

Jens Pistorius

Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

Vergiftungen von Honigbienen
(*Apis mellifera* L.) durch
insektizidhaltigen Staubabrieb
beim Anbau von Raps und Mais



Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut

Kontakt/Contact:

Dipl.-Agr. Biol. Jens Pistorius
Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland
Messeweg 11/12
38104 Braunschweig
E-Mail: jens.pistorius@julius-kuehn.de
Tel : 0049- (0)531 299-4525
Fax : 0049- (0)531 299-3008

Die Schriftenreihe „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ veröffentlicht Doktorarbeiten, die in enger Zusammenarbeit mit Universitäten an Instituten des Julius Kühn-Instituts entstanden sind

The publication series „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ publishes doctoral dissertations originating from research doctorates completed at the Julius Kühn-Institut (JKI) either in close collaboration with universities or as an outstanding independent work in the JKI research fields.

Der Vertrieb dieser Monographien erfolgt über den Buchhandel (Nachweis im Verzeichnis lieferbarer Bücher - VLB) und OPEN ACCESS im Internetangebot www.julius-kuehn.de Bereich Veröffentlichungen.

The monographs are distributed through the book trade (listed in German Books in Print - VLB) and OPEN ACCESS through the JKI website www.julius-kuehn.de (see Publications)

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Die Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut erscheinen daher OPEN ACCESS.
Alle Ausgaben stehen kostenfrei im Internet zur Verfügung:
[http:// www.julius-kuehn.de](http://www.julius-kuehn.de) Bereich Veröffentlichungen

We advocate open access to scientific knowledge. Dissertations from the Julius Kühn-Institut are therefore published open access. All issues are available free of charge under [http:// www.julius-kuehn.de](http://www.julius-kuehn.de) (see Publications).

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek (German National Library)

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.dnb.de>.

ISBN 978-3-95547-031-9
DOI 10.5073/dissjki.2016.003

Herausgeber / Editor

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany

© Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen sowie der genannten Universität, 2016.
Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersendung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf fotomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

Aus der Professur für Phytomedizin
der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät

**Vergiftungen von Honigbienen (*Apis mellifera* L.) durch
insektizidhaltigen Staubabrieb beim Anbau von
Raps und Mais**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Agrarwissenschaften (doctor agriculturae)

**an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Rostock**

vorgelegt von
Dipl.Agr.-Biol. Jens Pistorius, Braunschweig

Rostock, den 7.10.2015

Gutachter:

1. Gutachterin:

PD. Dr. habil. Christine Struck

Universität Rostock - Institut für Landnutzung, Phytomedizin

2. Gutachter:

PD. Dr. habil. Peter Rosenkranz

Universität Hohenheim – Landesanstalt für Bienenkunde

3. Gutachter:

Prof. Dr. Robert Paxton

Universität Halle-Wittenberg – Institut für Biologie, Allgemeine Zoologie

Datum der Einreichung: 7. Oktober 2015

Datum der Verteidigung: 8. März 2016

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Bienenschäden und Bienenvergiftungen.....	2
1.2	Problemstellung und Ziel der Arbeit.....	4
2	Hintergrund und Stand des Wissens	6
2.1	Rechtliche Rahmenbedingungen für die Prüfung, Risikobewertung, Zulassung und Anwendung von Saatgutbeizungen als Pflanzenschutzmittel.....	10
2.1.1	Prüfverfahren zur Einschätzung der Risiken einer Staubabdrift für Honigbienen	10
2.1.2	Die Bienenschutzverordnung und Risikominimierungsmaßnahmen zur Anwendung bienengefährlicher Pflanzenschutzmittel	12
2.1.3	Rechtliche Rahmenbedingungen in Deutschland und Europa: Zulassung von Neonikotinoiden als Saatgutbeizung.....	12
2.2	Auswirkungen der Neonikotinoide Imidacloprid, Clothianidin, Thiamethoxam auf Bienen	14
2.3	Exposition von Bienen durch Kontakt und Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln	15
2.3.1	Exposition von Bienen durch Emission von Beizstaubabrieb während der Aussaat....	17
2.3.2	Abriebfestigkeit von Saatgutbeizungen	19
2.4	Bienenvergiftungen durch Neonikotinoide und insektizide Beizstaubabdrift	21
3	Material und Methoden	29
3.1	Feldversuche mit Aussaat von Mais und Raps, Abdrift und Exposition von Bienen (Halbfreiland- und Freilandversuche).....	29
3.1.1	Messung der Beizqualität des Versuchssaatguts.....	29
3.1.2	Aufbau, Ablauf und Durchführung der Abdriftversuche.....	32
3.1.3	Rückstandsmessungen in Nachbarflächen: Petrischalen, Blüten und Gesamtpflanzen	35
3.1.4	Analyse der Auswirkungen auf Bienen, Rückstände in Bienen und Pollen.....	37
3.2	Halbfreiland- und Freilandversuche mit Ausbringung definierter Staub- und Wirkstoffmengen	40
3.2.1	Manuelle Ausbringung definierter Staub- und Wirkstoffmengen im Halbfreiland.....	41
3.2.2	Maschinelle Ausbringung definierter Staub- und Wirkstoffmengen im Freiland	43
3.3	Statistische Auswertung.....	45
4	Ergebnisse	46
4.1	Aussaatversuche mit Mais	46
4.1.1	Rückstände in Petrischalen und Blüten in Nichtzielflächen	46
4.1.2	Auswirkungen der Beizstaubabdrift auf Mortalität von Bienen	48
4.1.3	Rückstände in toten Bienen, Nektar und Pollen nach Beizstaubabdrift	57

4.1.4	Auswirkung der Beizstaubabdrift auf Volkstärke und Brutentwicklung.....	61
4.2	Aussaatsversuche mit Raps	63
4.2.1	Rückstände in Nichtzielflächen	63
4.2.2	Rückstände in toten Bienen, Nektar und Pollen nach Beizstaubabdrift	72
4.2.3	Auswirkung der Beizstaubabdrift auf Volkstärke und Brutentwicklung.....	74
4.3	Zusammenfassende Betrachtung der Abdriftversuche mit Raps und Mais	77
4.3.1	Rückstände in Nichtzielflächen	77
4.3.2	Mortalität.....	80
4.3.3	Rückstände in toten Bienen, Nektar und Pollen	83
4.4	Manuelle und maschinelle Ausbringung definierter Wirkstoffmengen und Vergleich der Auswirkungen auf Bienen in Halbfreiland- und Freilandversuchen	84
4.4.1	Manuelle Staubausbringung definierter Wirkstoffmengen und Auswirkung auf Bienen im Halbfreiland.....	84
4.4.2	Vergleich der Auswirkungen auf Bienen nach manueller Staubausbringung und Spritzmittelapplikation im Halbfreiland	86
4.4.3	Maschinelle Ausbringung definierter Wirkstoffmengen und Auswirkungen auf Bienen im Freiland	88
5	Diskussion	93
5.1	Bewertung der Prüfverfahren mit feldrealistischer Abdrift und gezielter Applikation wirkstoffhaltigen Beizstaubs in Halbfreiland- und Freilandversuchen.....	93
5.2	Rückstände in Nichtzielflächen nach Mais- und Rapsaussaat	100
5.3	Exposition von Bienen über Kontakt und Rückstände in Nektar und Pollen	103
5.4	Auswirkungen insektizider Stäube auf Bienen	107
5.5	Bewertung der Rückstände im Totenfall	118
5.6	Einschätzung des Risikos einer Bienenvergiftung während Raps- und Maisaussaat .	121
5.7	Weiterer Forschungsbedarf	126
6	Fazit und Ausblick	129
7	Zusammenfassung.....	133
8	Literatur- und Quellenverzeichnis	134
9	Thesen	147
	Erklärung.....	150
	Wissenschaftlicher Lebenslauf.....	151
	Danksagung.....	153
	Anhang

Fachspezifisches Abkürzungsverzeichnis

AA	After Application / Nach Applikation
Abb.	Abbildung
as	Aktive Substanz (Pflanzenschutzmittelwirkstoff)
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
DAA	Days after Application/ Tage nach Applikation
DBA	Days before Application / Tage vor Drillvorgang
EC	European Commission (DG Sanco)
EFSA	European Food Safety Agency (Europäische Lebensmittelsicherheits- behörde)
ETR	Exposure-Toxicity-Ratio
EPA	Environmental Protection Agency
EPPO	European Plant Protection Organisation
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
EU	Europäische Union
GD	Guidance Document
HQ	Hazard Quotient, Gefährdungsquotient
HBG	Heubach-Wert g
HBWG	Wirkstoffgehalt in Heubach-Abriebstaub in %
HBAS	Heubach g Wirkstoff/ha
ICPPR	International Commission Plant-Pollinator Relationships
JKI	Julius Kühn-Institut
LD ₅₀	Letale Dosis 50 (Dosis, bei der 50% der Versuchstiere sterben)
LC ₅₀	Letale Konzentration 50
MW	Mittelwert
NOEC	No observed effect concentration
NOER	No observed effect rate
LOEC	Lowest observed effect concentration
LOER	Lowest observed effect rate
PMRA	Pest Management Regulatory Authority
PS	Petrischalen
PSM	Pflanzenschutzmittel
StdAbw	Standardabweichung
Tab.	Tabelle

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Anwendungen von Neonikotinoiden Imidacloprid, Thiamethoxam, Clothianidin und potentielle Exposition und Zeiträume (Aussaat/Abdrift, Guttation, Nektar/Pollen, Spritzung, Läuse, Honigtau) (Pistorius, unveröffentlicht)	17
Abb. 2 Wirkstoffhaltige Beizstaubpartikel im Honigmagen von durch Staubpartikel vergifteten Bienen 2008, Foto: K. Wallner	18
Abb. 3 Wirkstoffhaltige Beizstaubpartikel in Pollenhöschchen von durch Staubabdrift vergifteten Bienen 2008 Foto: K. Wallner	18
Abb. 4 Bienenvergiftungen in Deutschland in den Monaten Januar bis Dezember im Zeitraum 2009-2014 mit Nachweis von Clothianidin (a), Thiamethoxam (b), Imidacloprid (c). Primärachse: Anzahl Schadfälle (a: 39, b: 5, c: 17), Anzahl geschädigter Imker (a: 59, b: 8, c: 23); Sekundärachse: Anzahl als geschädigt gemeldeter Bienenvölker (a: 462, b: 87, c: 369) (Pistorius, unveröffentlicht).....	24
Abb. 5 Heubach-Dustmeter zur Bestimmung der Abriebfestigkeit von behandeltem Saatgut (Foto: U. Heimbach, JKI)	30
Abb. 6 Heubach-Filter nach der Prüfung der Abriebfestigkeit von zwei Maissaatgutpartien. Links: „schlechtere“ Beizqualität, hoher Heubachwert; rechts: „bessere“ Beizqualität, niedriger Heubach-Wert (Foto: U. Heimbach, JKI).....	30
Abb. 7 Aufbau Abdriftversuche 2011-2014: Staubabdrift während Aussaat in Versuchen mit Mais- und Rapsaussaat (Mittelstreifen) auf benachbarten blühenden Raps oder Senfbestand. Windabgewandter blühender Bestand diente als Kontrolle, windzugewandter, kontaminierter Bestand als Treatment. Je 3 Bienenvölker in Zelten (Δ) oder Freiland (B) und mindestens 3 Expositionsmessflächen auf blankem Boden und im blühenden Bestand für Petrischalen (PS)- und Pflanzenproben (P) je Variante. (Grafik: Pistorius, unveröffentlicht).....	34
Abb. 8 Versuchszelte mit Bienenvölkern und blühenden Kulturpflanzen für Halbfreilandversuche mit manueller Applikation von Beizstäuben.....	42
Abb. 9 Rückstände in Petrischalen mit Filterpapier in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Maisaussaat 2010-2012, Variante Treatment. Mindestens 3 Petrischalen pro Abstand, je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.	47
Abb. 10 Rückstände im benachbarten blühenden Rapsbestand in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Maisaussaat 2010-2012, Variante Treatment. Mindestens 3 Pflanzenproben pro Abstand, je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.	48
Abb. 11 Tageweiser Vergleich der mittleren Anzahl toter Bienen in Totenfallen je Volk und Variante (Remote, Kontrolle, Treatment: jeweils n=3) im Freiland (a, c, e) und (Kontrolle, Treatment: jeweils n=3) Halbfreiland (b, d, f) an Tagen vor (-) und nach (+) Maisaussaat 2010 (a, c), 2011 (b, d*) und 2012 (e, f), MW und StdAbw. Rückstände im Totenfall siehe Abb. 12.....	54
Abb. 12 Rückstände in toten Bienen aus Totenfallen in Freiland (a,b,c) und Halbfreiland (d,e,f) nach Maisaussaat 2010 (a, b), 2011 (c, d) und 2012 (e, f). Proben für Analysen pro Variante und Tag gepoolt; an Tagen ohne Fehlerbalken wurde 1 Probe je Termin analysiert. Fehlerbalken: Einzelwerte oder MW mit StdAbw. Totenfall siehe Abb. 11.....	60

