

Schlussbericht

Referenzsystem für ein vitales Bienenvolk „FIT BEE“ - Modul 1

Zuwendungsempfänger: Landesbetrieb Landwirtschaft Hessen	Förderkennzeichen: 2817100210
Berichtszeitraum: Abschlussbericht über die gesamte Laufzeit des Vorhabens	

I. Ziele

Modul 1 zielte darauf ab, besser zu verstehen, inwiefern Immunabwehr und Leistungsfähigkeit der Bienen von Umweltfaktoren abhängen. Es war beabsichtigt, praxisrelevante Erkenntnisse zu generieren, die die Imkerei verbessern und sichern. Immunfaktoren, also Umweltfaktoren mit Immunrelevanz, die im besonderen Fokus standen, waren:

- Ernährung
- Pathogene / Parasiten
- Pestizide

Modul 1 hatte das Ziel, den Einfluss dieser Umweltfaktoren zu quantifizieren und Schadensschwellen zu formulieren. Die Fragestellung sollte zunächst auf dem Niveau der Einzelbiene getestet werden und die Beobachtungen danach an Vollvölkern verifiziert werden. Eine explizite Aufgabe für Modul1 innerhalb des fitbee-Konsortiums war die Entwicklung eines Testdesigns zur wissenschaftlichen Überprüfung der Auswirkung von Neonicotinoiden auf Bienenvölker unter Feldbedingungen. Die Völker sollten exponiert werden über eine Verfütterung von mit Wirkstoff angereichertem Zuckerwasser. In den Jahren 2011 bis 2014 haben wir das Verfahren mit dem Wirkstoff Thiacloprid etabliert. Eine Evaluierung und weitere Validierung des Testverfahrens erfolgte in 2014/2015 mit dem Wirkstoff Clothianidin.

1. Aufgabenstellung und Projektverlauf

Das Vorhaben konnte weitgehend entsprechend den in den Planungen definierten Aufgaben durchgeführt werden. Die unter Punkt 3 genannten Kooperationspartner waren sowohl institutionell als auch personell während der gesamten Laufzeit aktiv. Der Feldversuch konnte plangemäß realisiert werden. Es gab keine gravierenden meteorologischen Ereignisse. Alle Völker konnten plangemäß beobachtet werden. Es traten keine Einwirkungen von außen wie Unfälle oder Frevel auf, die die Auswertbarkeit des Versuches gefährdet hätten. Gewisse Schwierigkeiten brachte die

während des Projektes anstehende Gebäudesanierung des BIK mit sich. Jedoch wurde der Arbeitsprozess durch die Baumaßnahmen nicht unterbrochen.

Das Projekt entsprach den im Projektantrag dargelegten Schritten. Es gab keine nennenswerten Modifikationen bei der Versuchsplanung. Doch zeigte sich während der Realisierung des Vorhabens, dass der Feldversuch einen großen Raum des Moduls 1 einnahm und mehr Kapazitäten als zunächst geplant beansprucht hatte. Das Projekt war für den Zeitraum vom 01.04.2011 bis zum 31.03.2014 geplant und beantragt worden. Es zeigte sich während der Vorhabenslaufzeit, dass einige Arbeiten nicht abgeschlossen werden konnten. Außerdem hatte sich die aktuelle regulatorisch-politische Situation bei den Neonikotinoiden gewandelt. Es stand eine Neubewertung der von neonikotinoiden Saatgutbeizmitteln ausgehenden Risiken durch die efsa an. Das war zu Anfang des Projektes nicht vorhersehbar. Deswegen wurde ein Aufstockungsantrag für die Zeit vom 01.04.2014 bis 31.03.2015 gestellt. Um den zwischenzeitlich geänderten Rahmenbedingungen Rechnung zu tragen, wurden im Zeitraum 2014/2015 in einem realitätsnahen Testszenario Bienenvölker mit dem neonikotinoiden Wirkstoff Clothianidin exponiert und bewertet.

2. Stand der Technik

Zur Realisierung des Vorhabens wurde vor allem auf die wissenschaftliche Literatur zurückgegriffen. Dafür wurden über das Internet und die gängigen Datenbanken wie Pubmed, recherchiert. Ferner fanden technische Richtlinien mit Bezug zur Pflanzenschutzmittelprüfung Beachtung. Dies waren die EPPO Richtlinie 170 (EPPO, 2010), OECD guideline 213 (OECD 1998), die entsprechenden Kapitel des beebook volume 1 (Kapitel toxicological research, insbesondere Abschnitt 4 (Dietemann et al. 2013) und relevante Verlautbarungen der efsa (2013). Mit Blick auf die Schätzung der Versuchsvölker wurden Artikel, die die Standardmethoden beschreiben, herangezogen (Imdorf et al., 1987). Außerdem erwies sich die homepage des Schweizer Bieneninstitutes in Liebefeld als hilfreich (Imdorf et al., 2008). Schadschwellen zur Varroabehandlung wurden nach Büchler (2008) und Binder-Köllhofer (2011) berücksichtigt. Methoden der Käfigversuche orientierten sich an Vorgaben der Pflanzenschutztestung (OECD, 1998) sowie an den Angaben in der wissenschaftlichen Literatur, Die laboranalytischen Protokolle zur Pathogendiagnose verwendeten publizierte Methoden (Nachweis des Akuten Bienenparalysevirus nach Siede et al., (2008); des Verkrüppelten Flügelvirus nach Cox et al. (2007); für das chronische Bienenparalysevirus nach Blanchard et al. (2007) und für den housekeeper nach de Miranda et al., (2008). Die Untersuchungen der Genexpression folgten Lourenco et al. (2009) für Vitellogenin, und für Hymenoptaecin RNA Evans et al. (2006).

Quellennachweise:

- BLANCHARD, Philippe ; RIBIERE, Magali ; CELLE, Olivier ; LALLEMAND, Perrine ; SCHURR, Frank ; OLIVIER, Violaine ; ISCACHE, Anne Laure ; FAUCON, Jean Paul: Evaluation of a real-time two-step RT-PCR assay for quantitation of Chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in life stages of a symptomatic colony. In: J Virol Methods 141 (2007) Nr. 1, S. 7-13
- Binder-Köllhofer, Bruno. "Varroa-Risikoabschätzung - Mit der Bienenbefallsprobe auf der sicheren Seite!". ADIZ db IF 2011 (7), S. 8-9.
- Büchler, R. "Varroabefall ermitteln und Schadschwellen beachten". ADIZ/db/IF 2008 (7), S. 10-11.

- COX-FOSTER, D. L. ; CONLAN, S. ; HOLMES, E. C. ; PALACIOS, G. ; EVANS, J. D. ; MORAN, N. A. ; QUAN, P. L. ; BRIESE, T. ; HORNIG, M. ; GEISER, D. M. ; MARTINSON, V. ; VANENGELSDORP, D. ; KALKSTEIN, A. L. ; DRYSDALE, A. ; HUI, J. ; ZHAI, J. ; CUI, L. ; HUTCHISON, S. K. ; SI, A. Metagenomic Survey of Microbes in Honey Bee Colony Collapse Disorder (clone). In: Science 318 (2007) Nr. 283, S. 283-287
- DIETEMANN, V; ELLIS, J D; NEUMANN, P (EDS) (2013) The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for Apis mellifera research. International Bee Research Association; Cardiff, UK. 636 pp. ISBN 978-0-86098-274-6
- European Fütter Safety Authority, 2013. Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). EFSA Journal 2013;11(7):3295, 266 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3295. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- EPPO (2010) PP 1/170 (4): Side-effects on honey bees. *EPPO Bulletin* 40(3): 313-319.
- EVANS, J D; ARONSTEIN, K; CHEN, Y-P; HETRU, C; IMLER, J-L; JIANG, H; KANOST, M; HOMPSON, G J; ZOU, ; HULTMARK, D (2006) Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology* 15: 645-56.
- Imdorf, A.; Buehlmann, G.; Gerig, L.; Kilchenmann, V.; Wille, H. "A test of the method of estimation of brood areas and number of worker bees in free-flying colonies". *Apidologie* 1987 18 (2), S. 137-146.
- Imdorf, A., Ruoff, K., Fluri, P. ALP forum. (68), 2008, 1-88; <http://www.agroscope.admin.ch/publikationen/einzelpublikation/index.html?lang=de&aid=18837&pid=20483&vmode=fancy>.
- Lourenco AP, Martins JR, Bitondi MMG, Simoes ZLP. Trade-off between immune stimulation and expression of storage protein genes. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2009; 71:70-87.
- DE MIRANDA, J. R. ; FRIES, I.: Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.). In: *J Invertebr Pathol* 98 (2008) Nr. 2, S. 184-9 (Primer rp49-qf und rp49-qb)
- OECD (1998) OECD guideline for testing of chemicals. Test No 213: Honey bees, acute oral toxicity test.
- Siede, Reinhold; König, Matthias; Büchler, Ralph; Failing, Klaus; Thiel, Heinz-Jürgen. "A real-time PCR based survey on acute bee paralysis virus in Germany". *Apidologie* 2008 39 (6), S. 650-661

3. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Der LLH, Bieneninstitut Kirchhain (im folgenden kurz als BIK bezeichnet) hat das Vorhaben entsprechend den im Antrag erläuterten Planungen in enger Zusammenarbeit mit den Partnern aus Modul 2, Institut für Bienenkunde Oberursel, 61440 Oberursel, (im folgenden kurz als IBO bezeichnet), den Partnern aus Modul 5, LAVES Institut für Bienenkunde Celle, 29221 Celle (im folgenden kurz als „LAVES“ bezeichnet) und dem Industriepartner, der Firma Bayer CropScience AG, 40789 Monheim, (im folgenden kurz als BCS AG bezeichnet) durchgeführt. Der Feldversuch zur Bienenverträglichkeit von Thiacloprid wurde mit den Projektpartnern BCS AG und dem IBO realisiert. Ansprechpartner auf Seiten der BCS AG sind Herr Dr. Maus und von Seiten des IBO Herr Prof. Grünwald und Frau Faust. Die Durchführung der Untersuchungen sowie Teile der Arbeiten an den Versuchsvölkern werden von allen drei beteiligten Institutionen gemeinsam getragen. Das BIK brachte maßgeblich seine imkerliche Expertise ein, IBO sein pathologisch-analytisches know-how und BCS seine exzellente Kompetenz auf dem Gebiet der Rückstandsanalytik. Planung und Evaluierung des Versuchs erfolgte im Dialog der drei Projektpartner. Die Zusammenarbeit mit dem LAVES beinhaltete epidemiologische und immunologische Analysen an den Monitoringvölkern von Modul 5. Ansprechpartnern auf Seiten des LAVES waren Herr Dr. von der Ohe und Frau Lüken. Dem LAVES oblag die Federführung bei der Konzeption des Monitoringvorhabens, der Betreuung und der Beprobung der Monitoringvölker sowie der Datenaufbereitung. Das BIK hat PCR gestützte Analysen zur Virusbelastung der Völker und Genexpressionsstudien an Bienen der Monitoringvölker zur Charakterisierung des Ernährungszustandes durchgeführt. Auf Seiten des BIK waren die Ansprechpartner Dr. Meixner,

Dr. Böhler und Dr. Siede. Im Laufe des Vorhabens gab es zusätzlich eine fruchtbare inhaltliche Kooperation mit Frau Dr. Brandt vom BIK.

Die Abstimmung zwischen den Kooperationspartnern erfolgte über inhaltliche Treffen, Telefonate, Gespräche und Diskussionen am Rande der bienenkundlichen Tagungen (Tagungen der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., der eurbee, u. a.) sowie anlässlich der gemeinsamen Treffen des fitbee Konsortiums in Fulda.

II. Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

II.1.1 Immunologische Relevanz von Pestiziden und Ernährungsmangel

Immunsuppression ist eine mögliche Nebenwirkung von Umweltstressoren. Um immunmodulierende Faktoren gut erkennen zu können, war beabsichtigt, ein gut kontrolliertes Testsystem mit immunsupprimierenden Kontrollsubstanzen aufzubauen. Ziel war es, entsprechende Substanzen, die die Immunabwehr der Honigbiene unterdrücken, zu identifizieren.

Aus der Humanmedizin und der ökotoxikologischen Forschung war bekannt, dass Cyclosporin und Benzylidenaceton immunsuppressive Wirkung haben können. Beide Substanzen wurden den Bienen injiziert. Dabei war eine Immunantwort der Bienen durch eine LPS Injektion provoziert worden. Vollversorgte Testtiere als auch Bienen, deren Zugang zu Pollen begrenzt war, wurden überprüft. An den Testtieren wurden die Anzahl der Hämozyten, die Expression immunrelevanter Gene und die Bildung antibakterieller Substanzen in der Hämolymphe der Biene gemessen (siehe Abb. 1). So weit wie die Arbeiten im Projekt vorangetrieben werden konnten, wurde bei der Biene kein immunsupprimierender Effekt gefunden.

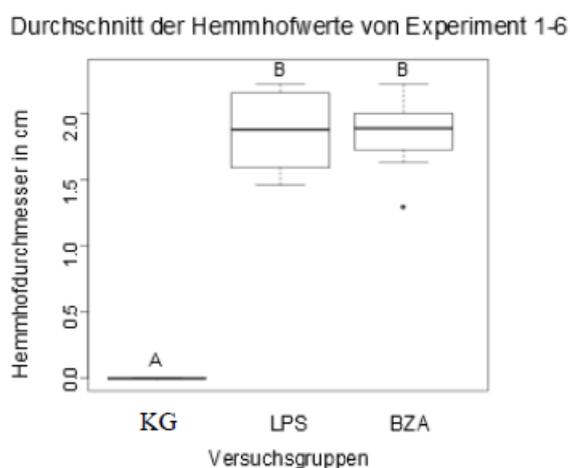


Abb. 1: Durchschnitt der Hemmhofwerte; KG = Kontrollgruppe, LPS: Bienen, deren Immunantwort mit Lipopolysacchariden aktiviert wurde. BZA = mit Benzylidenaceton und LPS behandelte Bienen.

Weitergehende Untersuchungen zur Immunrelevanz wurden in Zusammenarbeit mit Frau Dr. Anneli Brandt vom BIK durchgeführt. Methoden und Ergebnisse sind publiziert (Brandt et al., 2016).

II.1.2 epidemiologische und immunologische Analysen an Monitoringvölkern (Kooperationspartner Celle)

Die Kooperationspartner aus Celle von Modul 5 hatten drei mögliche Bienenstandorte miteinander verglichen. Es gab einen Stadtstandort, einen Agrarstandort und einen Wanderstandort. Alle drei Standorte unterschieden sich im Angebot an Pollen und Nektar. Es sollte geklärt werden, wie der ideale Standort für Bienen aussieht. In Zusammenarbeit mit dem BIK war es ein Ziel des Vorhabens, physiologische Parameter an den Bienen zu finden, die laboranalytisch einfach zu bestimmen sind und die den Standort gut charakterisieren. Um derartige Parameter aufzuspüren, wurden zunächst am BIK Käfigversuche im Labormaßstab unter Extrembedingungen durchgeführt. Altersdefinierte Arbeiterinnen wurden nach dem Schlupf optimal mit Pollen versorgt. Eine Vergleichsgruppe erhielt keinen Pollen. Die Tiere wurden nach 7 d getötet, deren Gesamt RNA extrahiert und die Expression des Vitellogenin-Gens über Echtzeit-PCR gemessen. Es zeigten sich deutliche Unterschiede (vgl. Abb. 2). Die Ct Werte der Bienen mit freiem Zugang zu Pollen waren deutlich niedriger als die resp. Werte der Bienen, deren Pollenversorgung stark begrenzt war. Das bedeutet, vollversorgte Tiere haben deutlich mehr Vitellogenin-RNA gebildet. Um diese Beobachtungen unter feldrealistischen Bedingungen zu verifizieren, wurden von den Beobachtungs- und Beprobungsvölkern aus Modul 5 altersdefinierte Arbeiterinnen zu festgelegten Zeiten abgesammelt. Die Tiere wurden auf Trockeneis zum BIK geschickt, dort extrahiert und deren Vitellogenin-RNA Menge bestimmt. Eine relative Quantifizierung über Echtzeit PCR zeigte keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 3). Unter Feldbedingungen sind offensichtlich die Effekte bei weitem nicht so akzentuiert wie dies im Laborversuch der Fall war. Außerdem ist es fraglich, ob sich die drei Standorte bei der Verfügbarkeit von Pollen massiv unterscheiden. Schätzungen der Bienenbrottflächen in den Völkern der drei Standorte lassen vermuten, dass selbst an den Ungunststandorten Pollen vorhanden war. Die Beobachtungen aus Celle legen nahe, dass vor allem das Massenangebot an Nektar je Standort verschieden war. Dies schlug sich jedoch nicht erkennbar in der Vitellogeninexpression nieder. Diese Versuche zeigen, dass unter Realbedingungen Vitellogenin-RNA kein aussagekräftiger Marker der Trachtqualität eines Standortes ist.

Zusätzlich war Ziel der Zusammenarbeit zwischen Modul 1 und Modul 5, den Gesundheitsstatus der Celler Monitoringvölker zu charakterisieren. Deswegen wurden Sammelproben der Völker in Kirchhain auf eine Belastung mit bienenpathogenen Viren getestet. Dafür wurden aus 30 Arbeiterinnen Gesamt-RNA-Extrakte gewonnen, deren Virusbelastung über PCR bestimmt wurde. Das Akute Bienenparalysevirus (ABPV) und das chronische Bienenparalysevirus (CBPV) wurden nur selten gefunden. Deutlich häufiger war das verkrüppelte Flügelvirus (DWV) und das Sachkbrutvirus (SBV) vorhanden (vgl. Tab. 1).

