Bayer Agrar Deutschland:

<https://agrar.bayer.de/Produkte/Pflanzenschutzmittel/Produktgruppen/Insektizide.aspx>  
(abgerufen am 06.06.2015)

Imkereibedarf Heinrich Holtermann KG: <http://www.holtermann-shop.de>  
(abgerufen am 14.09.2015)

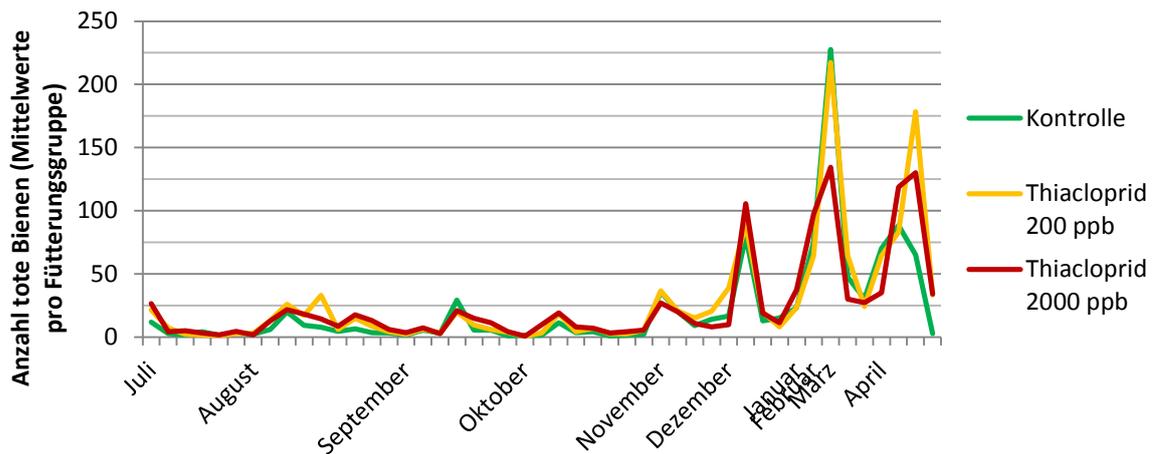
Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit:

[http://www.bvl.bund.de/DE/04\\_Pflanzenschutzmittel/01\\_Aufgaben/09\\_GesundheitNaturhaushalt/02\\_SchutzNaturhaushalt/02\\_Bienenschutz/Bienenschutz\\_node.html](http://www.bvl.bund.de/DE/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/09_GesundheitNaturhaushalt/02_SchutzNaturhaushalt/02_Bienenschutz/Bienenschutz_node.html) (abgerufen am 07.07.2015)

## Anhang

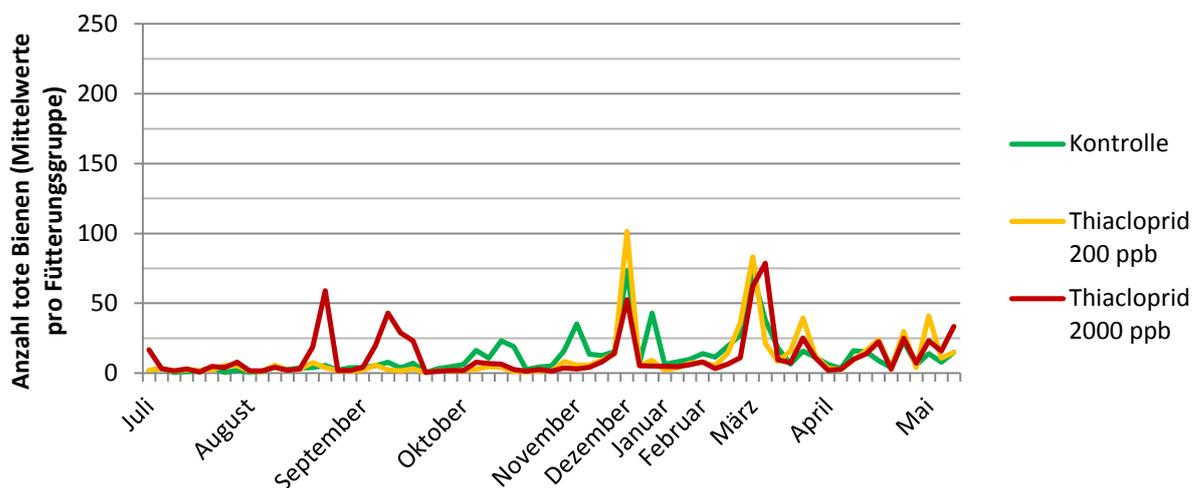
**Tabelle 18: Standardabweichungen zu den Mittleren Gewichten pro Gruppe und Messtermin (Abbildung 5).**