Abb. 13 Rückstände in Petrischalen mit Filterpapier, in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Rapsaussaat 2011-2014. Je min. 3 PS pro Abstand, Mittelwert je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.	64
Abb. 14 Rückstände im benachbarten blühenden Senfbestand in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Rapsaussaat 2011-2014/2, Variante Treatment. Mindestens 3 Proben je Abstand, je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw. .	65
Abb. 15 Tageweiser Vergleich der mittleren Anzahl toter Bienen in Totenfallen je Volk und Variante (Remote, Kontrolle, Treatment: jeweils n=3) im Freiland (a, c, e, g) und (Kontrolle, Treatment: jeweils n=3) Halbfreiland (b, d, f, h) an Tagen vor (-) und nach (+) Rapsaussaat 2011 (a, b), 2013 (c, d), 2014/1 (e, f) und 2014/2 (g, h), MW und StdAbw. .	69
Abb. 16 Mittlere Rückstände in Raps- oder Senfblüten im benachbarten Bestand nach Aussaat von Raps und Mais im Abstand 0,15 m bis 5 m Entfernung zur gesäten Fläche. MW und StdAbw.....	78
Abb. 17 Rückstände im Gesamtbestand in 0,15 m Entfernung und Mittelwert der Messpunkte in 0,15 m, 1 m, 3 m und 5 m Abstand zur gesäten Fläche. MW und StdAbw.	78
Abb. 18 Summe toter Bienen in Totenfallen je Volk und Behandlungsvariante, im Zeitraum null bis 7 Tage nach Aussaat in Halbfreiland- und Freilandversuchen mit Maisaussaat 2010, 2011 und 2012 sowie Rapsaussaat 2011, 2013, 2014/1 und 2014/2. Statistische Auswertung der Daten siehe Tab. 8; Tab. 10 sowie im Anhang.....	80
Abb. 19 Lineare Regression der im Zeitraum null bis 7 Tage aufsummierten Mortalität einzelner Völker in Halbfreilandversuchen und des Heubach g as/ha – Werts des Versuchssaatguts	82
Abb. 20 Mittlere Mortalität adulter Bienen je Volk und Tag nach Applikation 1,0/2,0 g as Clothianidin (a): 3 Tage vor bis 7 Tage nach Applikation (b): 21-44 Tage nach Applikation. 1 Tag vor Probenahme an Tag 20, 32 und 39 wurden die Totenfallen geleert. An nicht dargestellten Tagen erfolgte keine Probenahme. MW und StdAbw.	85
Abb. 21 Anzahl toter Bienen je Volk 3 Tage vor bis 7 Tage nach Applikation Spritzung (TS) , Staubapplikation (TD), Aufwandmenge je 1,0 g as Clothianidin/ha. Kontrolle Wasser (CS), Erdstaub (CD), MW und StdAbw.	86
Abb. 22 Mittlere Anzahl tote Bienen je Volk in Totenfallen nach maschineller Staubapplikation von 0,25 und 1,0 g as/ha im Freiland.	89
Abb. 23 Brutentwicklung im Beobachtungszeitraum: Brutzellen (Σ Eier, Larven, verdeckelte Brut) in je 4 Völkern der Kontrolle, T1 und T2 von der ersten Populationsschätzung 7 Tage vor Applikation (7DBA) mit den Folgeschätzungen der 2. (7 DAA), 3. (14 DAA), 4. (21 DAA), MW und StdAbw.	90
Abb. 24 Rückstände in toten Bienen in Totenfallen nach maschinellen Staubapplikation Freiland. Proben für Analysen von 4 Völkern pro Variante und Tag gepoolt; 1 Probe je Termin und Variante (Kontrolle C, Behandlungen T1 (0,25 g as/ha) und T2 (1,0 g as/ha)	91
Abb. 25 Box-Whisker Plot. Rückstände in eingelagertem Pollen (Bienenbrot) an Tag+7 nach Staubapplikation T1 (0,25 g as/ha) und T2 (1,0 g as/ha) im Freilandversuch.	91

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Bienenschäden durch Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam zwischen 2009 und 2014	23
Tab. 2 Schadfälle mit Neonikotinoiden im Zeitraum der Maisaussaat und Rapsaussaat	25
Tab. 3 In Versuchen mit Maisaussaat und Abdrift auf blühenden Rapsbestand eingesetztes Saatgut	31
Tab. 4 In Versuchen mit Rapsaussaat und Abdrift auf blühenden Senf- oder Rapsbestand eingesetztes Saatgut	32
Tab. 5 Flächen für Aussaat von Mais und Winterraps und benachbarter, blühende Raps- respektive Senfbestand	33
Tab. 6 Angabe zur Prüfsubstanz. Auszug aus dem Datenblatt (2012) des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) für den Wirkstoff Clothianidin ³⁷	
Tab. 7 Mittlere Mortalität und Mortalitätsquotienten im Vergleich des Vor- und Nachaussaatzeitraums und der Varianten Remote (nur Freiland), Kontrolle und Treatment in Versuchen mit Maisaussaat	55
Tab. 8 Statistische Auswertung der Mortalität in Abdriftversuchen mit Maisaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen	56
Tab. 9 Mittlere Mortalität und Mortalitätsquotienten im Vergleich des Vor- und Nachaussaatzeitraums und Varianten Remote (nur Freiland), Kontrolle und Treatment nach Rapsaussaat 2011-2014	70
Tab. 10 Statistische Auswertung der Mortalität in Abdriftversuchen mit Rapsaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen	71
Tab. 11 Analyse der Bestimmtheitskoeffizienten (R^2) zwischen Beizqualität und Rückständen in Nichtzielflächen: n=7, (keine Daten für Bestand 2014/1; n=6)	79
Tab. 12 Analyse der Bestimmtheitskoeffizienten (R^2) zwischen HBAS und Bienenmortalität im Halbfreiland und Freiland	82
Tab. 13 Berechnung der 3-D PEC in Nichtzielflächen als Basis für Versuche mit gezielter Ausbringung definierter Wirkstoffmengen	125

1 Einleitung

Die im Mediendiskurs als „Bienensterben“ bezeichneten Bienenvergiftungen haben in der Öffentlichkeit und Politik in den letzten zehn Jahren große Aufmerksamkeit erlangt. Seit den Bienenvergiftungen durch wirkstoffhaltige Beizstaubabdrift während der Aussaat von mit Neonikotinoiden gebeiztem Mais im Jahr 2008 (Pistorius *et al.*, 2009) stehen besonders Pflanzenschutzmittel aus der Wirkstoffgruppe der Neonikotinoide im Fokus der Diskussionen. Dass Insektizide im Allgemeinen, aber auch speziell insektizide Stäube hochproblematische Auswirkungen auf die Gesundheit und damit die Resilienz von Bienenvölkern haben können, ist bereits seit über 80 Jahren bekannt: Schon Anfang der 1930er Jahre führte der flächige Einsatz von Arsenstäuben zur Bekämpfung von Schadinsekten zu massiven Schäden an Bienenvölkern (Hilgendorff & Borchert, 1926; Borchert, 1929; Götze, 1929) und in der Folge zur ersten Deutschlandweit gültigen Verordnung zum Schutz der Bienen (Anonymus, 1938).

Über die Ursachen der Schädigung von Bienen und des Sterbens von Bienenvölkern und die Rolle von Pflanzenschutzmitteln wie auch den adäquaten Umgang mit den daraus resultierenden Problemen wird in der Wissenschaft und anderen Fachkreisen immer wieder kontrovers diskutiert. Im Fokus der aktuellen Diskussionen stehen vor allem die hochgradig bienentoxischen Neonikotinoide, deren Anwendung oft pauschal als Hauptursache für das Bienensterben vermutet wird, obwohl es dafür bislang keine Belege gibt (Cresswell *et al.*, 2011; Blaquiere *et al.*, 2012). Die sehr hohe Bienentoxizität und Persistenz dieser als Pflanzenschutzmittel eingesetzten Wirkstoffgruppe steht außer Frage (Schmuck *et al.*, 2003; Iwasa *et al.*, 2004). Bereits sehr geringe Wirkstoffmengen können Bienen schädigen, wenn diese den Wirkstoffen ausgesetzt sind. Die Fragen, wann, in welcher Art und Weise, und wo Bienen mit welchen Wirkstoffmengen in Kontakt kommen können sowie die Frage, bzw. ob und inwiefern Bienen geschädigt werden erfordert umfangreiche und differenzierte Analysen des potentiellen Risikos für Bienen für verschiedene Anwendungen von Neonikotinoiden als Pflanzenschutzmittel.

Honigbienen spielen eine Schlüsselrolle für die Bestäubung von Kultur- und Wildpflanzen (Sprengel, 1793) und erfüllen damit nicht nur wichtige ökosystemare Funktionen, sondern haben auch eine große wirtschaftliche Bedeutung: 87 der 115 wichtigsten Kulturpflanzenarten, die 35-40% der globalen Nahrungsmittelproduktion ausmachen, sind auf Bestäuber angewiesen (Klein *et al.*, 2007) und die Honigbiene gilt als weltweit wichtigste Kulturpflanzenbestäuberin (McGregor, 1976; Klein *et al.*, 2007). Honigbienen gelten durch ihre Lebensweise mit Überwinterung als Volk und die damit einhergehende sehr hohe Anzahl an blütenbestäubenden Sammelbienen als sehr effiziente Bestäuber. Ihnen werden 85% (Corbet *et al.*, 1991), bei Obstblüten sogar 90% der Bestäubungsleistung zugeschrieben (Mantinger, 1998). Neben Honigbienen haben auch andere, zur Familie der echten Bienen (Apidae, Überfamilie Apoidea, Ordnung Hautflügler) zählenden Bienen wie Solitärbienen

und Hummeln eine hohe Bedeutung als Bestäuber von Kultur- und Wildpflanzen (Garibaldi *et al.*, 2013).

Aus ökonomischer Perspektive sind positive Auswirkungen der Insektenbestäubung auf Erntemengen, Produktqualität und Nährwert durch eine Vielzahl an Veröffentlichungen nachgewiesen (Hoehn *et al.*, 2008; Mandl & Sukopp, 2011; Garibaldi *et al.* 2011b; Bommarco *et al.*, 2012; Garratt *et al.*, 2014a & 2014b). Der wirtschaftliche Nutzen der Bestäubungsleistung durch Insekten wird weltweit auf 153 Milliarden Euro (Gallai *et al.*, 2009), und europaweit auf jährlich etwa 15 Milliarden Euro geschätzt (Leonhardt *et al.*, 2013). Bei einem Rückgang der Honigbienen- und anderer Bestäuberpopulationen besteht das Risiko, dass eine ausreichende Bestäubung von Kultur- und Wildpflanzen nicht mehr gewährleistet werden kann (Watanabe, 1994; Allen-Wardell, 1998; Breeze *et al.*, 2014). Aufgrund der ökonomischen und ökologischen Bedeutung der Bestäubungsleistung hat daher der Schutz der Bienen innerhalb des Pflanzenschutzes in Deutschland eine besondere Bedeutung, auch im Vergleich zu anderen Nützlingen und Nichtzielorganismen. Dies spiegelt sich in der eigens zum Schutz der Bienen erlassenen Bienenschutzverordnung zur Anwendung bienengefährlicher Pflanzenschutzmittel wider.

1.1 Bienenschäden und Bienenvergiftungen

Bienenschäden können grundsätzlich mono- oder multikausal sein und weisen unterschiedliche Symptome und Schadbilder auf. Viele Schadensfälle können anhand einer weitergehenden Ursachenanalyse aufgeklärt werden. Bei Bienenvergiftungen durch Pflanzenschutzmittel (im Folgenden mit PSM abgekürzt) kann das Ausmaß der Schädigung von der Schädigung einzelner Bienen bis hin zum Totalverlust des gesamten Volkes reichen, je nach Wirkstoff und dem Ausmaß der Kontamination. Wenn nur einzelne Bienen letal, also tödlich geschädigt werden, kann das Volk am Leben bleiben und sich in der Regel erholen. Es sind aber auch Fälle mit sehr starker Mortalität bekannt, bei denen die Schädigung nicht mehr kompensiert werden kann, so dass das Volk verendet. Neben letalen Auswirkungen von PSM sind auch zahlreiche verschiedene subletale Effekte auf Bienen bekannt, je nach Art des Effekts mit unterschiedlicher Relevanz für die Einzelbiene und das Bienenvolk. Subletale Schädigungen adulter Bienen oder der Bienenbrut können zu einer Beeinträchtigung der Volksentwicklung, der Vitalität und Widerstandsfähigkeit führen, und dadurch Bienenvölker in ihrer Leistungs- und Überlebensfähigkeit beeinträchtigen (Johanson *et al.*, 1979; Riedl *et al.*, 2006; Pistorius, 2014) und sollten daher im Rahmen der Risikobewertung berücksichtigt werden (Thompson & Maus, 2007).