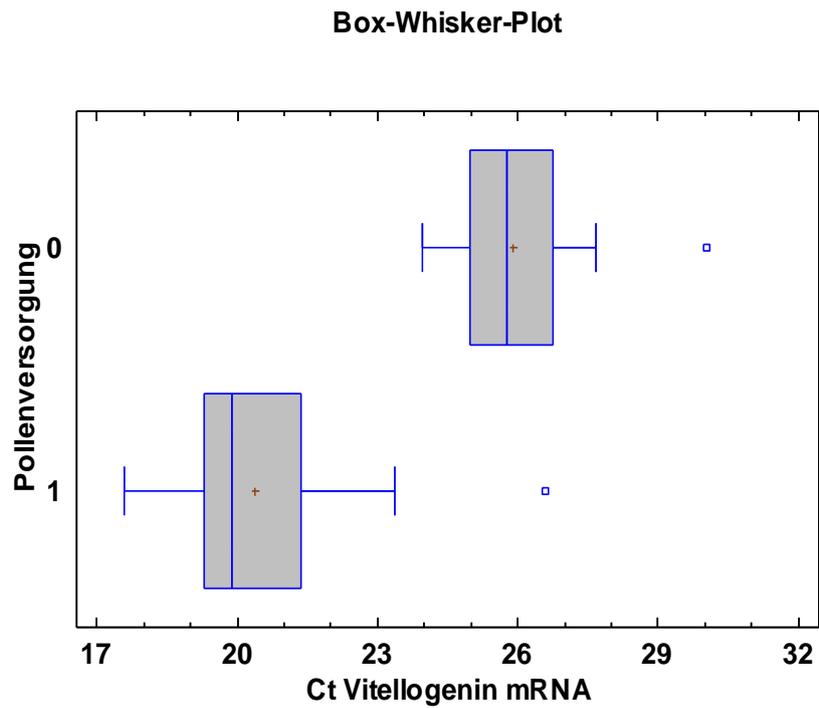


Abb. 2 Ct Werte der Echtzeit PCR zur Vitellogeninexpression einzelner Bienen, die im Käfig mit Pollen ad lib. („1“) bzw. ohne Pollen („0“) gehalten wurden.

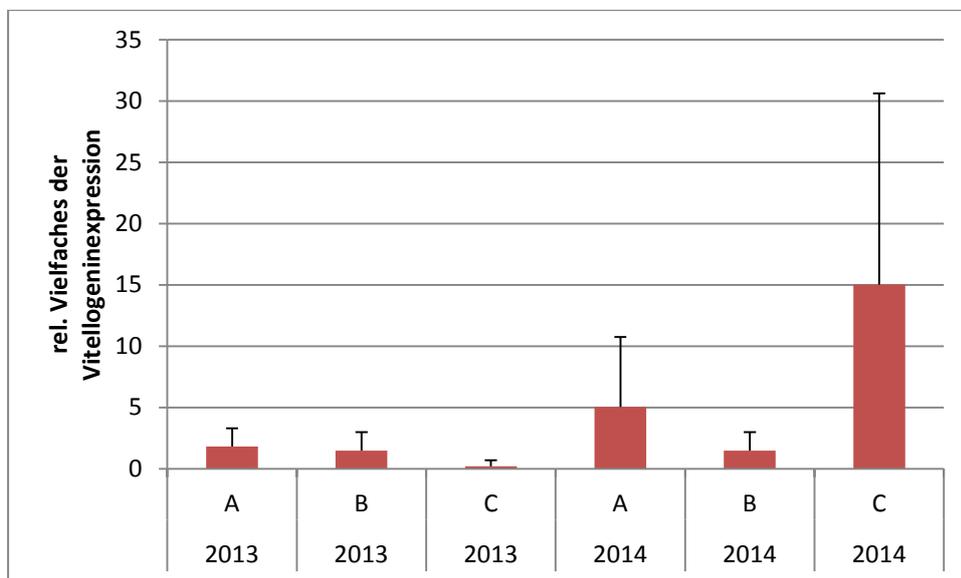


Abb. 3: Einzeltieranalysen; Vielfaches der Vitellogeninexpression. Fehlerindikator: +1 Standardabweichung; $P_{\text{Standort}}=0,056$ (proc univariate spss)

Tab. 1 Anzahl viruspositiver / virusnegativer Proben

	ABPV pos	ABPV neg	CBPV pos	CBPV neg	DWV pos	DWV neg	SBV pos	SBV neg
Gruppe A	3	10	2	18	6	7	3	10
Gruppe B	3	10	4	16	8	12	6	7
Gruppe C	0	13	2	18	12	8	3	10

Abk.: ABPV pos: Akute Bienen Paralyse Virus nachgewiesen; ABPV neg: ABPV nicht nachgewiesen; CBPV pos: Chronische Bienenparalysevirus nachgewiesen; CBPV neg: CBPV nicht nachgewiesen; DWV pos: Verkrüppelte Flügelvirus nachgewiesen; DWV neg: DWV nicht nachgewiesen; SBV pos: Sackbrutvirus nachgewiesen, SBV neg: Sackbrutvirus nicht nachgewiesen.

II.1.3 Feldversuch Thiacloprid

Der Feldversuch sollte klären, inwiefern eine langandauernde Exposition mit subletalen Mengen an Thiacloprid Bienenvölker beeinflussen kann. Ziel war die wissenschaftliche Bearbeitung der Frage. Es war nicht die Intention, Daten für eine Produktzulassung zu generieren. Deswegen sollte ergänzend zu den Standardmethoden der Prüfverfahren der amtlichen Zulassung ein Versuchsdesign etabliert werden, dass a) unter feldrealistischen Bedingungen Pestizideffekte auf Vollvölker testet und b) eine hinreichende Anzahl an Replikaten enthält, um die Daten statistisch verrechnen zu können. Es wurde eine Wirkstoffkonzentration gewählt, die den unter Feldbedingungen gefundenen Höchstwerten entsprach (ca. 0,2 mg L⁻¹). Außerdem wurde eine Dosis verwendet, die diesen Wert bei weitem überschritt (2 mg L⁻¹).

Auf einem Außenstand in der Nähe von Kirchhain wurden in jedem Versuchsjahr Anfang Juli 30 Einheiten aus Kunstschwärmen aufgebaut. Die 30 Völker wurden auf drei Gruppen aufgeteilt. Jede Gruppe erhielt unterschiedliche Konzentrationen von Thiacloprid im Zuckerfutter:

K: Kontrolle, Lösungsmittel ohne Wirkstoff im Futter (5,4 ml Aceton / 54 L Apilinvert).

T1: 0,2 mg Thiacloprid L⁻¹ Apilinvert (5,4 ml Stammlösung T1 / 54 L Apilinvert; Stammlösung T1= 400 mg Thiacloprid ad 200 ml Aceton).

T2: 2 mg Thiacloprid L⁻¹ Apilinvert (5,4 ml Stammlösung T2 / 54 L Apilinvert; Stammlösung T2= 4 g Thiacloprid ad 200 ml Aceton).

Die Gruppeneinstellung erfolgte blockweise. Die Blöcke waren im Abstand von ca. 10 m voneinander angeordnet. Das mit Thiacloprid angereicherte Futter wurde von Juli bis Oktober verabreicht. Insgesamt wurden 25 L, verteilt auf 5 Gaben, gegeben. Gemessen werden die Parameter Volksentwicklung (Schätzung der Anzahl erwachsener Bienen und der Brutzellen), Anzahl toter Bienen, Gewichte, Belastung mit *Nosema spp.*, Viren und *Varroa destructor*, die Immunkompetenz der Bienen und die Thiaclopridrückstandssituation im Futter und im Bienenbrot. Die dafür erforderlichen Proben wurden während des Berichtszeitraumes gesichert. Die Rückstandsanalysen wurden in den Laboren der BCS AG durchgeführt. Die Virus- und

Nosemabelastungen wurden am BIK und am IBO ermittelt. Der Immunstatus wurde am BIK getestet.

Alle Völker hatten in allen drei Jahren gut überwintert. Es traten keine Volksverluste während der Winter auf. In jedem Jahr waren eine Königin der 0 mg L⁻¹ THIA und eine Königin der 2 mg L⁻¹ THIA Gruppe verloren, die durch Schwesterköniginnen ersetzt wurden. Frühjahrsverluste gab es in 2013 (ein Volk der 2 mg L⁻¹ THIA Gruppe) und in 2014 (ein Volk der 0 mg L⁻¹ THIA Gruppe). Beide Ausfälle wurden nicht ersetzt. Es gab keine auffälligen Unterschiede in der Volksentwicklung. Das laut efsa wichtigste Merkmal, die Volksstärke, gemessen an Hand der Anzahl erwachsener Bienen je Volk, war statistisch nicht durch die Thiaclopridexposition beeinflusst ($p=0,113$; siehe Abb. 4). Statistisch signifikante Unterschiede gab es auf die Anzahl Brut. Im Mittel aller drei Jahre hatten die 0 mg L⁻¹ THIA-Völker 13151 Bienen (SE = 448; N = 237) und 11918 Brutzellen (SE = 636, N=237) vs. 13645 Bienen (SE = 421; N=240) und 12571 Brutzellen (SE 670, N= 240) der 0,2 mg L⁻¹ THIA-Gruppe und 13088 Bienen (SE = 412; N=237) und 11344 Brutzellen (SE 623, N= 237) der 2 mg L⁻¹ THIA-Gruppe. Demnach liegt die Schadenschwelle von THIA bei einer langandauernden Exposition sicher nicht unter 0,2 mg L⁻¹. Die Parasiten- und Pathogenbelastung unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. Im Mittel der drei Jahre hatten die C-Völker 0.0316 Milben / g Bienen (SD = 0,0453; N=90), 0,0332 Milben / g Bienen der 0,2 mg L⁻¹ THIA-Völker (SD = 0,0543; N=90) und 0.0395 Milben / g Bienen bei den 2 mg L⁻¹ THIA-Völkern (SD = 0,0749; N=90). THIA hatte keinen Effekt auf den Infektionsgrad ($p_{\text{THIA}} = 0.412$; $p_{\text{Jahr}} < 0.001$). Anfang August reichte die Infektionsrate von 0 bis zu 0,0581 Milben / g Bienen. In der Mitte September betrug das Minimum 0, das Maximum 0.1691 Milben / g Bienen und im Oktober beliefen sich die entsprechenden Werte auf 0 bis zu 0,4621 Milben je g Bienen. Die Völker wurden auf ihre Virusbelastungen getestet. PCRs zeigten keine CBPV-Infektion. DWV war selten mit 9 Positivbefunden von 84 getesteten Proben (davon 2 in den C-Völkern, 2 in 0,2 mg L⁻¹ THIA-Völkern und 5 in den 2000ppb THIA-Völkern). ABPV wurde häufig gefunden. Auch hier war die Verteilung der Positivbefunde auf die drei Gruppen ähnlich ($P_{\text{THIA}} = 0.619$). Nosemasporen gab es in allen Völkern, insbesondere im Sommer. Eine Ungleichverteilung zwischen den Gruppen wurde nicht beobachtet.