	Herbst				Frühjahr			
	1. Termin	2. Termin	3. Termin	4. Termin	5. Termin	6. Termin	7. Termin	8. Termin
<b>2011-2012</b>								
Kontrolle	0,86	1,59	1,57	1,02	1,03	1,00	2,87	5,99
Thiaclopid 200 ppb	0,62	1,24	2,63	2,42	1,77	3,67	6,91	16,91
Thiaclopid 2000 ppb	0,89	0,97	0,65	0,97	1,46	1,33	6,82	10,19
<b>2012-2013</b>								
Kontrolle	1,66	1,64	1,98	1,74	2,31	2,13	1,71	7,77
Thiaclopid 200 ppb	2,02	2,52	3,23	2,75	1,83	1,88	2,24	7,41
Thiaclopid 2000 ppb	1,76	1,84	1,93	1,62	1,23	1,12	1,22	6,25
<b>2013-2014</b>								
Kontrolle	4,34	6,07	10,53	6,55	4,09	15,68	20,88	21,31
Thiaclopid 200 ppb	1,48	1,46	1,29	1,40	1,90	1,66	6,80	7,69
Thiaclopid 2000 ppb	1,28	1,15	1,10	1,20	3,74	12,86	7,23	8,45



**Abbildung 34: Regelmäßige Zählung der toten Bienen im zweiten Versuchsjahr (2012-2013).**

Die Zählung der toten Bienen ist pro Fütterungsgruppe und Zählung (Mittelwerte) dargestellt. Außer einigen wenigen Ausnahmen zeigen die Kurven für die drei Fütterungsgruppen einen ähnlichen Verlauf. Standardabweichungen: siehe Tabelle 20)



**Abbildung 35: Regelmäßige Zählung der toten Bienen im dritten Versuchsjahr (2013-2014).**

Die Zählung der toten Bienen ist pro Fütterungsgruppe und Zählung (Mittelwerte) dargestellt. Außer einigen wenigen Ausnahmen zeigen die Kurven für die drei Fütterungsgruppen einen ähnlichen Verlauf. Standardabweichungen: siehe Tabelle 21)

**Tabelle 19: Standardabweichungen für den Verlauf der gezählten toten Bienen im ersten Versuchsdurchlauf (2011-2012) (Abbildung 7).**

2011-2012		
Kontrolle	Thiacloprid 200 ppb	Thiacloprid 2000 ppb
1,3	3,3	4,0
3,4	6,9	34,6
2,8	1,6	3,0
2,8	2,5	2,7
4,0	4,0	2,5

4,0	7,9	2,3
8,4	1,6	2,5
1,8	2,0	1,8
19,0	39,0	7,8
17,8	5,2	4,6
6,7	7,8	3,7
6,0	6,5	4,2
2,7	3,5	2,4
3,9	14,0	9,5
2,4	5,8	2,5
13,1	19,8	8,1
10,2	8,2	8,6
28,1	32,0	20,4
12,6	7,0	18,8
23,5	2,8	3,6
5,2	9,8	26,2
3,8	10,7	12,5
9,9	14,1	15,6
63,1	17,6	22,8
5,4	18,3	8,6
3,1	27,9	3,0
15,1	15,5	13,1
5,7	29,4	13,9
11,3	26,6	4,9
20,4	31,6	12,5
13,2	22,8	9,3
13,8	39,2	14,5
24,3	56,7	10,0
11,4	35,1	12,4
4,3	9,2	3,0
13,4	6,9	2,6
6,3	10,0	4,7
11,5	17,5	9,1
26,8	32,9	20,9
71,0	68,4	39,8
17,5	14,8	10,7
6,0	6,2	6,1
8,5	5,8	19,1
14,9	5,1	7,4
3,5	1,8	1,8
30,8	16,9	12,9
132,1	84,1	24,7
65,4	45,6	15,5
32,2	15,3	35,9
20,5	10,1	7,5
3,4	5,0	4,7