Es gibt jedoch auch andere Ursachen für das beobachtete „Bienensterben“, vor allem die Überwinterungsverluste: Jedes Jahr überleben zahlreiche Bienenvölker den Winter nicht; die jährlich erhobenen Verluste liegen in der Größenordnung von 10-30% der Völker. Insbesondere seit Einschleppung der parasitischen *Varroa*- Milbe in Europa und Deutschland ist das Risiko für Überwinterungsverluste stark angestiegen, durch Parasitierung und Übertragung

von mit *Varroa* übertragenen Viren angesehen (Rosenkranz. *et al.*, 2010; Genersch *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2010; vanEngelsdorp *et al.*, 2012). Diese Überwinterungsverluste werden im Allgemeinen durch die Vermehrung von Völkern kompensiert (vanEngelsdorp *et al.*, 2011).

Bienenvergiftungen, die in der Regel durch akut erhöhte Mortalität gekennzeichnet sind, sind somit von anderen Faktoren zu unterscheiden, die Einfluss auf die Konstitution von Individuen und gesamten Völkern haben und zu einem Sterben der Völker führen können. So gibt es eine Reihe an Faktoren wie beispielsweise Krankheiten, Parasiten, Nahrungsmangel, die Einzelbienen und Bienenvölker schwächen, und zum Teil auch ähnliche Symptome wie Kontamination mit Pflanzenschutzmitteln bewirken. Die Symptome sind in manchen Fällen äußerlich nur schwer zu unterscheiden und ohne weitergehende Analysen nicht zu klären. Bienenvergiftungen durch die für Bienen hochtoxischen Neonikotinoide Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid oder andere für Bienen toxische Wirkstoffe können auftreten, wenn die Wirkstoffe durch direkte Spritzung, Staub- oder Spritzabdrift in relevanten Mengen auf Blüten oder Honigtau gelangen.

In Deutschland wurden Neonikotinoide als insektizide Saatgutbeizung in Kulturen wie Raps und Zuckerrüben schon seit dem Jahr 2000 ausgebracht. Bereits wenige Jahre nach Einführung wurden Neonikotinoide in diesen Kulturen fast flächendeckend in Deutschland genutzt, ohne dass Bienenvergiftungen auf diese konkreten Anwendungen zurückgeführt werden konnten (Seefeld *et al.*, 2006). Bereits 2003 belegten Greatti *et al.* dass geringe Wirkstoffmengen bei der Aussaat von gebeiztem Saatgut in die Umwelt gelangen können und stellten ein potentiell Risiko für Bienen fest. Allerdings war bis 2008 nicht empirisch belegt, dass Bienen unter feldrealistischen Bedingungen auch durch Abrieb und Staubabdrift während der Aussaat von mit Insektiziden gebeizten Kulturen mit so hohen Wirkstoffmengen in Kontakt kommen, dass sie vergiftet werden können.

Wirkstoffhaltige Beizmittelabdrift während der Aussaat von Mais führte erstmalig im Jahr 2008 zu stark erhöhter Mortalität und massiven Bienenvergiftungen. Mit etwa 12500 geschädigten Völkern wurde die höchste Anzahl an Bienenvergiftungen durch PSM in Deutschland den letzten 30 Jahren gemeldet (Pistorius *et al.*, 2009). Auch in anderen Ländern wurden Bienenvergiftungen nach Aussaat von mit Neonikotinoiden gebeiztem Mais und Abdrift von Beizmittelstäuben festgestellt (Apenet, 2009; van der Geest, 2012; Girsch & Moosbeckhofer, 2012; PMRA, 2013). Durch diese Schadfälle wurde die grundsätzliche Relevanz des Expositionspfad wirkstoffhaltiger Staubabdrift während der Aussaat gebeizten Saatguts erkannt, der zuvor nicht im Rahmen der Risikobewertung von PSM beachtet wurde. Über die Neonikotinoide hinaus ist Staubabdrift grundsätzlich auch für alle anderen Beizungen mit für Bienen toxischen Wirkstoffen zu berücksichtigen und gegebenenfalls auch für andere Organismen wie beispielsweise aquatische Organismen von Bedeutung.

1.2 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Bienen können PSM-Wirkstoffen in sehr unterschiedlichem Ausmaß über orale Aufnahme oder Kontakt ausgesetzt sein. Die in dieser Arbeit untersuchten für Bienen hochtoxischen Neonikotinoide werden als Saatgutbeizungen in verschiedenen Kulturen eingesetzt, wie Mais, Raps, Zuckerrübe, Getreide und in diversen Sonderkulturen. Da Neonikotinoide systemisch sind, können am Saatgut angebeizte Wirkstoffe über den Saftstrom in Nektar, Pollen und Guttationswasser, eine an den Blatträndern ausgeschiedene Flüssigkeit, gelangen. Staubabdrift während der Aussaat hingegen tritt sowohl bei nicht-systemischen, als auch bei systemischen Mitteln auf.

Wie die zahlreichen dokumentierten Bienenvergiftungen belegen, ist Beizstaubabdrift während der Aussaat ein sehr wichtiger Expositionspfad, der starke Mortalität von Bienen bewirken kann. Bislang gibt es allerdings wenig belastbare Daten über die Entstehung von Beizmittelstäuben nach Aussaat verschiedener Kulturen, den resultierenden Rückständen, der Exposition von und den Auswirkungen auf Bienen. Die Notwendigkeit einer fundierten und differenzierten Betrachtung der Risiken einer Beizstaubabdrift ergeben sich auch aus der aktuellen politischen Frage, ob es in Deutschland zusätzlicher gesetzlicher Regelungen bedarf, um die Risiken für Bienen und andere Bestäuber durch die Anwendung bestimmter Pflanzenschutzmittel zu reduzieren.

Diese Arbeit schießt bestehende Wissenslücken in diesem Kontext und leistet einen Beitrag zu den wissenschaftlichen und gesellschaftspolitischen Diskursen um Bienenvergiftungen durch PSM. Das explizite **Forschungsziel der Arbeit** ist die Untersuchung und die Bewertung der kausalen Zusammenhänge zwischen der durch Abriebfestigkeit und Wirkstoffgehalt der Abriebstäube determinierten Exposition und den empirisch erfassten Auswirkungen wirkstoffhaltiger Beizstaubabdrift bei Aussaat von Raps und Mais auf Honigbienen. Dazu werden auch neue Ansätze einer aussagekräftigen Prüfmethodik entwickelt.

Konkret wird untersucht, wie sich die Risiken der Staubexposition für Honigbienen nach Aussaat der mit Insektiziden gebeizten Kulturen Mais und Raps mit unterschiedlicher „Beizqualität“ unterscheiden. Dafür werden verschiedene neuartige methodische Ansätze für Halbfreiland- und Freilandprüfungen mit Bienen erprobt und eine experimentelle Datenbasis zur Exposition und den Auswirkungen auf Bienen für eine verbesserte Risikoabschätzung für den wissenschaftlichen Kenntniserwerb erarbeitet. Darüber hinaus wird der Zusammenhang zwischen Abriebfestigkeit und Wirkstoffgehalt in Abriebstäuben einer Saatgutbeizung auf der einen Seite, und den Auswirkungen auf Bienen und auftretende Rückstände auf der anderen Seite analysiert.

Auf Basis des im folgenden Kapitel zusammengefassten Standes des Wissens werden dieser Arbeit zwei **Hypothesen** zu Grunde gelegt:

1. Das Risiko negativer Auswirkungen auf Bienen unterscheidet sich für unterschiedliche Beizqualitäten, definiert durch die Staubabriebmenge und den Wirkstoffgehalt im abgeriebenen Staub.
2. Bei der Aussaat von Mais und Raps können Stäube in die Umwelt gelangen und Bienenvergiftungen verursachen. Durch die Auswertung der zur Untersuchung des Verdachts auf Bienenvergiftung eingesandten Bienenschäden können die Risiken einer Bienenvergiftung in der Praxis (unter realitätsnahen Bedingungen bewertet werden).

Um diese forschungsleitenden Annahmen zu überprüfen, sollen folgende Forschungsfragen beantwortet werden:

1. Mit welchen Prüfverfahren kann die Auswirkung von Staubexposition auf Bienen in Halbfreiland- und Freilandversuchen experimentell geprüft werden?
2. Welche Rückstände gelangen in Nichtzielgebiete und in blühende Nachbarkulturen?
3. Welche Auswirkungen haben insektizide Stäube auf Bienen?
4. Welche Zusammenhänge können zwischen empirischen Versuchserkenntnissen zu Effekten auf Bienen sowie Rückständen in Bienen aus Abdriftversuchen mit Mais und Raps und dem Risiko von Bienenvergiftungen in der Praxis unter Berücksichtigung der in Deutschland dokumentierten Bienenvergiftungen nachgewiesen werden?

Die vorliegende Arbeit soll so dazu beitragen, bestehende Wissenslücken über die Auswirkungen durch Staubexposition von Neonikotinoiden mit Schwerpunkt der Auswirkungen auf Honigbienen, deren Exposition und die Eignung verschiedener Methoden für Risikoprüfungen zu schließen. Empirisch belegte Antworten auf die forschungsleitenden Fragen sollen dazu beitragen, die wissenschafts- und politikrelevanten Diskussionen über die Risikoprüfung und Bewertung der Bienengefährlichkeit von Neonikotinoiden als Saatgutbeizungen für verschiedene Kulturen auf eine wissenschaftlich fundierte Grundlage zu stellen.

2 Hintergrund und Stand des Wissens

Der Einsatz von Neonikotinoiden als Pflanzenschutzmittel in der Landwirtschaft und die Vertretbarkeit der Risiken und Nebenwirkungen auf Nichtzielorganismen wie Bienen wird nicht nur in der Öffentlichkeit, sondern auch in Fachkreisen kontrovers diskutiert. Aufgrund der beschriebenen Komplexität der Frage, ob, wie und in welcher Menge Bienen mit Neonikotinoiden konfrontiert werden und welche Effekte aus einer Exposition resultieren, werden in diesem Kapitel die für das Verständnis der Arbeit relevanten Hintergründe zur Anwendung von Neonikotinoiden im Pflanzenschutz, den Auswirkungen auf Bienen und dem Kenntnisstand zu Bienenvergiftungen durch Neonikotinoide dargestellt.

Honigbienen und andere Bestäuber werden mit verschiedenen Schadstoffen in der Umwelt konfrontiert und gelten aufgrund ihrer Sensitivität als gute Anzeiger für eine Umweltkontamination (Bromenshenk *et al.*, 1996; Kevan, 1999; Celli & Macchagnani, 2003). Bei der Sammeltätigkeit können Bienen mit Pflanzenschutzmitteln über verschiedene „Expositionspfade“ konfrontiert werden, wie Kontakt und orale Aufnahme (EFSA, 2012). Honigbienen reagieren empfindlich auf eine Reihe verschiedener Pflanzenschutzmittelwirkstoffe (Thompson, 2003; Barnett *et al.*, 2007). Pflanzenschutzmittel können Bienen je nach Wirkstoff und Exposition eine Reihe von subletalen Schäden wie Verhaltensänderungen (MacKenzie & Winston, 1989; Vandame *et al.*, 1995; Decourtye *et al.*, 2004; Decourtye *et al.*, 2009) oder letale Vergiftungen bewirken. Bestimmte subletale Effekte haben auch das Potential, einen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung und Überlebensfähigkeit von Bienenvölkern zu bewirken (Thompson, 2003). Bei der Analyse von eingelagertem Pollen, dem Bienenbrot, sind häufig Mehrfachrückstände verschiedener Pflanzenschutzmittelwirkstoffe nachweisbar (Mullin *et al.*, 2010; Genersch *et al.*, 2010; Chauzat *et al.*, 2009). In das Volk mit Nektar und Pollen eingetragene PSM können Effekte auf adulte Bienen sowie die Bienenbrut verursachen; nach Eintrag von kontaminiertem Pollen kann ein Verzehr und eine Schädigung auch mit zeitlicher Verzögerung auftreten (Davis, 1989).