Wie die Rückstandsdaten zeigen, waren die Völker sowohl vor als auch nach dem Winter dem THIA ausgesetzt. THIA war bei den exponierten beiden Gruppen im eingelagerten Futter und im Bienenbrot in beachtlichen Mengen nachweisbar (siehe Tab. 2). Dieses Ergebnis war zu erwarten, weil Wachs nicht als sink für THIA fungiert und THIA eine nicht flüchtige, rel. stabile Verbindung ist.

Fluglochfallen waren eingesetzt worden, um den Totenfall der Völker zu bestimmen. Insgesamt wurden 1920 Datensätze in 2011/2012, 1726 Datensätze in 2012/2013 and 1937 Datensätze in 2013/2014 erfasst. Nach Aggregieren der Einzeldaten mit der AUC-Methode wurden 90 Datensätze generiert, die mit Hilfe einer ANOVA verrechnet wurden. Es zeigte sich, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gab ($p=0,728$, Daten log-transformiert). Der Jahreseffekt war signifikant ($p < 0.0001$), jedoch Wechselwirkungen zwischen Jahr und THIA waren nicht signifikant ($p = 0.143$). Die Mittelwerte sind für 2011/2012 26,55 (C), 25,90 (T1) and 25,13 (T2); für 2012/2013 21,28 (C), 25,02 (T1) und 22,15 (T2) und für 2013/2014 11,69 (C), 10,22

(T1) und 12,01 (T2). Die Mittel über alle drei Jahre beliefen sich auf 19,84 (C), 20,38 (T1) and 19,76 (T2). Am Ende der Winter kurz vor Beginn des Reinigungsfluges wurden die toten Bienen auf dem Bodenbrettern gezählt. Im Mittel hatten die C-Völker 1027 tote Bienen auf dem Bodenbrettern, (SD = 744; N=30), T1-Völker 742 (SD = 623; N=30) und T2-Völker 719 tote Bienen (SD = 668; N=30). Die Unterschiede zwischen den Jahren und den Gruppen waren statistisch absicherbar ($p_{\text{Jahr}} < 0.001$, $p_{\text{THIA}} < 0.001$; Daten Wurzel-transformiert, Wechselwirkungen n. s. $p=0.107$).

Altersdefinierte Bienen wurden von den Testvölkern gesammelt. An diesen Tieren wurde die konstitutive Expression des Hymenoptaecingens gemessen. Das Immunsystem einer zweiten Kohorte Testbienen wurde experimentell durch Injektion eines Aliquots einer Bakteriensuspension mit *Paenibacillus larvae* herausgefordert, *P. larvae*, der Erreger der amerikanischen Faulbrut, wurde gewählt, da aus der Literatur bekannt ist, dass er bei Bienen eine starke Immunantwort auslöst. Auch deren Hymenoptaecingenexpression wurde nach der Stimulation erfasst. THIA hatte keinen Effekt auf die konstitutive Expression, aber die Reaktion auf eine experimentelle Immunprovokation war unter dem Einfluss von THIA beeinträchtigt (siehe Abb. 5).

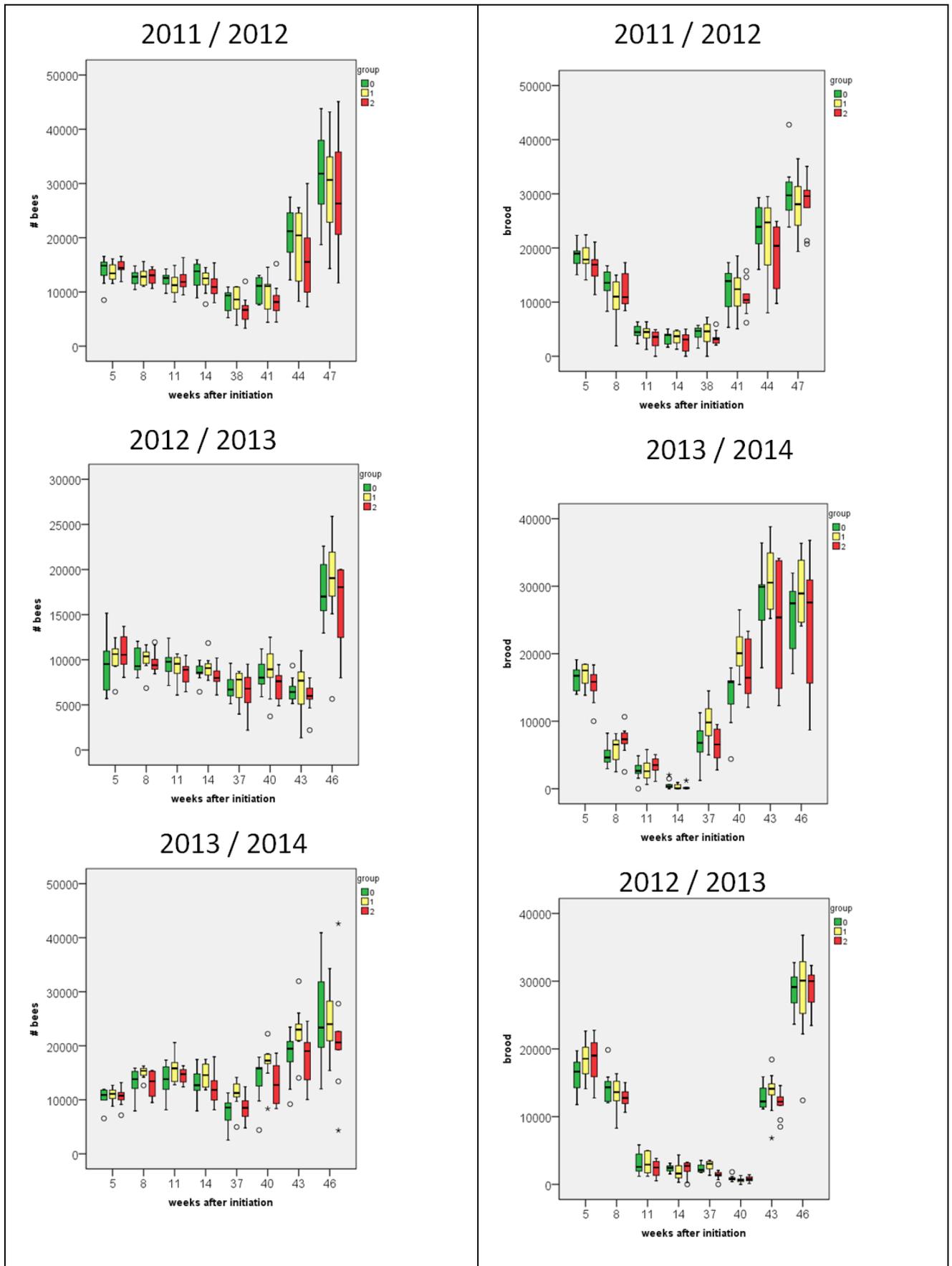


Abb. 4 Anzahl Bienen pro Volk (links) und Anzahl Brutzellen pro Volk (rechts) in Abhängigkeit der Thiaclopridexposition; Effekt THIA auf Bienen $p=0,133$ und auf Brut $p=0,037$, Proc glm repeated spss.

Tab. 2 Rückstände von THIA und dessen Metaboliten THIA –amide in Honig und im Bienenbrot der Völker, die nicht mit THIA gefüttert wurden (“K”), der Völker, die 0,2mg L⁻¹ THIA erhielten (“T1”) und der Völker, die 2mg L⁻¹ THIA erhielten (“T2”). Gezeigt werden Mittelwerte (MW) in [µg/kg], Minima (Min), und Maxima (Max) und Anzahl quantifizierbarer Analysen (N_{quantifiable}) bzw. Anzahl der Proben unter dem LOQ (N_{<LOQ}), berechnet über alle drei Jahre.