23,3	16,1	24,9
16,0	20,6	34,9
12,4	11,9	11,4
11,7	18,3	13,7
13,5	14,5	21,1
6,5	14,5	9,7
37,9	11,5	60,3
7,6	8,4	7,0
9,6	26,5	24,9
6,6	7,9	3,5
16,0	32,2	49,5
18,9	27,1	25,4
13,8	56,2	15,7

**Tabelle 20: Standardabweichungen für den Verlauf der gezählten toten Bienen im zweiten Versuchsdurchlauf (2012-2013) (Abbildung 34).**

2012-2013		
Kontrolle	Thiacloprd 200 pbb	Thiaclopid 2000 pbb
15,5	16,2	25,2
4,1	15,2	5,1
1,9	1,8	5,6
9,5	2,9	3,0
1,7	1,6	3,4
2,7	1,8	3,5
2,1	2,7	1,8
6,5	7,8	9,2
20,3	14,9	9,9
17,7	27,8	16,7
5,5	30,6	13,8
5,2	5,5	4,2
6,9	11,8	8,6
3,0	10,4	13,9
2,8	2,3	4,4
2,3	1,8	3,0
4,2	4,3	5,8
4,0	2,0	2,2
40,5	22,0	8,9
4,0	8,5	12,7
7,6	6,6	9,3
1,2	8,3	4,1
8,1	7,5	13,8
1,3	0,7	0,8
1,6	1,7	19,2
12,2	14,9	13,7
3,7	2,7	9,0
5,2	7,2	12,1

1,6	4,1	3,0
1,4	1,5	6,4
2,4	5,8	6,2
45,1	29,3	13,4
21,3	31,7	16,2
10,1	27,9	10,4
13,9	44,6	3,8
24,5	42,3	6,0
18,1	66,0	10,7
69,7	83,7	38,2
8,4	15,9	9,4
22,1	4,9	10,6
18,5	14,2	20,3
108,9	52,9	55,0
112,7	98,2	64,3
46,5	32,1	20,9
32,1	16,5	10,8
59,5	22,8	11,9
58,3	25,1	50,8
107,6	108,8	83,4
3,1	80,2	59,2
3,2	32,7	14,1
2,1	3,6	14,9
21,5	18,7	15,9
15,9	20,1	22,8
6,3	13,2	11,1
4,5	3,6	2,1
4,8	10,9	6,6
10,4	23,7	10,1
2,8	3,8	3,9

**Tabelle 21: Standardabweichungen für den Verlauf der gezählten toten Bienen im dritten Versuchsdurchlauf (2013-2014) (Abbildung 35).**

2013-2014		
Kontrolle	Thiaclopid 200 pbb	Thiaclopid 2000 pbb
1,9	1,9	19,7
2,3	2,0	2,9
1,1	1,8	1,6
1,1	2,0	2,8
2,0	1,6	1,1
2,5	1,9	3,2
1,3	4,5	11,0
2,1	8,9	7,4
1,5	2,3	2,8