Die meisten insektiziden Pflanzenschutzmittelwirkstoffe sind toxisch für adulte Bienen (Pistorius, 2014) und wirken auf die Erregungsleitung im Nervensystem (Johnson *et al.*, 2013). Einige Wirkstoffe beeinflussen aber auch die Chitinsynthese, die Ecdyson- oder Juvenilhormonproduktion und somit die Larvalhäutung oder Ausbildung der Kutikula und stören somit das Wachstum von Schädlingslarven (Tasei, 2001). Diese Wirkstoffe sind häufig nur schwach oder nicht toxisch für adulte Bienen (Tasei, 2001), jedoch toxisch für Bienenlarven und können, wie beispielsweise der Wirkstoff Fenoxycarb, starke Schäden der Bienenbrut bewirken (Davis, 1989). Die meisten bestätigten Bienenvergiftungen sind auf Spritzanwendungen mit für adulte Bienen toxischen Wirkstoffen zurückzuführen (Brasse, 1999; Oomen 1999; Porrini *et al.*, 2003; Seefeld 2006; Barnett 2007; Thompson & Thorbahn, 2009), wie

Organophosphate (z.B. Dimethoat, Malathion, Metamidophos, Chlorpyrifos), Chlorkohlenwasserstoffe (z.B. Endosulfan) N-Methyl Carbamate (z.B. Carbaryl).

Zur Wirkstoffgruppe der Neonikotinoiden zählen die Nitro-substituierten Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid, die für adulte Bienen hochtoxisch sind, und die Cyano-substituierten Wirkstoffe Acetamiprid und Thiacloprid, die als schwach bis mäßig toxisch eingestuft sind (Iwasa *et al.*, 2004). Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Auswirkungen der als Beizung eingesetzten hochtoxischen Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid, die im Folgenden als Neonikotinoide bezeichnet werden. Auch durch die Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam sind Bienenvergiftungen aufgetreten, teilweise in sehr großem Ausmaß (Pistorius *et al.*, 2009). Neonikotinoide gehören inzwischen zu den weltweit meistverkauften Insektiziden (Jeschke *et al.*, 2011) und stellen aus Sicht der Landwirtschaft eine sehr wichtige Wirkstoffgruppe dar. Als grundsätzlich vorteilhaft wird für Neonikotinoide beispielsweise im Vergleich zu Organophosphaten die relativ geringere Warmblüter- und Wirbeltiertoxizität angesehen (Schmuck & Keppler, 2003; Klein, 2003). Die selektive Toxizität beruht auf Unterschieden zwischen den Acetylcholinrezeptoren verschiedener Organismen (Tomizawa & Casida, 2003).

Die Saatgutbeizung mit Neonikotinoiden kontrolliert je nach Kulturart verschiedene Schadorganismen, sowohl nur im unterirdischen Bereich oder nur oberirdisch auftretende Schädlinge. Nur oberirdisch auftretende Schädlinge können zumeist auch durch Spritzanwendungen kontrolliert werden, wenn der Bestand befahrbar ist, was besonders im Herbst witterungsbedingt häufig nicht möglich ist. Bei fast allen Kulturen mit neonikotinoider Saatgutbeizung wird angestrebt, unterirdisch lebende Schadtiere zu kontrollieren, deren Bekämpfung mit anderen Pflanzenschutzmaßnahmen sehr schwierig ist. Da das Auftreten einiger Schädlinge nur schlecht vorhersehbar ist, wird die Saatgutbeizung hauptsächlich als prophylaktische Maßnahme eingesetzt. Der prophylaktische Einsatz wird häufig als Abkehr von den Prinzipien des integrierten Pflanzenschutzes kritisiert (Goulson *et al.*, 2013).

Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid haben ein sehr breites Wirkungsspektrum gegen verschiedene Schaderreger; besonders gute Wirkung wird bei pflanzensaftsaugenden Insekten wie Gleichflüglern (*Homoptera*) und herbivoren Käferarten (*Coleoptera*) in acker- und gartenbaulichen Kulturen erreicht (Jeschke *et al.*, 2003). Die Wirkstoffe dieser Wirkstoffgruppe wirken als Antagonisten für die Acetylcholinrezeptoren im zentralen Nervensystem von Insekten und führen dadurch zu schneller Schädigung (Nauen *et al.*, 2001; Schmuck und Keppler, 2003). Eine Wirkstoffaufnahme in die Pflanze kann sowohl über die Wurzel, als auch über das Blatt erfolgen. Der Wirkstoff wird systemisch akropetal in der Pflanze transportiert und wirkt dann als Fraßgift. Ein gewisser Transport scheint aber auch zumindest in Wurzeln von oben nach unten gegeben zu sein. Auch eine Kontaktwirkung ist gegeben, die bei einigen schädlichen Bodeninsekten oder auch bei Spritzanwendungen von Bedeutung ist. Die Wirkstoffe sind für den Einsatz als Bodeninsektizid zur Saatgutbehandlung sowie als Spritzmittel gegen Schadinsekten in verschiedenen Kulturen geeignet. Die Wirkung gegen Schadin-

sekten ist relativ andauernd. Für Pflanzen ist der Wirkstoff in den vorhergesehenen Dosierungen gut verträglich.

Die Menge der einzelnen Neonikotinoid-Wirkstoffe, die zur Saatgutbehandlung einzelner Kulturen verwendet wird, wird aufgrund von Geschäftsgeheimnissen nur als summarische Absatzmenge für Spritzmittel und Beizungen durch die Zulassungsbehörde, dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) veröffentlicht. In Angaben zur gesamten Absatzmenge von Neonikotinoiden durch das BVL sind alle Mittel/Wirkstoffe mit den Neonikotinoiden Acetamiprid, Clothianidin, Imidacloprid, Thiacloprid und Thiamethoxam berücksichtigt. Die schwach bis mäßig toxischen Wirkstoffe Acetamiprid und Thiacloprid (Iwasa *et al.*, 2004) sind in bienenungefährlichen Spritzmitteln enthalten und in vielen verschiedenen Kulturen zugelassen (BVL, 2014). Sie werden, im Gegensatz zu den hochtoxischen Neonikotinoiden, häufig als Pflanzenschutzbehandlungen in der Blüte eingesetzt (Forster, pers.com.; Glas, pers.com.), und zählen zu den häufigsten im Zeitraum der Rapsblüte gemessenen Rückständen im Bienenbrot (Genersch *et al.*, 2010). Wenngleich der Anteil der verschiedenen Wirkstoffe an den insgesamt abgesetzten Mengen nicht bekannt ist, waren Neonikotinoide bereits vor 2008 im Inland und für den Export die wichtigste Wirkstoffgruppe im Vergleich zu anderen Insektiziden (BVL, 2013).

Insektizidanwendungen im Anbau von Winterraps (*Brassica napus var. napus*)

Im Rapsanbau haben bei den Pflanzenschutzmittelanwendungen die Insektizide eine besondere Bedeutung. Vorherrschende tierische Schädlinge, die mit Saatgutbehandlung bekämpft werden, sind die kleine Kohlflyge (*Delia radicum* L.) und der Rapserrdfloh (*Psylliodes chrysocephala* L.), in geringerem Ausmaß virusübertragende Blattläuse und Bodenschädlinge wie Drahtwürmer (Larven der Schnellkäfer, Familie Elateridae). Die Palette an insektiziden Wirkstoffen ist gering, so dass alle verfügbaren Wirkstoffe genutzt werden müssen, um der Bildung von Resistenzen vorzubeugen (Heimbach, pers.com.). Raps wird häufig mit Pflanzenschutzspritzungen behandelt. Als Maß dient der Behandlungsindex (BI), der die Anzahl von Pflanzenschutzmittelanwendungen auf einer betrieblichen Fläche, in einer Kultur oder in einem Betrieb unter Berücksichtigung von reduzierten Aufwandmengen und Teilflächenbehandlungen darstellt, wobei bei Tankmischungen jedes Pflanzenschutzmittel gesondert gezählt wird (Anonymus, 2008). In Winterraps stieg tendenziell die Intensität der Pflanzenschutzmittelanwendungen im Zeitraum zwischen 2007 und 2012 an, wobei der Behandlungsindex von 5,4 im Jahr 2007 signifikant niedriger lag als in den Folgejahren 2008 (5,9), 2009 (6,4), 2010 (6,4), 2011 (6,7) und 2012 (6,9) (Freier *et al.*, 2013).

Der Anteil des mit Neonikotinoiden gebeizten Rapssaatguts in Deutschland seit 2004 wird auf über 95% geschätzt (Specht pers. com., Baer pers. com.) und lag in den letzten Jahren bei nahezu 100% (Freier *et al.*, 2013). Nach Auskunft der Saatgutbeizstellen gab es seit 2006 einen Wandel in der Nutzung der Wirkstoffe, weg von Imidacloprid hin zu Clothianidin und Thiamethoxam.

Mit einer insektiziden Beizung mit Neonikotinoiden sind verschiedene Schädlinge im Raps, insbesondere solche, die die junge Pflanze schädigen, sehr gut bekämpfbar. Ohne Saatgutbeizung sind teils mehrfache Spritzungen erforderlich, um die Rapsertträge zu sichern. Im Herbst 2014 stieg der Behandlungsindex aufgrund der fehlenden Beizung stark an, etwa fünf Mal mehr Pyrethroide wurden im Herbst im Vergleich zu den Vorjahren gespritzt (Heimbach & Brandes, 2015). Durch die höhere Unsicherheit beim Rapsanbau steigen Landwirte möglicherweise vermehrt auch auf andere Kulturen um. 2014 wurden bereits 81.000 ha, also 6 % weniger Raps ausgesät als 2013; dafür wurden 89.000 ha mehr Winterweizen als im Vorjahr angebaut. Der größte Rückgang des Rapsanbaus wurde 2014 in Niedersachsen mit - 11 %, gefolgt von Bayern mit -10%, Nordrhein-Westfalen mit knapp -9 % sowie Baden-Württemberg, Schleswig-Holstein und Thüringen mit jeweils – 8 % dokumentiert. Lediglich in Rheinland-Pfalz (+ 5 %) und im Saarland (+ 1 %) wurden die Anbauflächen von Winter-raps etwas ausgeweitet (Statistisches Bundesamt, 2014).

Insektizidanwendungen im Anbau von Mais (*Zea mays* L.)

Zielanwendungen der Saatgutbeizungen im Mais sind die Bekämpfung des westlichen Maiswurzelbohrers (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, nachfolgend *Diabrotica* abgekürzt) sowie von Drahtwürmern und der Fritfliege (*Oscinella frit* L.).

Diabrotica ist weltweit gesehen der wirtschaftlich bedeutendste Maisschädling im intensiven Maisanbau (Schwabe *et al.*, 2010), da die Schäden durch *Diabrotica*-Befall an Pflanzen erheblich sein können. Im Sommer 2007 wurde der in der EU als Quarantäneschaderreger eingestufte und meldepflichtige Schädling *Diabrotica* erstmals in Baden-Württemberg im Ortenau- und Bodenseekreis festgestellt, Sicherheitszonen im Ortenaukreis und im Kreis Lörrach ausgewiesen und die flächendeckende Saatgutbehandlung mit Poncho Pro® (125 mg Clothianidin/ha) auf Maisflächen in 2008 offiziell angeordnet (Harmut, 2008). Von rund 2,1 Mio. Hektar der gesamtdeutschen Maisanbaufläche in 2009 sind nach Baufeld & Enzian (2005) etwa 350.000 ha durch den Anbau von Mais nach Mais besonders gefährdet, Tendenz steigend (Schwabe *et al.*, 2010). Erfahrungen aus Süd- und Osteuropa zeigen, dass nur vier bis fünf Jahre nach Erstauftreten des Schädlings im Monomaisanbau mit durchschnittlich 10 bis 30% Ernteausfall gerechnet werden muss (Foltin, 2009). Aus Deutschland sind bis heute keine Meldungen von nennenswerten Ernteausfällen bekannt. Eine starke Zunahme des Befalls konnte durch Eingrenzungsmaßnahmen und die Einführung der Fruchtfolge bislang verhindert werden (BBZ, 2014).