Zeit		Herbst		Frühjahr		Herbst		Frühjahr	
Gruppe		Eingelagertes Futter				Bienenbrot			
		THIA	THIA- amide	THIA	THIA- amide	THIA	THIA- amide	THIA	THIA- amide
K	MW	10,19	1,18	11,59	5,56	20,40	1,48	7,25	0,99
	Min	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	Max	48,00	2,26	65,62	13,10	304,21	3,70	44,40	1,31
	N _{quant}	26	2	28	3	23	4	28	4
	N _{<LOQ}	4	28	2	27	7	26	2	26
T1	MW	156,11	1,53	93,96	222	45,71	1,65	44,51	1,71
	Min	33,81	<LOQ	1,36	<LOQ	9,64	<LOQ	8,50	<LOQ
	Max	1318,30	2,33	187,40	4,60	274,03	3,17	331,60	7,40
	N _{quant}	30	29	30	29	30	4	30	22
	N _{<LOQ}	0	1	0	1	0	26	0	8
T2	MW	777,76	7,77	630,57	13,42	203,28	615	205,89	4,36
	Min	473,83	1,30	172,10	<LOQ	1,24	<LOQ	40,14	1,63
	Max	1278,20	12,44	882,40	21,10	369,1	14,65	441,00	12,78
	N _{quant}	30	30	29	28	28	26	29	29
	N _{<LOQ}	0	0	0	1	0	2	0	0

LOD = 0,0001 mg/kg

LOQ = 0,001 mg/kg

Anmerkung:

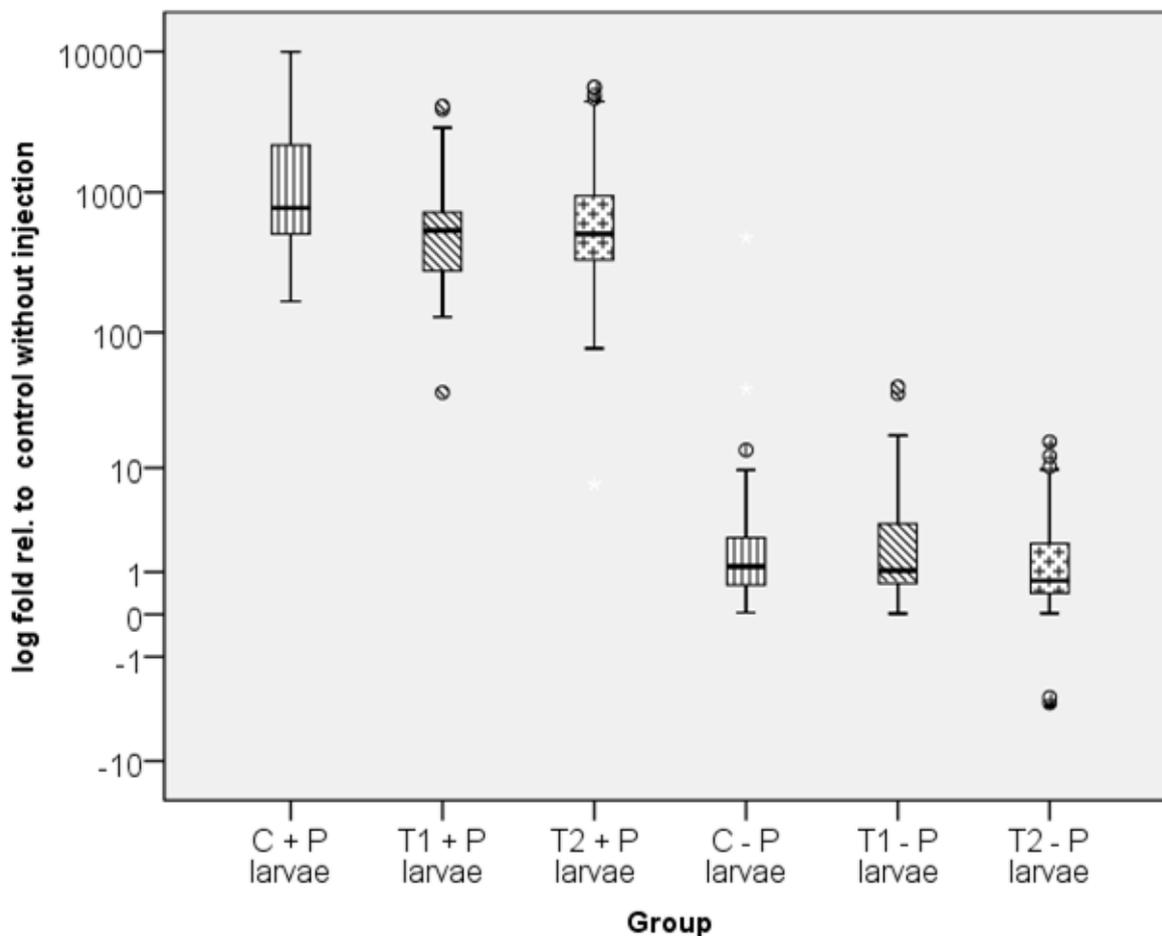


Abb. 5 Expression des Hymenoptaecin Gens, Quantifizierung relativ zu den Kontrollen des ersten Jahres ohne Injektion von *P. larvae* auf der linken Seite: Bienen, die mit *P. larvae* injiziert worden waren; auf der rechten Seite: naive Bienen ohne Injektion, Kruskal Wallis Test, $p_{+Injektion}=0,001$; $p_{-Injektion}=0,123$. Wiederholtes Testen C + *P. larvae* vs. T1 + *P. larvae* and C vs. T2 + *P. larvae*, alpha = 0,025 Bonferroni Korrektur.

II.1.4. Feldversuch Clothianidin

Nachdem das Testsystem im Rahmen des THIA-Feldversuches erfolgreich etabliert worden war, wurde der Testansatz verwendet, um Daten zur Bientoxizität von Clothianidin (CLO) zu gewinnen. Auch hier war der Fokus auf eine Langzeitexposition gerichtet. Auf einem Außenstand des Institutes inmitten einer überwiegend ackerbaulich genutzten Gemarkung wurden Anfang Juni 2015 24 Einheiten aus Kunstschwärmen aufgebaut. Die Völker wurden auf vier Gruppen zu je 6 Völkern aufgestellt. An jede Gruppe wurden über den Futtertrog unterschiedliche Mengen an CLO im Zuckersirup verfüttert. Als Kontrolle dienten Völker, die mit Zuckerwasser ohne CLO gefüttert worden waren. Zusätzlich wurde eine Gruppe Bienenvölker mit einer extrem hohen Dosis CLO gefüttert, um als positiver Standard die Auswirkungen einer CLO-bedingten Vergiftung sichtbar machen zu können.

K: 0 mg CLO L⁻¹ Apilnvert; Kontrolle, Lösungsmittel ohne Wirkstoff im Futter.

C1: 0,01 mg CLO L⁻¹ Apilnvert

C2: 0,05 mg CLO L⁻¹ ApilInvert

C3: 0,2 mg CLO L⁻¹ ApilInvert

Die Gruppeneinstellung erfolgte blockweise. Die Blöcke waren im Abstand von ca. 10 m voneinander angeordnet. Das mit CLO angereicherte Futter wurde von Juni bis Mitte August verabreicht. Insgesamt wurden 20 L angereichertes Zuckerwasser, verteilt auf 4 Gaben, verfüttert. Gemessen wurden die Endpunkte Volksentwicklung (Schätzung der Anzahl erwachsener Bienen und der Brutzellen), Anzahl toter Bienen, Gewichte, Belastung mit *Nosema* und *Varroa*. Zur Rückstandsbestimmung wurden Proben der Futterkränze, des Bienenbrottes, des Wachses, der Larven, der Stockbienen und der Flugbienen genommen. Die Rückstandsanalysen wurden in den Laboren der BCS AG durchgeführt. Um eine präzise Endpunktschätzung durchführen zu können, wurden die Völker zu Versuchsende abgeschwefelt. Die Anzahl der Bienen wurden bestimmt. Brutflächen wurden mit dem Programmpaket imageJ verrechnet.

Die Daten wurden statistisch mit einem gemischten linearen Modell (SPSS V. 20) verrechnet. Da die Völker der 0,2 mg L⁻¹ CLO-Gruppe rasch zusammenbrachen, wurde diese Gruppe in der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt. Die Infektion mit *V. destructor* wurde in das Modell als Kovariate integriert. Die Anzahl tote Bienen wurde aggregiert mit Hilfe des "area under curve"-Ansatzes: Danach wurde eine Varianzanalyse gerechnet. Die Überlebensdauer wurde mit der Kaplan Meier-Methode berechnet. Gruppenunterschiede wurden mit dem Mantel Cox-Test auf Signifikanz geprüft.

Ergebnisse:

Der Versuch konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die Studie generierte auswertbare Daten, trotz einzelner vorzeitiger Volksabgänge. Alle Völker der 200ppb-Gruppe starben bereits innerhalb der ersten drei Monate. Vorwinterverluste der anderen drei Gruppen gab es nicht. Während des Winters brachen ein Volk der 0 mg L⁻¹-Gruppe zusammen, ein Volk der 0,05 mg L⁻¹-Gruppe und 3 Völker der 0,01 mg L⁻¹-Gruppe. Alle Völker waren nennenswert mit *V. destructor* belastet (Abb. 9). Wiederholte Behandlungen gegen Varroose waren erforderlich, um Volksverluste zu vermeiden.

Schlüsselfaktoren für die Volksstärke waren Zeit und *Varroa*. Beide spielten eine signifikante Rolle. Die Exposition mit CLO hatte keine signifikante Bedeutung für die Volksstärke. Die unter Feldbedingungen auftretenden CLO Konzentrationen von ca. bis zu 3 ppb liegen nach unseren Ergebnissen sicherlich unter der Schadensschwelle für CLO bei langandauernder Exposition

Erläuterungen der Abkürzungen: CLO: Clothianidin; dai: Tage nach Versuchsbeginn; N: Anzahl Beobachtungen, p: Wahrscheinlichkeit.

- **Volksstärke** (Anzahl Bienen pro Volk, siehe Abb. 6): Die Exposition mit CLO hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Volksstärke (p=0,942; siehe Tab. 3). Wechselwirkungen zwischen Zeit und CLO waren nicht signifikant. Das bedeutet, dass es keinen Zeitverzug in der Wirkung des Neonikotinoids auf die Bienenzahl gab. Im Mittel hatten die 0 mg L⁻¹ CLO-

Völker 13228 Bienen (N=28; SD=7910) vs. 13582 Bienen der 0,01 mg L⁻¹ CLO-Gruppe (N=24; SD = 6836) and 13122 Bienen der 0,05 mg L⁻¹ CLO-Gruppe (N=28, SD=7502).