1,2	1,7	2,1
3,8	3,2	2,3
2,8	1,1	2,7
2,9	2,3	2,6
3,2	10,4	27,0
4,6	3,3	36,3
2,0	2,1	1,5
4,7	1,8	1,8
5,9	2,3	2,6
6,2	4,2	13,0
7,1	1,7	20,9
4,2	1,0	28,4
7,5	2,6	32,6
0,7	0,8	1,3
3,7	1,6	1,2
4,2	1,0	2,5
6,5	1,8	3,8
33,4	2,4	6,5
10,7	2,2	7,7
26,7	4,1	5,1
26,0	1,2	3,0
4,8	0,9	1,7
4,3	1,5	2,5
6,5	1,4	1,4
12,8	4,3	1,9
51,0	4,4	1,1
11,1	3,8	1,8
5,5	7,8	5,9
7,5	4,6	8,5
33,7	188,7	9,7
2,4	3,1	2,5
65,7	6,6	4,4
4,8	1,5	4,8
5,6	2,3	5,0
6,8	5,1	4,0
7,1	4,0	3,9
6,6	2,7	2,8
7,2	9,3	4,3
12,4	12,8	7,9
25,6	34,8	36,0
25,4	10,2	47,6
20,0	3,6	5,0
4,2	33,6	5,5
12,7	20,6	32,5
9,4	6,4	7,4
6,9	3,0	2,5

3,4	2,1	2,0
5,7	6,5	3,9
9,5	8,9	6,3
7,3	23,9	18,1
5,0	2,9	1,7
7,3	10,0	13,2
2,7	2,4	2,6
6,8	17,8	12,0
2,8	4,6	13,1
11,9	9,2	53,0

**Tabelle 22: Statistik zum Befall der Völker durch die Milbe *Varroa destructor*.**

In keinem der drei Versuchsdurchläufe wurden signifikante Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen festgestellt (Mann-Whitney-U).

		1. Jahr	2. Jahr	3. Jahr
K	T 200	0,529	0,853	0,436
K	T 2000	0,972	0,393	0,971
T 200	T 2000	0,579	0,156	0,353

**Tabelle 23: Signifikanzwerte zum Alter der Bienen beim ersten Ausflug im ersten Versuchsdurchlauf (2012).**

Bienengruppen aus allen Völkern wurden gegeneinander getestet (Mann-Whitney-U).

K = Kontrolle, T = Thiacloprid, A = Adoptivvolk

Gruppen		p-Wert
K1	K2	0,033
K1	T1	0,000
K1	T2	0,000
K1	A-K1	0,000
K1	A-T1	0,753
K1	A-T2	0,306
K2	T1	0,000
K2	T2	0,000
K2	A-K1	0,005
K2	A-T1	0,008
K2	A-T2	0,460
T1	T2	0,968
T1	A-K1	0,000
T1	A-T1	0,000
T1	A-T2	0,000
T2	A-K1	0,000
T2	A-T1	0,000
T2	A-T2	0,000
A-K1	A-T1	0,000
A-K1	A-T2	0,004
A-T1	A-T2	0,242

**Tabelle 24: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen im ersten Versuchsjahr (2012).**

Bienengruppen aus allen Völkern wurden gegeneinander getestet (Mann-Whitney-U).

K = Kontrolle, T = Thiacloprid, A = Adoptivvolk

Gruppen		p-Wert
K1	K2	0,643
K1	T1	0,001
K1	T2	0,030
K1	A-K1	0,325
K1	A-T1	0,005
K1	A-T2	0,002
K2	T1	0,000
K2	T2	0,014
K2	A-K1	0,306
K2	A-T1	0,012
K2	A-T2	0,001
T1	T2	0,151

T1	A-K1	0,138
T1	A-T1	0,443
T1	A-T2	0,534
T2	A-K1	0,584
T2	A-T1	0,118
T2	A-T2	0,088
A-K1	A-T1	0,216
A-K1	A-T2	0,125
A-T1	A-T2	0,832

**Tabelle 25: Signifikanzwerte zum Alter beim ersten Ausflug im zweiten Versuchsjahr (2013).**

(Test: Mann-Whitney-U)

		<b>p-Werte</b>
Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 1	Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 2	<b>0,001</b>
Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 1	Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 2	<b>0,057</b>
Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 1	Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 1	<b>0,016</b>
Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 2	Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 2	<b>0,052</b>