Auch Drahtwürmer, die Larven verschiedener Schnellkäfer (Familie: Elateridae) können mit Neonikotinoiden mittels Saatgutbeizung oder mit der Aussaat ausgebrachten Granulaten bekämpft werden. Drahtwürmer verursachen an verschiedenen Kulturpflanzen, insbesondere Mais, Kartoffeln und Rüben sowie an verschiedenen Pflanzen im Gemüsebau lokal starke Schäden (Vidal & Petersen, 2011). Erhebungen haben ergeben, dass es seit 2009 jährlich Schäden durch Drahtwürmer am Mais (Schäden von mehr als 5% bis zum Totalschaden) auf

etwa 100.000 ha Maisanbaufläche gegeben hat (Heimbach, pers. com.). Bislang sind keine anderen wirksamen Behandlungen gegen den Schädling außer Saatgutbehandlungen oder Granulatanwendungen mit Neonikotinoiden bekannt und zugelassen.

2.1 Rechtliche Rahmenbedingungen für die Prüfung, Risikobewertung, Zulassung und Anwendung von Saatgutbeizungen als Pflanzenschutzmittel

Die Risikobewertung eines Pflanzenschutzmittelwirkstoffs erfolgt zunächst auf europäischer Ebene in einem Wirkstoffprüfverfahren, an dem alle europäischen Mitgliedsstaaten und die europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA) beteiligt sind. Wenn eine sichere Anwendung gemäß EU- Verordnung 1107/2009 (vormals Richtlinie 91/414 EWG) unter Berücksichtigung von Risikominimierungsmaßnahmen möglich ist, wird der Wirkstoff gelistet und in den EU Mitgliedsstaaten können Pflanzenschutzmittel (PSM) mit diesem Wirkstoff grundsätzlich zugelassen werden. PSM, die den auf EU- Ebene genehmigten Wirkstoff enthalten, müssen dann in einem zonalen Verfahren, in dem mehrere EU-Länder einer Zone beteiligt sind, geprüft werden und werden gegebenenfalls in den Ländern dieser Zone zugelassen. Über die endgültige Zulassung eines PSM wird auf nationaler Ebene entschieden, wobei möglichst eine Gleichbehandlung in allen Ländern einer Zone angestrebt wird.

2.1.1 Prüfverfahren zur Einschätzung der Risiken einer Staubabdrift für Honigbienen

Die Auswirkungen von PSM müssen vor einer Zulassung auf nationaler bzw. europäischer Ebene geprüft werden. Die Risikobewertung erfolgt auf Basis der vom Antragsteller zur Bewertung eingereichten Labor-, Halbfreiland und Freilandprüfungen. Sie ist Grundlage für die Festlegung von Risikominimierungsmaßnahmen und der Zulassung von PSM.

Das Prüf- und Bewertungsverfahren erfolgt nach dem international harmonisierten Schema¹ der European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO, der zwischenstaatlichen Organisation europäischer Länder zur Zusammenarbeit im Bereich des Pflanzenschutzes). Dieses besteht aus einer mehrstufigen Herangehensweise, die aus Laborversuchen als erster Prüfstufe, einer Risikoabschätzung und Berechnung von Triggerwerten und gegebenenfalls anschließenden höheren Prüfstufen, den Halbfreilandversuchen in Flugzelten und Freilandversuchen besteht. Zunächst wird die Toxizität jedes Pflanzenschutzmittels nach Prüfrichtlinien der OECD (Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung) festgestellt. Als Referenzwert für die mittlere akute Toxizität gilt die Dosis, bei der 50% der Bienen im Laborversuch nach Aufnahme des PSM als Fraß- bzw. Kontaktgift sterben (LD_{50}). PSM, die im Labor bereits in niedrigen Dosierungen 50% der Bienen töten (niedrige LD_{50}), sind tendenziell bienentoxisch. Um abschätzen zu können, ob Bienen in der Praxis schädlichen Dosierungen eines PSM ausgesetzt sind, wird daher der Schädigungsquotient (Hazard Quotient, HQ) aus der Aufwandmenge (in g/ha) und der LD_{50} (in $\mu\text{g}/\text{Biene}$) berechnet. Alle PSM, bei denen der HQ höher als 50 liegt und bei denen somit ein Risiko für Bienen nicht mit Si-

¹ Environmental Risk Assessment Scheme PP 3/10 (3): Chapter 10: honeybees (EPPO, 2010)

cherheit ausgeschlossen werden kann, müssen in Flugzelt- bzw. Feldversuchen unter praktischen Bedingungen geprüft werden. Dies betrifft nahezu alle bienentoxischen Insektizide, die zur Anwendung in blühenden Kulturen vorgesehen sind sowie alle Beizmittel mit systemischen Insektiziden. In Halbfreiland- bzw. Freilandversuchen dem EPPO Standard PP1/170 werden neben Mortalität (Totenfall), Flugintensität, Volks- und Brutentwicklung, Nektar- und Polleneintrag auch das Verhalten der Bienen erfasst. Der HQ ist für Spritzapplikationen, jedoch nicht für Exposition einer Staubabdrift validiert.

Im 2013 vorgeschlagenen, aber noch nicht durch die EU- Mitgliedsstaaten akzeptierten EFSA *Guidance Document*² (im folgenden EFSA GD; EFSA, 2013) wird eine Grobabschätzung der Exposition über prozentuale Driftwerte zur Berechnung des Schädigungsquotienten ETR (Exposure-Toxicity-Ratio) berechnet und neue Triggerwerte vorgeschlagen, die jedoch bislang weder für Spritzungen noch für Staubexposition validiert sind. Werden die Triggerwerte überschritten, sind höherstufige Halbfreiland- und Freilandstudien erforderlich.

Bis dato gibt keine offiziell anerkannten spezifischen Prüfrichtlinien oder konkrete Vorschläge für eine angemessene Versuchsmethodik und spezifische Prüfverfahren für den Expositionspfad Staubabdrift für Bienen. Während für Honigbienen seit vielen Jahren verschiedene Prüfmethode verfügbar sind und Versuche mit Honigbienen als etabliert gelten, wird in Gremien wie der International Commission Plant-Pollinator Relationships (ICPPR), einem internationalen Gremium zur Entwicklung und Verfeinerung von Bienenprüfungen, fortlaufend an der Weiterentwicklung von Prüfmethode gearbeitet. Allerdings gibt es bisher selbst für Honigbienen keine konkreten Empfehlungen, wie die Auswirkungen einer Staubexposition geprüft werden können – weder im EFSA GD (EFSA, 2013d), den OECD- Richtlinien und EPPO Standards (EPPO, 2010), noch in außereuropäischen Richtlinien, wie dem 2014 vollständig überarbeiteten Prüfsystem der USA und Kanada (EPA, 2014).

Sowohl auf Basis der HQ-, als auch der ETR- Triggerwerte entsteht für zahlreiche insektizide Spritzungen und Beizung über Neonikotinoide hinaus die Notwendigkeit von höherwertigen Prüfungen mit Bienenvölkern unter Halbfreiland- oder Freilandbedingungen. Daher ist es wichtig, dass spezifische Prüfrichtlinien für das Szenario einer wirkstoffhaltigen Staubabdrift und Staubexposition entwickelt werden. Im EFSA GD (2013d) wird zur Abschätzung der *Worst-Case-Exposition* in Nichtzielflächen eine Depositionsrate von 5,6% der am Saatgut angebeizten Wirkstoffmenge je Hektar für Maisaussaat ohne Deflektoren angenommen und zur weiteren Berechnung des ETR- Schädigungsquotienten verwendet. Bei Verwendung von Deflektoren wird eine Deposition von 0,56% als Berechnungsgrundlage angenommen. Diese Abschätzung berücksichtigt jedoch nicht, dass das Risiko auch maßgeblich davon abhängt, wie viel Beizstaub vom Saatgut abgerieben wird und wie viel Wirkstoff diese Abriebstäube enthalten. Auch wird die Aussaatmenge an Korn je Hektar nicht berücksichtigt. Eine Weiterentwicklung des wissenschaftlichen Kenntnisstands könnte dazu beitragen, die bisherigen Ansätze zu verfeinern.

² EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees)

2.1.2 Die Bienenschutzverordnung und Risikominimierungsmaßnahmen zur Anwendung bienengefährlicher Pflanzenschutzmittel

Als Risikominimierungsmaßnahmen gibt es verschiedene Auflagen für zugelassene Pflanzenschutzmittel, die der Anwender einzuhalten hat. Die Bienenschutzverordnung und Einhaltung der Bestimmungen für die bienensichere Anwendung gelten für jeden, der PSM anwendet. Nach der Bienenschutzverordnung dürfen Pflanzen, die von Bienen befliegen werden, nur mit als bienenungefährlich (B4) eingestuften PSM behandelt werden. Die Ausbringung von bienengefährlichen (B1) PSM ist untersagt, wenn blühende Unkräuter im Bestand wie z.B. Löwenzahn oder Taubnessel vorhanden sind, oder wenn durch hohen Blattlausbefall Honigtau produziert wird, der von Bienen als Tracht genutzt wird. Auch darf keine Abdrift auf blühende Pflanzen stattfinden. PSM mit für Bienen hochtoxischen neonicotinoiden Wirkstoffen Clothianidin (Dantop ®), Thiamethoxam (Actara ®) oder Imidacloprid (Confidor ® WG 70), die als bienengefährlich (B1) eingestuft sind, dürfen nicht auf blühende Pflanzen gelangen.

Die Bienenschutzverordnung bezieht sich jedoch auf Spritzanwendungen und enthält keine geeigneten Regularien, die eine Exposition von Bienen durch den Expositionspfad Staubabdrift vermeiden können. Möglichkeiten zur rechtlichen Regelung der Staubproblematik sind, neben einer Nichtzulassung, die Einführung von Grenzwerten für die Beizqualität und Ausbringungstechnik.

2.1.3 Rechtliche Rahmenbedingungen in Deutschland und Europa: Zulassung von Neonicotinoiden als Saatgutbeizung

Im Zeitraum zwischen 2008 und 2014 gab es mehrfach Änderungen des Zulassungsstands der Saatgutbeizungen mit Neonicotinoiden auf nationaler und auf europäischer Ebene, die für die Auswertung von Bienenvergiftungen durch Aussaat von Raps und Mais von Bedeutung sind. Während für Deutschland Einschränkungen der Anwendungen seit 2008 bestanden, wurden die Möglichkeiten zur Zulassung auch von bisher als sicher eingestuften Kulturen 2013 durch übergeordnete EU-weite Regelungen, die auch in Deutschland gültig sind, stark eingeschränkt.

Für Mais wurde erstmals 2004 eine Ausnahmegenehmigung für die Anwendung von mit Poncho Pro ® (125 g Clothianidin/ha) gebeiztem Mais erteilt. Im Herbst 2004 erfolgte eine reguläre Zulassung von Poncho ® (50 g Clothianidin/ha) für zunächst drei Jahre. 2005 gab es erneut eine Ausnahmegenehmigung, 2007 wurde eine reguläre Zulassung für Poncho Pro ® mit 125 g Clothianidin/ha für 10 Jahre erteilt. Während der Anwendungsumfang bis 2007 jährlich auf wenige hundert Hektar begrenzt war, wurde 2008 mit Poncho Pro ® gebeizter Mais (125 g as/ha) erstmals großflächig in bestimmten Regionen Deutschlands ausgesät.

Aufgrund der Bienenvergiftungen während der Maisaussaat 2008 in Deutschland ordnete das BVL mit Bescheid vom 15. Mai 2008 das Ruhen der Zulassung mit sofortiger Vollziehung gemäß § 80 Abs. 2 Satz 1 Nr. 4 VwGO u. a. für alle Saatgutbehandlungsmittel mit den Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam für Mais- bzw. Rapssaatgut an (BVL,

2008; Forster, 2009). Zusätzlich wurde die Aussaat über die Eilverordnung über das Verbot der Aussaat von Maissaatgut mit bestimmten Geräten vom 22. Mai 2008 durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) verboten. Für Rapsbeizungen wurde das Ruhenlassen am 25.7.2008 wieder aufgehoben, da mit der Maisaussaats vergleichbare Szenarien mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden konnten. Die Anwendungen im Raps wurden hierbei mit weiteren Auflagen versehen, insbesondere zur Vermeidung freier Stäube und Verbesserung der Abriebfestigkeit (BVL, 2008). Am 12.02.2009 wurde eine Eilverordnung über das Inverkehrbringen und die Aussaat von mit bestimmten Pflanzenschutzmitteln behandeltem Maissaatgut erlassen, die im Sommer 2009 entfristet wurde.