- **Anzahl Brutzellen** (siehe Abb. 7): CLO beeinflusste nicht die Anzahl Brutzellen (vgl. Tab. 4; p=0.546). Es gab keine signifikanten Wechselwirkungen zwischen Zeit und CLO. Demnach hatte also auch beim Merkmal Brut CLO keine zeitverzögerte Wirkung. Im Mittel hatten die 0ppb CLO-Völker 13805 Brutzellen, (N=28; SD= 7858) vs. 17201 Brutzellen der 0,01 mg L⁻¹-Völker (N= 24, SD= 9136) und 14845 Brutzellen der 0,05 mg L⁻¹ppb-Völker (N= 28, SD= 8119).
- **Nettogewichte:** Völker der 0ppb CLO-Gruppe waren geringfügig leichter als behandelte Völker (vgl. Abb. 8). Die entsprechenden Mittelwerte waren 14,6098 kg der 0 mg L⁻¹ CLO-Völker (N=40; SD=6.47), 17,3103 kg für die 0,01 mg L⁻¹ CLO-Völker (N=36; SD=7.18), 16,9950 kg der 0,05 mg L⁻¹-Völker (N= 40, SD=7.17) and 4,84 kg bei den 0,2 mg L⁻¹ CLO-Völkern (N=10; SD= 1.19). Es zeigte sich eine Tendenz von CLO auf das Gewicht (p=0.052, vgl. Tab. 5). Wechselwirkungen von CLO und Zeit auf das Gewicht waren nicht signifikant.
- **Pathologische Merkmale:** Alle Völker hatten eine substantielle Varroabelastung (vgl. Abb. 9). Die praxisüblichen Schwellenwerte wurden überschritten (Büchler, 2008). Im Mittel waren 2.369 Milben / 10 g Bienen bei den 0 mg L⁻¹ CLO-Völkern (N=23; SD=4.24), 3,14 bei den 0,01 mg L⁻¹ CLO-Völkern (N=21, SD=5.55) und 3,44 bei den 0,05 mg L⁻¹ CLO-Völkern (N=23; SD= 3.443). Daten der 0,2 mg L⁻¹ CLO-Gruppe waren wegen des raschen Zusammenbruchs der Völker nicht verfügbar. *V. destructor* verringerte signifikant die Anzahl Bienen (p=0.002; N=67). Wechselwirkungen *V. destructor* und CLO Exposition waren nicht signifikant (p=0,460). The Anzahl der Brutzellen hing von der Milbenbelastung ab (p= 0.001; N= 67), aber wiederum waren die Wechselwirkungen nicht signifikant (p=0.173). CLO intensivierte nicht die Schadwirkung von *V. destructor*. Nosemabefunde waren unauffällig (vgl. Tab. 6). Eine Infektion mit dem Akutem Bienen Paralyse-Virus (ABPV) wurde nicht gefunden. Das Verkrüppelte Flügelvirus (DWV) wurde nachgewiesen (Tab. 6).
- **Anzahl tote Bienen:** Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.
- **Überleben der Völker:** Alle Völker der 0,2 mg L⁻¹ CLO-Gruppe brachen rasch zusammen. Die mittlere Überlebensdauer betrug 54,6d. Die Überlebensdauer der drei anderen Gruppen belief sich auf 281 Tage (0,01 mg L⁻¹ CLO), 316 Tage (0 mg L⁻¹ CLO) und 305 Tage 0,05 mg L⁻¹ CLO Tab. 7). Die Unterschiede in den Überlebensdauern der drei letztgenannten Gruppen waren nicht signifikant- (p= 0.368).
- **Rückstände:** Die höchsten Rückstände waren im Futter der 0,05 mg L⁻¹-Gruppe gefunden worden (vgl. Tab. 8) Geringere Rückstände wurden im Bienenbrot, den Stockbienen, Wachs und Flugbienen gefunden. Die Proben der 0,01 mg L⁻¹ CLO-Gruppe und 0 ppb CLO-Gruppe waren mit sehr geringen Rückstandsmengen belastet. Daraus folgt, dass a) die Testvölker tatsächlich langfristig exponiert waren und dass b) keine Anreicherung der

Rückstände in den untersuchten Matrices auftrat. Auch wie die zugrunde liegenden Mechanismen nicht aufgeklärt sind, sind Entgiftungsreaktionen und Verdünnung anzunehmen.

- **Präzise Endpunktbestimmung der Volksstärken:** Ende April 2015 wurden die Völker abgeschwefelt und deren Bienen bzw. Brut gezählt (vgl. Tab. 9). Unterschiede waren nicht signifikant.

Abbildungen und Tabellen CLO Feldversuch:

Legende: blau Strich - Strich: 0 ppb CLO; rot Punkt - Punkt: 0,01 mg L⁻¹ CLO; grün Strich Punkt: 0,05 mg L⁻¹ CLO; violett Linie: 0,2 mg L⁻¹ CLO. dai: Tage nach Versuchsbeginn; Fehlerindikatoren: + 1 SD;

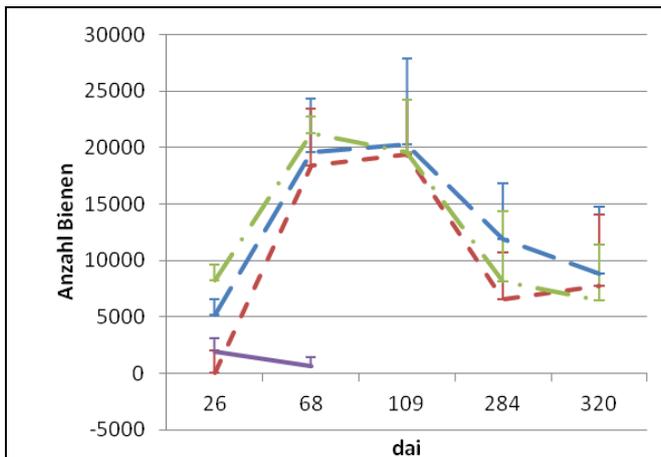


Abb. 6 Bienen

Tab. 3 Bienen, gemischtes Modell

Typ III ^a Tests of Fixed Effects				
source	Numerator df	Denominator df	F	Sig.
intercept	1	21,498	224,118	.000
days	4	15,192	42,900	.000
group	2	21,434	,047	.945
days * group	8	15,765	1,040	.448

a. dependantvariable: bees

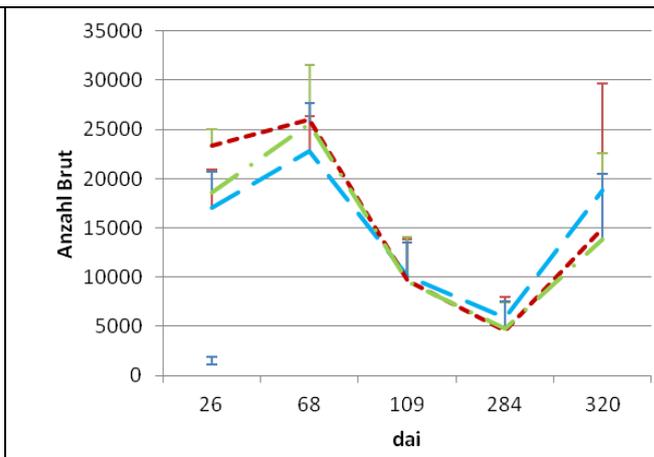


Abb. 7 Brut (Anzahl von Brutzellen)

Tab. 4 Brut, gemischtes Modell

Typ III ^a Tests of Fixed Effects				
source	Numerator df	Denominator df	F	Sig.
intercept	1	17,925	488,159	.000
days	4	21,184	91,914	.000
group	2	17,971	1,054	.369
days * group	8	21,171	1,585	.188

a. dependantvariable: brood

Abb. 6, Abb. 7, Tab. 3 und Tab. 3: Anzahl Bienen (links) und Anzahl Brut (rechts) je Volk in Abh. der Zeit und der Exposition mit CLO; in den Tab. sind Signifikanzen für feste Effekte angegeben, berechnet mit dem linearen gemischten Modell (Heterogener autoregressiver Kovarianztyp, Schätzmethode REML; 100 Iterationen; software spss)