**Tabelle 26: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen im zweiten Versuchsjahr (2013).**

(Test: Mann-Whitney-U)

		<b>p-Werte</b>
Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 1	Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 2	<b>0,121</b>
Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 1	Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 2	<b>0,664</b>
Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 1	Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 1	<b>0,002</b>
Kontroll-Eier + Thiaclopridfutter Volk 2	Thiacloprid-Eier + Kontrollfutter Volk 2	<b>0,127</b>

**Tabelle 28: Signifikanzwerte zum Alter der Bienen beim ersten Ausflug aus dem Adoptivvolk A1 in 2014.**

Bienengruppen aus allen Völkern (K = Kontrolle, T = Thiaclopid, A = Adoptivvolk) wurden gegeneinander getestet (Mann-Whitney-U).

	K	T 5000 ppb	T 8800 ppb	T in Kontrollvolk	A
K		0,236	0,731	0,629	0,205
T 5000 ppb	0,236		0,103	0,619	0,691
T 8800 ppb	0,731	0,103		0,263	0,128
T in Kontrollvolk	0,629	0,619	0,263		0,349
A	0,205	0,691	0,128	0,349	

**Tabelle 29: Signifikanzwerte zum Alter der Bienen beim ersten Ausflug aus dem Adoptivvolk A2 in 2014.**

Bienengruppen aus allen Völkern (K = Kontrolle, T = Thiaclopid, A = Adoptivvolk) wurden gegeneinander getestet (Mann-Whitney-U).

	K	T 5000 ppb	T 8800 ppb	T in Kontrollvolk	A
K		0	0,000	0,067	0,002
T 5000 ppb	0		0,192	0,437	0,918
T 8800 ppb	0,000	0,192		0,247	0,250
T in Kontrollvolk	0,067	0,437	0,247		0,595
A	0,002	0,918	0,250	0,595	

**Tabelle 30: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen aus dem Adoptivvolk A1 in 2014.**

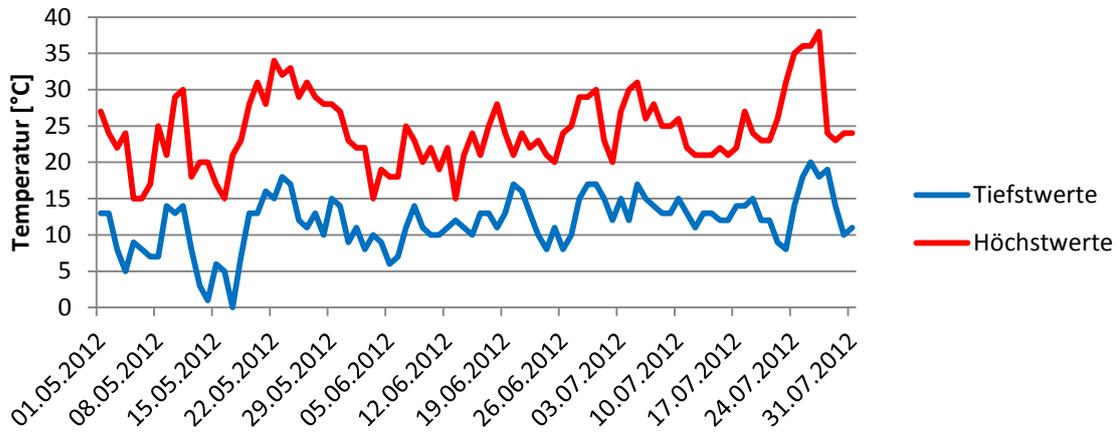
Bienengruppen aus allen Völkern (K = Kontrolle, T = Thiaclopid, A = Adoptivvolk) wurden gegeneinander getestet (Mann-Whitney-U).