Für die Aussaat von mit anderen Insektiziden als Neonikotinoiden gebeiztem Mais, wie beispielsweise Mesurol® (Wirkstoff Methiocarb) dürfen in Deutschland seit 2008 pneumatische, mit Unterdruck arbeitende Säegeräte nur noch verwendet werden, wenn sie vom Julius Kühn-Institut hinsichtlich der Abdrift von Stäuben während der Aussaat geprüft und gelistet wurden. Im Vergleich zu unmodifizierten Einzelkornsäegeräten, die mit Unterdruck arbeiten, erreichten diese Gerätetypen eine um mindestens 90% geringere Abdrift (Anonymus, 2009). Zur Bestimmung der Abriebfestigkeit der Beizung von Saatgut ist die standardisierte Heubach-Methode etabliert (Heimbach, 2008, siehe auch Kap. 3.1). Ausschließlich Saatgut mit einer Heubach-Staubmenge (HBG) geringer als 0,75 g Abriebstaub je 100.000 Korn, der Aussaatmenge für 1 ha, darf ausgesät werden. Zusätzlich ist die Verwendung von Deflektoren vorgeschrieben, die eine weitere Reduktion der Staubemission von bis zu 90% bewirken (Rautmann *et al.*, 2009). Erreicht der Umrüstsatz diese Driftreduktion, wird das Gerät in die Liste geprüfter Maiseinzelkornsäegeräte aufgenommen (www.jki.bund.de/geraete.html).

Auf europäischer Ebene wurde mit der Kommissionsrichtlinie 2010/21/EU vom 12. März 2010 Annex I der Ratsrichtlinie 91/414/EWG in Bezug auf die spezifischen Bestimmungen zur Beizung von Saatgut und Ausbringung von mit bestimmten Wirkstoffen (Imidacloprid, Clothianidin, Thiamethoxam, Fipronil) behandeltem Saatgut geändert. Gemäß EU-Richtlinie 2010/21/EU vom 12.3.2010 durfte die Beizung nur noch in professionellen Beizanlagen mit dem besten Stand der Technik durchgeführt werden, um Risiken durch Staubabdrift zu minimieren. 2013 wurde mit der Durchführungsverordnung EU Nr. 485/2013 (EC, 2013) durch die EU-Kommission (EC) das Ruhenlassen der Zulassung für viele Anwendungen und ein auf 2 Jahre befristetes Anwendungsverbot von Neonikotinoiden in verschiedenen Kulturen erlassen, nachdem die Europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA) ein Risiko für Bienen für verschiedene Expositionspfade wie z.B. Staubabdrift während der Aussaat, systemische Rückstände in Nektar und Pollen und Guttation nicht mit Sicherheit ausschließen konnte.

Durch diese Regelungen war die Aussaat von mit Neonikotinoiden gebeiztem Mais in Deutschland seit 2008 verboten, und seit 2009 auch die Einfuhr. In einigen Nachbarländern waren die Wirkstoffe auch für die Maisbeizung vor der Regulierung durch die EU-Kommission 2013 noch zugelassen. Für Raps war die Aussaat von neonikotinoid-gebeiztem Saatgut in Deutschland bis 2013 zugelassen; 2014 war die Aussaat nicht mehr zulässig (EC,

2013). Zur Schließung der in 2013 festgestellten Datenlücken wurden Hersteller, aber auch Mitgliedsstaaten der EU aufgefordert, die zahlreichen offenen Fragestellungen zu Risiken für Bienen zu klären. Auch für die Staubabdrift und akuten und chronischen Auswirkungen auf Bienen, Bienenvölker und Bienenbrut wurden explizit für die Saatgutbeizung in den Kulturen Mais und Raps weitere Daten gefordert. Die im Rahmen der Dissertationsschrift erarbeiteten Kenntnisse können somit auch zur Schließung der festgestellten Wissenslücken zu Staubabdrift beitragen. Eine Überprüfung des Kenntnisstands zu den Auswirkungen der Saatgutbehandlungen auf Bienen durch EFSA und die Europäischen Mitgliedsstaaten ist im Frühjahr 2016 vorgesehen (EC, 2013).

2.2 Auswirkungen der Neonikotinoide Imidacloprid, Clothianidin, Thiamethoxam auf Bienen

Insektizide können je nach Wirkstoff, Dosis und Art der Exposition, prinzipiell reversible oder nicht reversible (subletale bis letale) Schäden bei Einzelbienen und bei Bienenvölkern bewirken. Neonikotinoide entfalten ihre toxische Wirkung über den Antagonismus der Nikotin-Acetylcholinrezeptoren (Matsuda *et al.*, 2001; Elbert *et al.*, 2008). Die Nitro-substituierten Neonikotinoide Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam sind sowohl oral als auch über Kontakt hochtoxisch für Honigbienen. Die Toxizität der auch zur Saatgutbeizung eingesetzten Wirkstoffe beträgt mit oraler LD_{50} von 3,7 ng/Biene für Imidacloprid, 3,8 ng/Biene für Clothianidin und 5 ng/Biene für Thiamethoxam und Kontakt LD_{50} von 81 ng/Biene für Imidacloprid, 28 ng/Biene für Clothianidin und 24 ng/Biene für Thiamethoxam (EFSA, 2013 a-c). Der in den Versuchen eingesetzte hochtoxische Wirkstoff Clothianidin wird zu den oral schwächer bienentoxischen Metaboliten TZNG (N-(2-chlorothiazol-5-ylmethyl)-N-nitroguanidine, LD_{50} oral: 3,9 μ g/Biene), TMG (thiazolmethylguanidine >151 μ g/Biene), TZMU (N-(2-chlorothiazol-5-ylmethyl)-N-methylurea, >113 μ g/Biene) und MNG (thiazolmethylguanidine, >153 μ g/Biene) abgebaut (Schmuck & Keppler, 2003).

Honigbienen haben nur eine sehr begrenzte Anzahl an detoxifizierenden Proteinen wie Cytochrom P450 Monooxygenasen, Esterasen und Gluthation-S-transferasen, um Neonikotinoide oder andere Insektizide zu metabolisieren (Belzunces, 2003; Iwasa *et al.*, 2004; Fairbrother *et al.*, 2014). Daher sind Bienen relativ sensitive Organismen und eine Entwicklung von Resistenzen ist nicht anzunehmen (Claudianos *et al.*, 2006). Obwohl die Fähigkeit zur Metabolisierung generell eher als gering eingeschätzt wird, sind Honigbienen und Hummeln in der Lage, Neonikotinoide zu verstoffwechseln (Cresswell *et al.*, 2014).

Eine Meta-Analyse von 14 Studien ergab eine LD_{50} von 4,5 ng/Biene für Imidacloprid (Godfray *et al.*, 2014); in verschiedenen Literaturangaben ist trotzdem eine hohe Schwankungsbreite der LD_{50} -Werte festzustellen; für Imidacloprid werden für die orale Toxizität 3,8 ng/Biene bis mehr als 81 ng/Biene, für die Kontakttoxizität Werte von 7,8 ng/Biene bis mehr als 242 ng/Biene angegeben, wohingegen veröffentlichte NOEC-Werte im Bereich von 1 bis 5 ng/Biene liegen. Diese Schwankungen können sowohl auf ein unterschiedliches Alter der Testbienen, der Subspezies, der Saison, dem Ernährungszustand und dem Handling während

des Tests als auch auf Diversität der nAChR-Typen verschiedener Honigbienenpopulationen zurückzuführen sein (Fairbrother *et al.*, 2014). Auch für verschiedene Bienen-Rassen sind Unterschiede der Empfindlichkeit nachgewiesen (Elzen, 2003).

Von entscheidender Bedeutung für Art und Ausmaß potentieller letaler Auswirkungen auf Bienen ist, welche Exposition auftritt, also in welchem Ausmaß Bienen in welcher Art und Weise den Neonikotinoiden ausgesetzt sind. Da bekannt ist, dass die Wirkstoffe aus der Saatgutbeizung in Nektar und Pollen verlagert werden, wurden insbesondere die subletalen Auswirkungen nach akuter oder chronischer oraler Aufnahme für die hochtoxischen Neonikotinoide Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam intensiv untersucht. Umfassende Reviews von mehr als 100 Labor-, Halbfreiland- und Freilandstudien zu subletalen und letalen Effekten von Neonikotinoiden auf Honigbienen wurden von Blaquiére *et al.* (2011), Cresswell *et al.*, (2011) und von Godfray *et al.*, (2014) publiziert. Obwohl die meisten dieser grundlegenden Studien mit Imidacloprid durchgeführt wurden, ist anzunehmen, dass die meisten Erkenntnisse aufgrund derselben Wirkungsweise an Acetylcholinrezeptoren auch auf Clothianidin und Thiamethoxam extrapoliert werden können.

Je nach Dosierung und Exposition zeigt eine Vielzahl an Studien subletale Effekte von Neonikotinoiden auf Bienen. Zahlreiche verschiedene subletale Effekte sind nachgewiesen, wie beispielsweise Auswirkungen auf das Lernverhalten und Lernleistung (Decourtye *et al.*, 2004a; Decourtye *et al.*, 2004b; Decourtye *et al.*, 2005), Störung des Navigations- und Orientierungsvermögens (Bortolotti *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2008; Henry *et al.*, 2012; Matsumoto 2013; Henry *et al.*, 2014; Fischer *et al.*, 2014), Sammelverhalten- und Sammelaktivität (Medrzyki *et al.*, 2003; Ramirez-Romero *et al.*, 2005; Schneider *et al.*, 2012). Während die Versuchsanstellung und Dosierung entscheidend für die Praxisrelevanz der jeweiligen Ergebnisse ist, ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse von Versuchen mit Einzelbienen oder Versuchen in Laborbedingungen auf Freilandbedingungen mit Bienenvölkern oft schwierig.

2.3 Exposition von Bienen durch Kontakt und Aufnahme von Pflanzenschutzmitteln

Bienen können Pflanzenschutzmitteln über verschiedene Expositionspfade ausgesetzt sein. Mit welchen Wirkstoffmengen Bienen dabei in Kontakt kommen können, hängt von vielen, teilweise interdependenten Faktoren ab. Sowohl Art, Ausmaß als auch Dauer der Exposition sind je nach Wirkstoff, Anwendungsart, Ausbringungstechnik, Witterungsbedingungen und Kulturpflanze verschieden. Je nach Kultur sind unterschiedliche Expositions-Szenarien zu verschiedenen Zeitpunkten im Lebenszeitraum der Kulturpflanzen, von Aussaat bis nach der Blüte, möglich. Folglich unterscheiden sich auch die Risiken für Bienen. In der Praxis ist zudem von Bedeutung, wie intensiv Bienen die kontaminierte Kultur als Trachtquelle für Nektar und Pollen besuchen, welche Alternativtrachten in der Umgebung verfügbar sind und in welchem Ausmaß diese als Nektar- und Pollenquelle genutzt werden.

Pflanzenschutzmittel werden heute üblicherweise in Verbindung mit einem flüssigen Trägerstoff (Wasser) durch Spritzen oder Sprühen oder in Form von Wirkstoff-gebeiztem Saatgut ausgebracht. Die Ausbringung in fester Form als Stäubemittel hatte bei chemisch-

synthetischen insektiziden Pflanzenschutzmitteln bereits seit Mitte der 80er Jahre nur noch eine geringe praktische Bedeutung (Ganzelmeier, 1986). Im Ackerbau waren in den vergangenen 10 Jahren bis heute keine insektiziden Stäubemittel mehr in Deutschland zugelassen (BVL, 2015).

Bei Spritzanwendungen kann eine orale Exposition über kontaminierten Nektar und Pollen, oder Kontaktexposition auf in blühenden oder von Bienen beflogenen Pflanzen durch direkte Spritzung oder durch Abdrift von Spritzmitteln auf Nichtzielflächen- und Pflanzen gleichermaßen für systemische wie nicht systemische Wirkstoffe erfolgen. Auch kann eine Aufnahme durch die Pflanze erfolgen und Rückstände systemisch in Nektar, Pollen und Guttationswasser gelangen.

Bei Saatgutbeizungen gelangen Wirkstoffe durch systemische Verlagerung mit dem Saftstrom der Pflanzen in Nektar und Pollen sowie in an den Blatträndern der Pflanze ausgeschiedenes Guttationswasser. Die Wirkstoffgruppe der Neonikotinoide hat ausgeprägte systemische Eigenschaften. Durch das intensive Sammeln und den fortlaufenden Verzehr von mit systemisch verlagerten Rückständen kontaminiertem Nektar und Pollen kommt es zu einer chronischen, ausschließlich oralen Exposition.

Staubabdrift während der Aussaat durch wirkstoffhaltige Partikel verursacht jedoch eine anders geartete Exposition von Bienen als eine Spritzung oder systemisch in Nektar und Pollen verlagerte Rückstände. Während Spritzmittel auf den Pflanzenteilen rasch antrocknen, auf der Oberfläche verbleiben oder auch in das Blatt eindringen, können Partikel über längere Zeiträume, bis zur Ein- oder Abwaschung durch Regen, auf Pflanzen- und Blütenoberfläche sowie Erdboden verfügbar bleiben.