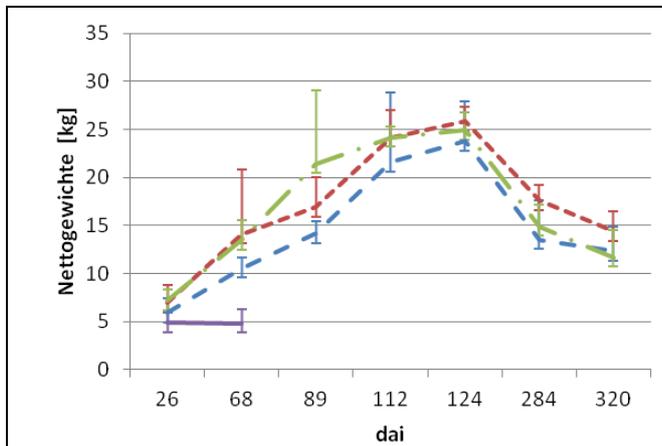


Abb. 8 Gewichte

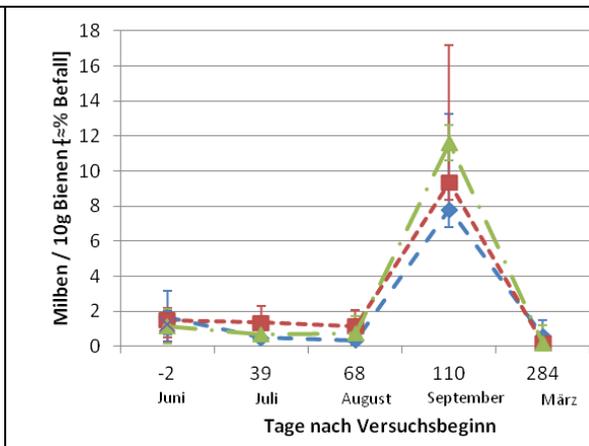


Abb. 9 Varroa

Tab. 5 Gewichte, gemischtes Modell

Typ IIIa Tests of Fixed Effects				
source	Numerator df	Denominator df	F	Sig.
intercept	1	23,940	1283,763	,000
days	6	28,482	260,593	,000
group	2	23,916	3,361	,052
days * group	12	30,003	,948	,516

a. dependant variable: netweight

Tab. 6 Nosema- & Virenbefall

Group	Spores of Nosema			Viruses (number of positivities)	
	14.07.2014	23.09.2014	16.03.2015	ABPV 29.04.2015	DWV 29.04.2015
0 ppb CLO	0	56667	10000	0 (out of 5)	3 (out of 5)
10 ppb CLO	48333	0	0	0 (out of 3)	2 (out of 3)
50 ppb CLO	0	463333	0	0 (out of 5)	3 (out of 5)

Abb. 8 und Tab. 5 (links): Gewichte der Völker als Funktion der Zeit und der Exposition der Völker mit CLO; Gewichte wurden korrigiert um Zugabe / Entfernen von Beutenmaterial.

Abb. 9 und Tab. 6 (rechts): Parasitierungsrate mit *V. destructor* und Nosembelastung bzw. Virenlast der Völker.

Tab. 7 mittlere Überlebensdauer der Bienenvölker

Group	Mean ^a			
	estimate	St. error	95%-Confidence Interval	
			Lower bound	Upper bound
0 ppb CLO	316.167	10.802	294.994	337.339
10 ppb CLO	280.833	21.483	238.726	322.940
50 ppb CLO	304.500	21.452	262.453	346.547
200 ppb CLO	54.667	8.433	38.138	71.195
Overall	239.042	23.399	193.180	284.903

Tab. 8 CLO-Rückstände [TI-435 µg/kg = ppb] vor Winter, LOQ = 1 µg/kg, LOD = 0.3 µg/kg

Zeit	Gruppe	Matrix	Mittel	N	Minimum	Maximum
13.08.2014 69 dai	0 µg/kg CLO	Bienenbrot	<LOQ	6	<LOD	<LOQ
		Sammlerinnen	<LOD	6	<LOD	<LOD
		Futter	1.3	6	<LOQ	1.9
		Stockbienen	<LOQ	6	<LOD	<LOQ
		Larven	<LOD	6	<LOD	<LOD
		Wachs	<LOD	6	<LOD	<LOQ
	10 µg/kg	Bienenbrot	1.8	6	1.1	2.2

	CLO	Sammlerinnen	<LOD	6	<LOD	<LOQ	
		Futter	7.3	6	6.8	8.1	
		Stockbienen	2.1	6	<LOQ	3.1	
		Larven	<LOQ	6	<LOD	1.7	
		Wachs	<LOD	5	<LOD	<LOD	
	50 µg/kg CLO	Bienenbrot	8.1	6	5.4	12	
		Sammlerinnen	<LOQ	6	<LOQ	1.3	
		Futter	27	6	24	31	
		Stockbienen	5.2	6	3.1	7.6	
		Larven	1.5	6	<LOQ	3.0	
		Wachs	2.8	6	<LOQ	8.1	
	25.09.2014 112 dai	0 µg/kg CLO	Bienenbrot	<LOD	6	<LOD	<LOQ
			Sammlerinnen	<LOD	6	<LOD	<LOD
			Futter	<LOD	6	<LOD	<LOQ
			Stockbienen	<LOD	6	<LOD	<LOD
Larven			<LOD	6	<LOD	<LOD	
Wachs			<LOD	6	<LOD	<LOD	
10 µg/kg CLO		Bienenbrot	<LOQ	6	<LOD	<LOQ	
		Sammlerinnen	<LOD	6	<LOD	<LOQ	
		Futter	2.8	6	<LOQ	6.0	
		Stockbienen	<LOD	6	<LOD	<LOD	
		Larven	<LOD	6	<LOD	<LOD	
		Wachs	<LOD	6	<LOD	<LOQ	
50 µg/kg CLO		Bienenbrot	1.7	6	<LOQ	2.6	
		Sammlerinnen	<LOD	6	<LOD	<LOQ	
		Futter	11	6	2.3	20	
		Stockbienen	1.5	6	<LOQ	3.3	
		Larven	<LOQ	5	<LOQ	1.4	
		Wachs	<LOQ	5	<LOQ	1.5	

Tab. 9 Anzahl Bienen und Brut nach Abtöten der Völker am Ende des Versuches, 328 Tage nach Versuchsbeginn (in Klammern: N Anzahl der Völker); p: Überschreitungswahrscheinlichkeit ANOVA.

	0 mg L ⁻¹ CLO (5)	0,01 mg L ⁻¹ CLO (3)	0,05 mg L ⁻¹ CLO (5)	p
Bienen	17645	13141	12615	0.601
SD	6320	8457	9659	
Brut	23386	26015	19654	0.755
SD	14221	13254	7856	

2. Verwertung

Es besteht kein Zweifel an der Notwendigkeit des Vorhabens. Global wird von einer Krise der Bestäuber gesprochen. Dadurch ist die Funktionalität unserer Agrarökosysteme gefährdet. Ein massiver Verlust der Artenvielfalt und der Abundanz wird bei bestäubenden Insekten beobachtet. Die Bienenhaltung steht vor großen Problemen. Es gibt eine Überalterung der Bienenhalter. Die Rentabilität der Imkerei ist häufig nicht gegeben mit dem Ergebnis, dass eine ausreichende Bestäubung nicht mehr flächendeckend gewährleistet sein könnte. Das Problem wird dramatisch verschärft durch periodisch wiederkehrende Völkerverluste. In der Meinung vieler galten Pflanzenschutzmittel, insbesondere Neonikotinoide, als bedeutende Verlustursache. Die Schäden seien direkt und akut, aber auch schleichend durch eine chronische Einwirkung geringer Mengen entstanden. Hier hat das Vorhaben wissenschaftlich fundierte Argumente zur Debatte beigetragen. In Anbetracht der Bedeutung der Honigbiene als Bestäuber landwirtschaftlicher Nutzpflanzen kann deshalb kein Zweifel an der Notwendigkeit des Vorhabens bestehen.

Die im Erfolgskontrollbericht unter III.2 ausführlich dargestellte, in Zukunft zu erwartende Nutzwirkung des Vorhabens ist bereits jetzt erkennbar: Hauptsächlich ist eine Objektivierung der Debatte um Verlustursachen von Bienenvölkern zu erwarten. Der Bienenhalter wird seine Aufmerksamkeit auf wahre, wissenschaftlich abgesicherte Verlustursachen richten. Dies eröffnet dem Imker solide Handlungsoptionen und evidenzbasierte Strategien im Umgang mit Todesursachen. Dadurch wird die Bienenhaltung gesichert. Beträchtlicher gesellschaftlicher Nutzen entsteht aus den wissenschaftlich-fundierten Erkenntnissen, die die politischen Rahmenbedingungen beeinflussen werden. Die durch das Thema Pflanzenschutz konfliktgeladene Situation zwischen Landwirtschaft und Bienenhaltung wird entspannt.

3. Erkenntnisse von Dritten

Wesentliche Fortschritte mit Bezug zu dem Vorhaben bei anderen Stellen sind uns nicht bekannt. Zu verweisen ist aber auf Volumen 1 des beebook. Dort ist der aktuelle Stand der Technik dargestellt. Es wurde während der Förderperiode veröffentlicht (www.coloss.org/beebook/1).

DIETEMANN, V; ELLIS, J D; NEUMANN, P (EDS) (2013) The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for *Apis mellifera* research. International Bee Research Association; Cardiff, UK. 636 pp. ISBN 978-0-86098-274-6.

4. Veröffentlichungen

Internetdarstellungen:

Auf der fitbee-homepage wurde über die Arbeiten und die Ergebnisse berichtet (<http://fitbee.net/modul1>).

Transfer der Ergebnisse zur behördeninternen Verwendung:

- Long-term performance of honeybee colonies exposed to Clothianidin Siede, R.; Meixner, M.D., Almanza, M. T., Schoening, R.; Büchler, R. in: EFSA (European Food Safety Authority), 2015. Open call for new scientific information as regards the risk to

bees from the use of the three neonicotinoid pesticide active substances clothianidin, imidacloprid and thiamethoxam applied as seed treatments and granules in the EU. EFSA Supporting publication 2015:EN-903.