	K	T 5000 ppb	T 8800 ppb	T in Kontrollvolk	A
K		0,087	0,510	0,194	0,424
T 5000 ppb	0,087		0,603	0,728	0,513
T 8800 ppb	0,510	0,603		0,452	1,000
T in Kontrollvolk	0,194	0,728	0,452		0,461
A	0,424	0,513	1,000	0,461	

**Tabelle 31: Signifikanzwerte zur Lebensdauer der Bienen aus dem Adoptivvolk A2 in 2014.**

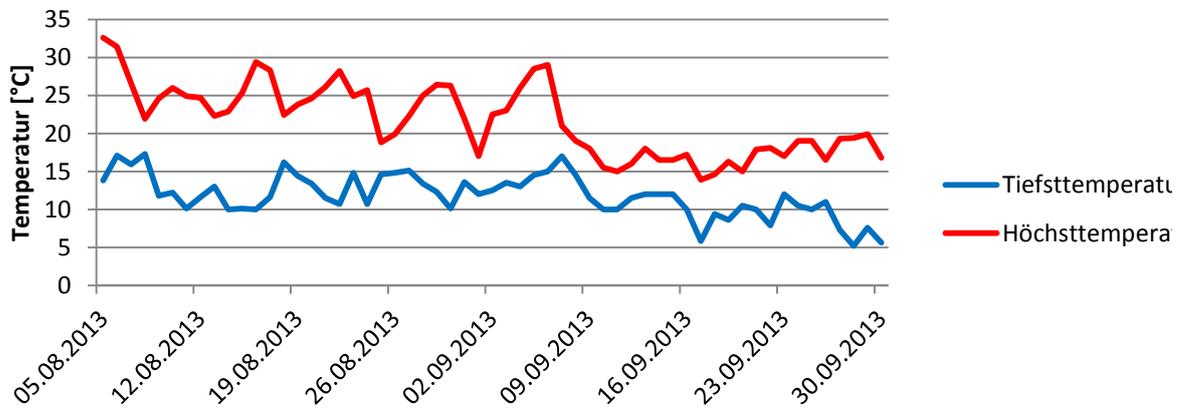
Bienengruppen aus allen Völkern (K = Kontrolle, T = Thiaclopid, A = Adoptivvolk) wurden gegeneinander getestet (Mann-Whitney-U).

	K	T 5000 ppb	T 8800 ppb	T in Kontrollvolk	A
K		0,017	0,003	0,591	0,010
T 5000 ppb	0,017		0,125	0,278	0,562
T 8800 ppb	0,003	0,125		0,042	0,339
T in Kontrollvolk	0,591	0,278	0,042		0,253
A	0,010	0,562	0,339	0,253	

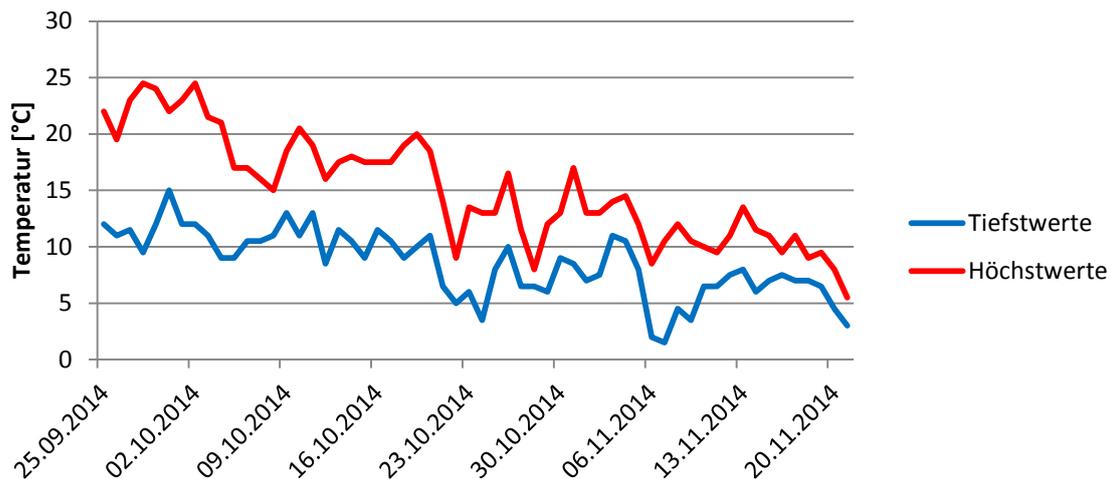


**Abbildung 36: Temperaturkurven Mai bis August 2012.**  
Die täglichen Höchst- und Tiefstwerte sind über vier Monate aufgetragen.