Beizstaubabrieb und Abdrift treten bei systemischen und nicht-systemischen Wirkstoffen gleichermaßen auf und sind damit für alle Insektizide über die Neonikotinoide hinaus ein für Bienen potentiell bedeutender Expositionspfad. Durch Staubabrieb der Saatgutbeizung, Emission während des Sävorgangs und Verwehung der Stäube kann eine Exposition von Bienen über die Luft, über Kontakt mit Stäuben, aber auch über orale Aufnahme nach Deposition von Partikeln auf Nektarien oder Pollen erfolgen. Als Saatgutbeizungen werden Wirkstoffe mit unterschiedlicher Toxizität eingesetzt, von untoxischen Fungiziden bis hin zu den hochtoxischen, insektiziden Neonikotinoiden.

In verschiedenen landwirtschaftlich wichtigen Kulturen wurden und werden Neonikotinoide im Pflanzenschutz zu unterschiedlichen Zeiträumen im Jahr angewendet. Aus den Anwendungszeiträumen (Abb. 1) und den jeweils potentiell auftretenden Expositionen kann so, trotz Überschneidungen verschiedener Anwendungen, auf die mögliche Herkunft von Wirkstoffen in Bienenvergiftungsfällen in bestimmten Zeiträumen geschlossen werden.

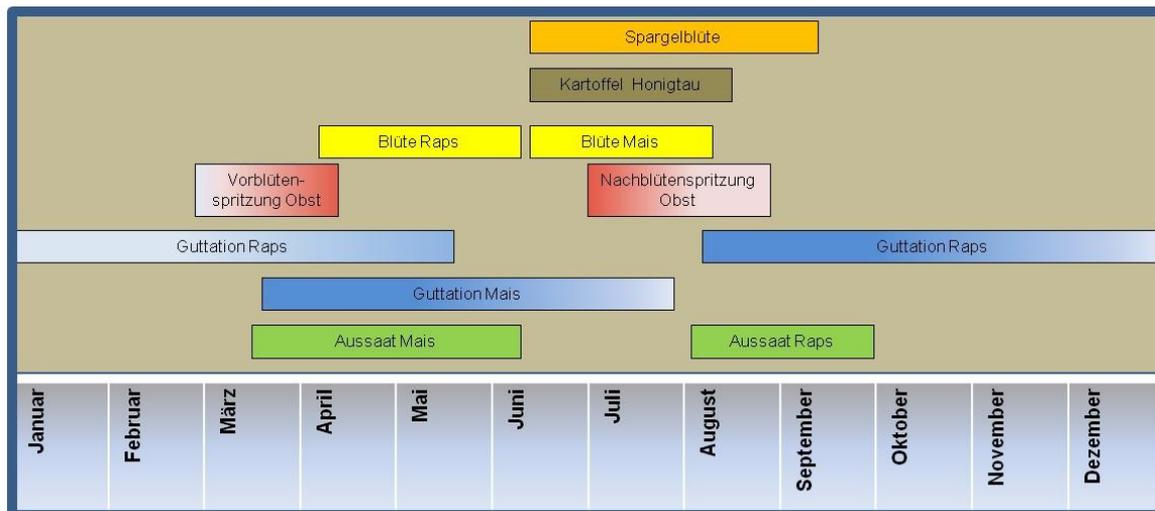


Abb. 1 Anwendungen von Neonikotinoiden Imidacloprid, Thiamethoxam, Clothianidin und potentielle Exposition und Zeiträume (Aussaat/Abdrift, Guttation, Nektar/Pollen, Spritzung, Läuse, Honigtau) (Pistorius, unveröffentlicht).

Die Betrachtung der Expositionspfade, Zeiträume und Höhe der Exposition bewirkt ein jeweils kultur- und anwendungsspezifisches Risikopotential für Nichtzielorganismen wie Bienen. Das Risiko einer Schädigung nimmt mit der Entfernung zwischen der Fläche und dem Bienenstand für eine potentielle Exposition durch Guttation rasch ab. Dies gilt nicht für systemisch verlagerte Rückstände sowie durch Staubabdrift kontaminierte Blüten, die von Bienen auch aus weiter Entfernung angefliegen werden können.

2.3.1 Exposition von Bienen durch Emission von Beizstaubabrieb während der Aussaat

Eine Besonderheit des Expositionspfade „Staub“ ist, dass die Exposition durch die physische Beschaffenheit der Bienen, als auch durch deren natürliches Sammelverhalten beeinflusst und verstärkt werden kann, wenn sie wirkstoffhaltige Partikel aktiv oder passiv aufsammeln.

Staubabdrift während der Aussaat durch wirkstoffhaltige Partikel führt auch zu einer anders gearteten Exposition als eine Spritzung. Ein verdriftender Spritztropfen zeigt ein anderes Umweltverhalten als ein Beizstaubpartikel. Ein Partikel kann auf Oberflächen über längere Zeiträume in unveränderter Form verfügbar sein. Spritztropfen trocknen ab und ziehen auch in das Pflanzengewebe ein. Zudem ist bekannt, dass sich die Abdrift für Staubpartikel und Sprühverfahren deutlich unterschiedlich verhält. Besonders deutlich sind die Unterschiede in der atmosphärischen Drift. Bei Betrachtung der über die Höhe gemittelten Schwebeteilchenkonzentrationen zeigte sich, dass beim Stäuben mit ca. 20-30fach höherer atmosphärischer Drift als beim Sprühen gerechnet werden muss (Ganzelmeier, 1986). Insbesondere feine Staubpartikel haben die Eigenschaft, über längere Zeit in der Luft zu verbleiben (Apenet, 2011; EFSA 2012c). Kleine Staubpartikel können in die Stigma und Tracheen, das Atmungssystem der Bienen gelangen (Connell & Jones, 1953).

Die feine Körperbehaarung macht Bienen zu perfekten Blütenbestäubern. Staubpartikel können auch an der feinen Behaarung hängen bleiben. Im Bienenpelz verfangen sich viele Pollenkörner und bleiben während des Fluges zur nächsten Blüte an der Biene haften. Selbst Bienen, die noch nie den Stock verlassen haben und ausgeflogen sind, haben nach Free und Williams (1972) im Durchschnitt jeweils 2000 – 5000 Pollenkörner am Körper.

Die Bindung der Pollen an den Bienenkörper wird dadurch verstärkt, dass sich der Bienenpelz während des Fluges elektrisch auflädt (Prier *et al.*, 2001; Bowker & Crenshaw, 2007). Bei Eintrag von kontaminierten wirkstoffhaltigen Stäuben im Haarkleid von heimkehrenden Sammlerinnen können so Partikel auf Stockbienen übertragen werden. So können Stäube von den Bienen passiv im Haarkleid oder durch Verwechslung mit Pollenpartikel aktiv gesammelt werden, was wiederum die Exposition verstärken kann.

Pollensammelnde Bienen erkennen die Partikelgröße über visuelle und taktile Reize. Die Partikelgröße von Blütenpollen variiert stark, von etwa 2 μm bis 200 μm (Wodehouse, 1935); 97% der Pollen der von Bienen befliegenen Pflanzen liegen in der Größenordnung 10-100 μm (Roberts & Vallespir, 1978). Sie bevorzugen Pollen kleiner 150 μm . Die attraktivste Partikelgröße waren in Wahlversuchen Pollen <45 μm ; die unattraktivste waren Partikel >300 μm , die von Bienen nur sehr selten gesammelt wurden (Pernal & Currie, 2002). Auch bei wirkstoffhaltigen Staubpartikeln, die während der Aussaat von mit Pflanzenschutzmitteln gebeiztem Saatgut entstehen und verweht werden können, treten Partikel derselben Größe wie Pollenpartikel auf. Eine Deposition, eine Ablagerung von wirkstoffhaltigen Stäuben auf Nektarien oder Antheren, dort wo Bienen Nektar und Pollen sammeln, kann zu einer Belastung des Sammelguts führen und zu einer Vergiftung beitragen (Abb. 2 und Abb. 3; Wallner, unveröffentlicht).

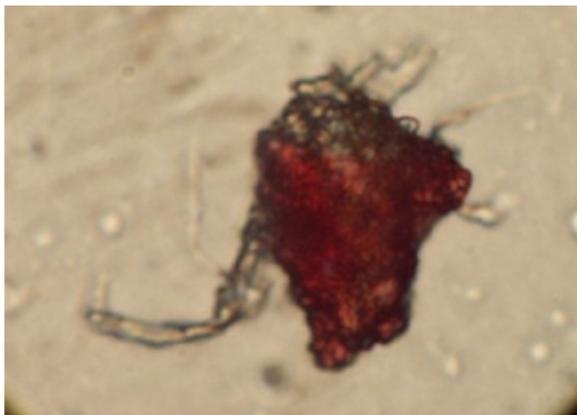


Abb. 2 Wirkstoffhaltige Beizstaubpartikel im Honigmagen von durch Staubpartikel vergifteten Bienen 2008, Foto: K. Wallner

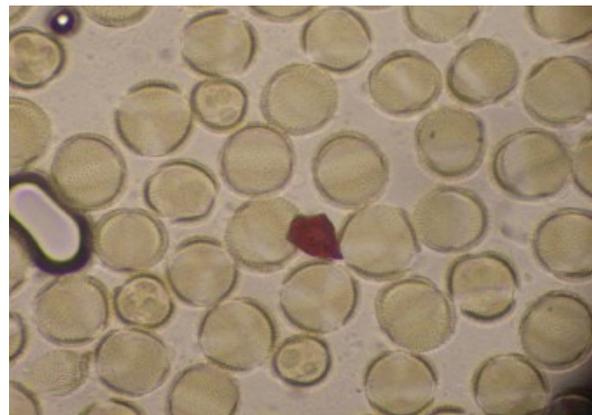


Abb. 3 Wirkstoffhaltige Beizstaubpartikel in Pollenhörschen von durch Staubabdrift vergifteten Bienen 2008 Foto: K. Wallner

Das Durchfliegen der Staubwolke während der Aussaat, Aufnahme von kontaminiertem Nektar und Pollen und Kontakt mit Stäuben während der Sammeltätigkeit werden bislang als die

bedeutendsten Expositionspfade für Bienen diskutiert (Wisk & Pistorius *et al.*, 2014; Pistorius *et al.*, 2009; Marzaro *et al.*, 2011; Girolami *et al.*, 2012; EFSA, 2012). Allerdings sind zur Relevanz verschiedener Expositionspfade für Stäube wenig quantitative Daten veröffentlicht, ungeklärt ist, wodurch eine Vergiftung genau ausgelöst wird. Auch ist es schwierig, den Beitrag der verschiedenen Expositionspfade an der Schadwirkung zu differenzieren, da Bienen durch einzelne oder kombinierte Expositionspfade mit Wirkstoffen in Kontakt kommen können.

In bisher publizierten Versuchen zur Auswirkung von Staubabdrift auf Honigbienen mit realistischer Aussaat von gebeiztem Saatgut wurde jedoch vorwiegend das Szenario des Durchfliegens der Staubwolke, nicht aber die Auswirkungen von kontaminiertem Nektar, Pollen und der Sammeltätigkeit auf Blüten untersucht (Apenet 2010 und 2011; Girolami *et al.*, 2012; Marzaro *et al.*, 2012). Erste publizierte Ergebnisse zur akuten Mortalität in Halbfreiland und Freiland nach realistischer Aussaat von gebeizten Kulturen mit Kontamination einer angrenzenden blühenden Kultur legen wiederum nahe, dass erhöhte Mortalität nicht nur durch das Durchfliegen entsteht (Georgiadis *et al.*, 2012). Dass Rückstände in Pollen und Blüten auftreten, wurde durch Greatti *et al.* (2006); Pistorius *et al.* (2009) und Krupke *et al.* (2009) und auch bei Messungen im Zusammenhang mit Bienenvergiftungen nachgewiesen.

2.3.2 Abriebfestigkeit von Saatgutbeizungen

Die wichtigsten Faktoren, die die Entstehung und Verwehung von Stäuben maßgeblich bestimmen, sind die Abriebfestigkeit der insektiziden Beizung (Heimbach *et al.*, 2012) sowie die zur Aussaat eingesetzte Sätechnik (Rautmann *et al.*, 2009).