- The Neonicotinoids Thiacloprid, Imidacloprid, and Clothianidin affect the Immunocompetence of Honey Bees (*Apis mellifera* L.). Annely Brandt, Anna Gorenflo, Reinhold Siede, Marina Meixner, Ralph Buechler in: EFSA (European Food Safety Authority), 2015. Open call for new scientific information as regards the risk to bees from the use of the three neonicotinoid pesticide active substances clothianidin, imidacloprid and thiamethoxam applied as seed treatments and granules in the EU. EFSA Supporting publication 2015:EN-903.

Konferenzbeiträge /Zusammenfassungen und Vorträge für die interessierte Öffentlichkeit:

- 27.03. - 29.03.2012; 59. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Bonn, Vortrag: Effects of chronically administered sublethal thiacloprid doses on the vitality of honeybee colonies. R. Siede, L. Faust, C. Maus, B. Grünewald, R. Buechler
- ebenda: Poster: Sublethal effects of pesticides on honey bees - impact on the vitality of whole bee colonies? L. Faust, R. Siede, C. Maus, R. Buechler, B. Grünewald
- 06.06.2012: Exkursion der Studierenden der Justus Liebig Universität Giessen im Rahmen des Profilmoduls „biologische Schädlingsbekämpfung“
- 16.08.2012: Standbesuch mit Studierenden des internationalen Kurses „Beekeeping for Poverty Alleviation“ der Universität Gent (Prof. Dr. Jacobs).
- 02.09.2012: Bütgenbach, Worriken, Belgien, Internationalen Imkertagung der Eifel-Ardennen-Vereinigung, Bienen und Pestizide: Gibt es eine schleichende Schädigung durch geringe, nicht- tödliche Pestizidmengen?
- 3. – 7. 9. 2012, Eurbee 5 Halle, "Dose and duration - what makes the poison? Performance of thiacloprid exposed bee colonies in a long-term trial."
- 11.12.2012: Arbeitskreis Bienenhaltung im Bieneninstitut Kirchhain mit Vertretern des Landesverbandes hessischer Imker und des hessischen Ministeriums für Umwelt, Energie, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, (Herr Dr. Heinz).
- 26.02.2013: Fachbeirat des Bieneninstituts Kirchhain mit Vertretern der Imkerverbände, des Freundeskreises und des hessischen Ministeriums für Umwelt, Energie, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, (Frau Scharf).
- 19.03.2013 AG Bienenschutz Würzburg, Vortrag: „Zum Problem der statistischen Auswertung von Pflanzenschutzmittelversuchen an Bienenvölkern im Feldversuch am Beispiel einer Langzeitüberprüfung von Thiacloprid – Sind Bienenvölker als Replikate oder Pseudoreplikate zu betrachten?“ Siede, R.; Gladbach, D.; Faust, L.; Maus, C.; Meixner, M.; Grünewald, B.; Buechler, R.
- 19.03.2013 - 21.03.2013: 60. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Würzburg, Vortrag: „Zwischenergebnisse eines

- Langzeitfeldversuches mit Bienenvölkern, die mit 200 oder 2000 ppb Thiacloprid haltigen Zuckersirup gefüttert wurden.“ Siede, R.; Faust, L.; Meixner, M., Grünewald, B., Büchler, R.
- 14.04.2013 Besuchertag LLH Bieneninstitut Kirchhain Vortrag: „Das FitBee-Projekt und die Gefährdung von Bienen durch Neonicotinoide“ Vortragender: R. Siede
 - 12.06.2013: Institut für angewandte Entomologie Giessen, Studentenexkursion nach Kirchhain: „Auswirkungen chronischer Verfütterung subletaler Thiaclopridmengen auf die Vitalität von Bienenvölkern“ Vortragender R. Siede
 - 16. -17.09.2013 Fischermühle, Rosenfeld: Subletale Effekte von Neonicotinoiden auf das Verhalten und die soziale Organisation von Bienen. „Wirkung der Neonicotinoide auf das Nervensystem der Biene“, Vortragender B. Grünewald
 - 29.09.2013 – 04.10.2013. 43. Apimondia Kongress: Posterpräsentation: „An Interim report of a field trial assessing side-effects of a Neonicotinoid Insecticide: Does a Chronic Exposure to Sub-lethal Doses of Thiacloprid affect Bee-Colonies?“ Siede R., Faust L., Meixner M., Maus C., Grünewald B., Büchler R.
 - 19.10.2013 Schulungs- und Informationsveranstaltung für Imker-Vereinsvorsitzende des Landesverbandes Hessische Imker in Grünberg: „Projekt Fitbee – Bienenverträglichkeit von Thiacloprid“ Vortragender R. Siede
 - 10.12.2013 Vortrag beim Arbeitskreis Bienenhaltung im Bieneninstitut Kirchhain mit Vertretern des Landesverbandes hessischer Imker und des hessischen Ministeriums für Umwelt, Energie, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, (Herr Dr. Heinz).
 - 11.12.2013 Kirchhain, Exkursion der Pflanzenschutzberater nach Kirchhain, Vortrag:“Raps: Blütenbehandlung -Projekt Fitbee – Bienenverträglichkeit von Thiacloprid“ Vortragender R. Siede
 - 12.12.2013 runder Tisch Julius Kühn Institut Braunschweig, Vortrag „TOP 7.: Projekt Fitbee – Bienenverträglichkeit von Thiacloprid“ Ein Teamprojekt der Bieneninstitute Oberursel, Kirchhain und der Firma BayerCropScience AG. Siede, R.; Faust, L.; Maus, C.; Meixner, M.; Grünewald, B.; Büchler, R.
 - 19.01.2014: NABU Fachsymposium Wetzlar, Vortrag: Wie gefährlich sind Neonicotinoide für Honigbienen? Siede, R.; Faust, L.; Maus, C.; Meixner, M.; Grünewald, B.; Büchler, R.
 - 22. – 24.01.2014, Symposium: The Impact of Pesticides on Bee Health. London, British Ecological Society, Biochemical Society, Society for Experimental Biology, Posterbeitrag: Are bee colonies affected by a chronic exposure to sublethal doses of thiacloprid? Siede, R.; Faust, L.; Maus, C.; Meixner, M.; Grünewald, B.; Büchler, R.
 - 09. – 11.09.2014: 6. Eurbee, Murcia, Spanien; Vortrag: Testing Thiacloprid: Does a long-term exposure affect bee colonies? Siede, R.; Faust, L.; Maus, C.; Meixner, M.; Grünewald, B.; Büchler, R.
 - 08.10.2014: AK Pflanze und Biene, Kirchhain, Vortrag: Clothianidin Versuch; Fitbee. Siede, R. u. a.

- 24.03.2015 - 26.03.2015: 62. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Münster, Vortrag: „Performance of Honeybee Colonies after Long-term Exposure to Clothianidin-treated Food; Leistungsfähigkeit von Honigbienenvölkern nach Langzeitfütterung mit Clothianidin –behandelter Nahrung“. Siede, R., Meixner, M., Almanza, M. T., Büchler, R.
- ebenda: “The impact of thiacloprid, imidacloprid and clothianidin on individual honey bee immunity. Der Einfluss von Thiacloprid, Imidacloprid und Clothianidin auf die Immunkompetenz von Honigbienen“ Brandt, A.; Siede, R., Meixner, M., Büchler, R.
- 19.04.2015: Besuchertag Bieneninstitut Kirchhain: Poster Clothianidin – Eine Gefahr für Bienen? Siede, R; Meixner, M; Almanza, M-T.; Büchler, R.
- 03. -07.05.2015: Barcelona, SETAC Europe 25th Annual Meeting Environmental protection in a multi-stressed world: challenges for science, industry and regulators. Vortrag: Long-term exposure of honeybee colonies with thiacloprid: a field study. Siede, R.; Faust, L.; Maus, C.; Meixner, M.; Grünewald, B.; Büchler, R.
- 06.10.2015: AK Pflanze und Biene, Kirchhain, Vortrag: Leistungsfähigkeit von Honigbienenvölkern nach Langzeitfütterung mit Clothianidin –behandelter Nahrung. Siede, R; Meixner, M; Almanza, M-T.; Büchler, R.

Artikel in Druckmedien & wissenschaftliche Publikationen:

- Siede, R., Faust L. (2012): Ist Thiacloprid für Bienen auf Dauer ungefährlich? Biene/ADIZ/Imkerfreund 148 (6), 14
- Siede, R. (2012): Am besten ganz ohne Pflanzenschutzmittel! Biene/ADIZ/Imkerfreund 148 (8), 35
- Siede, R.(2013): Diskussion muss sachlich sein – Hessische Bieneninstitute prüfen Thiacloprid-Langzeitwirkung. Landwirtschaftliches Wochenblatt (34), 28-29
- Büchler, R. (2013) „Neues aus Kirchhain. Ein kurzer Überblick aus dem Jahresbericht des LLH Bieneninstitut Kirchhain“. Die Biene Heft 4 S. 22
- Siede, R; Faust, L. (2014): "Insektizide im Raps; Wie gefährlich ist Thiacloprid für Bienen?". Deutsches Bienenjournal 22 (5), S. 6-7.
- Brandt, Anneli; Gorenflo, Anna; Siede, Reinhold; Meixner, Marina; Büchler, Ralph. "The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.)". Journal of Insect Physiology 2016 86, S. 40-47.
- Siede, Reinhold; Faust, Lena; Meixner, Marina; Maus, Christian; Grünewald, Bernd; Büchler, Ralph: Performance of bee colonies under a long-lasting exposure to sub-lethal concentrations of Thiacloprid. Pest Management Sci (*in Vorbereitung*).