## Temperatur 2013



**Abbildung 37: Temperaturkurven August bis September 2013.**  
Die täglichen Höchst- und Tiefstwerte sind über zwei Monate aufgetragen.



**Abbildung 38: Temperaturkurven September bis November 2014.**  
Die täglichen Höchst- und Tiefstwerte sind über zwei Monate aufgetragen.

**Tabelle 32: Signifikanzwerte zur Heimkehrdauer im ersten Versuchsdurchlauf.**  
(Test: Mann-Whitney-U)

Auflassort	(A) 237 m	(B) 285 m	(C) 571 m	(D) 905 m
p-Wert	0,325	0,175	0,247	0,735

**Tabelle 33: Signifikanzwerte Heimkehrdauer Wiese, Vergleich Kontrolle gegen Thiaclopid.**

Nur Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind, wurden einbezogen. Getestet wurde die Gruppe Kontrolle gegen die Gruppe Thiaclopid zu den vier unterschiedlichen Auflasszeitpunkten.

(Test: Mann-Whitney-U)

	0 min	30 min	60 min	90 min
p-Wert	0,007	0,128	0,12	0,062

**Tabelle 34: Signifikanzwerte Heimkehrdauer Wald, Vergleich Kontrolle gegen Thiaclopid.**

Nur Bienen, die am Tag des Auflassens zum Bienenstock zurückgekehrt sind, wurden einbezogen. Getestet wurde die Gruppe Kontrolle gegen die Gruppe Thiaclopid zu den vier unterschiedlichen Auflasszeitpunkten.

(Test: Mann-Whitney-U). Beim Zeitpunkt 60 Minuten konnte wegen der geringen Zahl an heimkehrenden Bienen kein Test durchgeführt werden.

	0 min	30 min	60 min	90 min
p-Wert	0,554	0,677	-	0,379

**Tabelle 35: Signifikanzwerte zur Heimkehrdauer nach verschiedenen zeitlichen Abständen vom Auflassort Wiese.**

Es gab keine signifikanten Unterschiede in der Heimkehrdauer zwischen den Bienen der verschiedenen Auflassintervalle (0, 30, 60 und 90 min). (K) = Kontrolle; (T) = Thiaclopid. Test: Mann-Whitney-U.

(K)		0 min	30 min	60 min
	0 min			
	30 min	0,202		
	60 min	0,099	0,461	
	90 min	0,076	0,511	0,788

(T)		0 min	30 min	60 min
	0 min			
	30 min	0,073		
	60 min	0,247	0,876	
	90 min	0,132	0,731	0,662

**Tabelle 36: Statistik zur Heimkehrdauer nach verschiedenen zeitlichen Abständen vom Auflassort Wald.**

Es gab nur einen signifikanten Unterschied in der Heimkehrdauer zwischen den Bienen der verschiedenen Auflassintervalle. Dieser wurde zwischen Kontrollbienen festgestellt, die 30 bzw. 90 Minuten nach der Fütterung aufgelassen wurden. Zwischen allen anderen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede.

(K) = Kontrolle; (T) = Thiaclopid.  
Test: Mann-Whitney-U.

(K)		0 min	30 min	60 min
	0 min			
	30 min	0,247		
	60min	0,475	0,065	
	90 min	0,082	0,016	0,225

(T)		0 min	30 min	60 min
	0 min			
	30 min	0,914		
	60min	0,533	0,643	
	90 min	1	0,61	0,533

---

## Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation

**„Wirkungen des Insektizids Thiacloprid auf das Flug- und Brutpflegeverhalten sowie auf die Volksentwicklung von Honigbienen“**

selbstständig angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Frankfurt am Main, den 16.09.2015

Lena Faust