Bei Untersuchungen zur Abriebfestigkeit verschiedener kommerziell erhältlicher Saatgutchargen wurden in manchen Saatgutsäcken hohe Mengen loser farbiger Beizstäube beobachtet (Pistorius *et al.*, 2009). Loser Staub kann während des Beizprozesses entstehen und beim Befüllen in den Saatgutsack gelangen. Weiterhin können lose Stäube durch Abrieb der Beize aufgrund mechanischer Belastungen während der weiteren Lagerung und dem Transport bis zum Einfüllen in die Sämaschine gebildet werden. Bei der Aussaat wird der Abrieb durch die Abriebfestigkeit der Beizung, aber auch die Maschinenteknik selbst beeinflusst (Forster *et al.*, 2009). In der Maschine kann durch die Bewegung des Saatguts und die Saatgutführung bis zur Ablage im Boden somit weiterer Abrieb entstehen (Rautmann *et al.*, 2009). Die Emission, der Austrag der abgeriebenen Stäube, hängt wiederum vom Maschinentyp ab. Mechanische Maschinen emittieren tendenziell weniger Stäube als pneumatische Geräte (Fent, 2011, Pochi *et al.*, 2012). Pneumatische Maschinen, die das Saatgut mit Überdruck transportieren und in den Boden ablegen, emittieren tendenziell mehr Stäube als mit Unterdruck arbeitende Maschinen (Foqué *et al.*, 2014a). Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Auslasshöhe des Luftstroms. Durch Deflektoren, die die Abluft bodennah ableiten, kann die Abdrift vermindert werden. Für die Prüfung des Faktors Maschinenteknik wurden Methoden entwickelt, die den Einfluss von Sämaschinen und Deflektoren auf die Emissionshöhe ermitteln (Rautmann *et al.*, 2014; Bahmer *et al.*, 2014).

Der beim Beizprozess entstehende Staub kann über eine Absaugung der losen Stäube beim Befüllen der Säcke aufgefangen werden. Durch die Prüfung der Maschinenteknik und Deflektoren kann über Grenzwerte und technische Maßnahmen sichergestellt werden, dass die Emission reduziert wird. Eine vollständige Vermeidung von Emission ist jedoch auch beim Einsatz modernster Verfahren nicht möglich (Vrbka *et al.*, 2014; Biocca *et al.*, 2015). Maßgeblich ausschlaggebender Faktor für die Entstehung von losen Stäuben nach Abfüllung bis zur Ablage im Boden ist die Beizqualität. Für die potentielle Staubemission während der Aussaat ist die Beizqualität von entscheidender Bedeutung.

Die Beizqualität wird hier charakterisiert durch die Abriebfestigkeit (Heubach-Wert) in g Staubabrieb (nachfolgend auch HBG) je Aussaatmenge pro Hektar und den Wirkstoffgehalt des Staubabriebs in Prozent (nachfolgend auch HBWG). Der Begriff „Heubach g as/ha (nachfolgend auch HBAS)“ umfasst somit sowohl die Menge als auch den Wirkstoffanteil potentiell verdriftender Stäube.

Die mögliche Emission von Stäuben während der Aussaat hängt von Faktoren wie der Flächengröße des gesäten Feldes, der Aussaatdichte, der Abriebfestigkeit des Saatgutes (Heubach-Wert), dem Wirkstoffgehalt in den Feinstäuben und der Aussaattechnik ab. Daneben wird der mögliche Austrag in Nachbarkulturen auch von der Windstärke und -richtung sowie von der Bodenoberflächenfeuchte beeinflusst, da feuchte Böden Stäube eher zurückhalten können als trockene (Heimbach *et al.*, 2012). Staubpartikel von verschiedenem Saatgut können stark unterschiedliche Dichte, Form (Nuyttens *et al.*, 2013; Foqué *et al.*, 2014b) und Größe haben (Heimbach pers. com.; Pistorius *et al.*, 2009). Die Form der Partikel variiert stark je nach Kultur. Die Beizformulierung und angewandte Beiztechnik haben nur einen sehr geringen Einfluss auf die Partikelform (Foqué *et al.*, 2014), wohingegen die Zugabe von Trocknungsmitteln wie Talkum die Partikelform und Partikelgröße beeinflussen können.

Je nach Saatgutform, Beizmittelformulierung, eingesetzten Hilfsstoffen und dem Beizprozess wird eine unterschiedliche Abriebfestigkeit erreicht. Während Zuckerrübensaatgut durch die Saatgutpillierung nahezu staubfrei ist, zeigt das gebeizte Saatgut von Mais, Getreide, Raps, und andere Kulturpflanzen eine geringere Abriebfestigkeit der Beizung vom Saatgut (Heimbach *et al.*, 2014): Folglich können mehr wirkstoffhaltige Stäube bei der Aussaat abgerieben werden und über die Sämaschine in die Umwelt gelangen.

Zwischen Raps und Mais bestanden 2008 deutliche Unterschiede der Staubabriebmenge je Hektar, Mais zeigte deutlich höheren Staubabrieb als Raps (Heimbach *et al.*, 2010). Verbesserungen in den Beizprozessen, den Beizmittelrezepturen und Hilfsstoffen haben bei beiden Kulturen seit Bekanntwerden der Problematik des Abriebs eine deutliche Qualitätssteigerung bewirkt. Für die eigenen Versuche wurden kommerziell erhältliche Saatgutchargen verwendet, die in etwa marktüblichen Qualitäten entsprachen. Die vorliegenden Versuche decken somit die Schwankungsbreite der Beizqualität, aber auch die fortlaufende Verbesserung der Beizung ab.

2.4 Bienvergiftungen durch Neonikotinoide und insektizide Beizstaubabdrift

In Deutschland werden seit 1976 alle Bienenschäden mit Verdacht auf Vergiftung durch Pflanzenschutzmittel zentral vom JKI (früher BBA) erfasst und bei Vorhandensein von Probenmaterial – toten Bienen- in ausreichender Quantität und Qualität untersucht (Brasse, 2006). Die Ursachen von Bienenschäden sind vielfältig und die Symptome von Vergiftungen und anderen bienenschädigenden Ursachen, wie Bienenkrankheiten, sind in manchen Fällen ähnlich (Riedl *et al.*, 2006). Daher sind die genauen Ursachen und der Zusammenhang mit einer Pflanzenschutzmittelexposition oft nur durch gezielte weitergehende Analysen zu klären (Pistorius, 2014). Die grundlegende Methodik und Details zur Vorgangsweise der biologischen und chemischen Untersuchungen sind beschrieben in Seefeld (2005); Pistorius *et al.* (2009) sowie Pistorius (2014) beschrieben. Sämtliche Untersuchungen sind für Imker kostenfrei, damit die Untersuchungskosten kein Hindernis darstellen, Verdachtsproben einzusenden.

Bienvergiftungen in Deutschland

Das Ausmaß von Schadfällen ist nicht konstant, sondern stark von den lokalen Umständen, der Anzahl Imker in der näheren Umgebung der schadverursachenden Fläche, die Anzahl der dort gehaltenen Völker und der Nutzung der Tracht durch die Völker abhängig. Im Zeitraum 2009-2014 wurden Proben zu insgesamt 739 Schadfällen von 836 Imkern und 9261 Bienenvölkern zur Untersuchung des Verdachts einer Bienvergiftung durch Pflanzenschutzmittel eingeschickt (Anhang VIII).

Die Angaben der Imker zum Schädigungsgrad der Völker sind sehr heterogen und subjektiv in der Art der Beschreibung. Auch führt die Schadensangabe zum Zeitpunkt der Feststellung des Schadens und Einsendung zur Untersuchung bei oft unklarem Schadensentstehungszeitpunkt dazu, dass keine einheitlichen Angaben erhältlich sind. Daher kann in vielen Fällen kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der in Bienen nachgewiesenen Rückstandsmenge und dem Schadensausmaß hergestellt werden, und nicht von einem nachgewiesenen Rückstand das Schadensausmaß rekonstruiert werden. Allenfalls kann bei wirkstoffspezifisch relativ hohen Konzentrationen angenommen werden, dass diese eher von einer Spritzanwendung herrühren und eine sehr starke Schädigung annehmen lassen.

Mögliche Schadensursachen: Bienvergiftungen durch Neonikotinoid-haltige Pflanzenschutzmittel

Als wichtigste Schadensursachen für Bienvergiftungen durch Neonikotinoide sind neben dem Expositionspfad Staubabdrift während der Aussaat, Fehlanwendungen von Spritzmitteln zu nennen, wie die Applikation auf blühende, von Bienen beflogenen Pflanzen oder auf Pflanzen, die stärker von Blattläusen befallen sind. Ein Rückschluss über den Wirkstoffnachweis in Bienenproben auf die Herkunft der Wirkstoffe und konkrete Anwendungen ist nur in seltenen Fällen möglich. Auch kann nicht weiter geklärt werden, über welche Expositionspfade – wie Nektar, Pollen, Guttation, äußerlicher Kontakt – die Bienen den Wirkstoffen ausgesetzt waren.

Indirekt ist aber in vielen Fällen eine weitergehende Klärung des Zusammenhangs einer bestimmten Anwendung mit dem Bienenschadfall möglich. Wichtige Informationsquellen sind dafür weitere gefundene Wirkstoffe, Rückstandsergebnisse von Pflanzenproben und Informationen zur Lage des Bienenstandes und der in der näheren Umgebung angebauten Kulturen sowie der wissenschaftlichen Kenntnisstand zu den Risiken durch verschiedene Expositionen und Expositionspfade. Bienenvergiftungen sind im Zeitraum von März bis September durch Anwendung der Mittel in der Landwirtschaft, aber auch durch Biozide möglich. Für die vorliegende Auswertung wurde angenommen dass die Herkunft der Wirkstoffe ausschließlich aus landwirtschaftlichen Anwendungen stammt. Die Betrachtung der zugelassenen Anwendungen, Anwendungsmuster und Anwendungszeiträume kann eine weitergehende Differenzierung der Wahrscheinlichkeit einer Herkunft der Wirkstoffe erlauben und Hinweise auf die mögliche Herkunft liefern. Im Mais waren Neonikotinoide nur 2008, in Raps und Zuckerrüben zwischen 2000-2013 zugelassen. Als Bienengefährlich (B1) eingestufte Vor- oder Nachblütenspritzungen im Obst-, Spargel-, und Kartoffelanbau sind bis heute zugelassen.

Bienenvergiftungen mit Neonikotinoiden vor 2009

Bis zum Frühjahr 2008 ist in Deutschland seit erster Anwendung der neonikotinoiden Beizen kein Schaden an Bienenvölkern bekannt geworden, der nachweislich auf die Anwendung eines Neonikotinoide-haltigen Saatgutbehandlungsmittels zurückgeführt werden konnte.

Als erstes Insektizid aus der Wirkstoffgruppe der Neonikotinoide wurde Imidacloprid zur Saatgutbeizung im Raps bereits im Jahr 2000 erstmalig zugelassen. Von einem nahezu flächendeckenden Neonikotinoide-Einsatz kann im Raps seit 2005 ausgegangen werden (UFOP, pers.com.). Die Zulassung für Clothianidin erfolgte im Jahr 2006. Seit dem Jahr 2000 werden mit Verdacht auf Bienenvergiftung untersuchte Proben auch auf Rückstände von Neonikotinoiden und deren Metaboliten untersucht. Diese waren aber bei einer Nachweisgrenze von 0,003 mg/kg bis Ende 2005 in keiner der untersuchten Bienen- und Pflanzenproben nachweisbar (Seefeld, 2006). 2006 wurden acht Bienenvergiftungsfälle nach Fehlanwendungen eines Clothianidin-haltigen Spritzmittels in Kartoffeln, 2007 zwei Schäden mit Beteiligung von Clothianidin festgestellt.

Ende April 2008 traten die stärksten Bienenvergiftungen seit mehr als 30 Jahren in Deutschland auf. Der ursächliche Zusammenhang mit der Aussaat von mit Clothianidin-gebeiztem Mais und Schäden bei etwa 12500 Bienenvölkern konnte durch die Untersuchung von Bienenproben rasch aufgeklärt werden (Rosenkranz & Wallner, 2009; Pistorius *et al.*, 2009). Seitdem ist bekannt, dass Beizmittelabdrift stark erhöhte Mortalität von Bienen zur Folge haben kann, die durch zahlreiche tote Bienen an den Fluglöchern, vor den Völkern oder im Unterboden der Bienenvölker sichtbar wird.

Bienenvergiftungen mit Neonikotinoiden zwischen 2009 und 2014

Der Stand des Wissens über die in Deutschland mit Beteiligung von Neonikotinoiden aufgetretenen Bienenvergiftungen mit Schwerpunkt der Jahre 2009 bis 2014 skizziert Anhaltspunkte aus der Praxis. So gibt es Erkenntnisse darüber, ob in den Jahren der Anwendung nach 2008 weitere Vergiftungsfälle auf die Aussaat von Neonikotinoid-gebeiztem Mais aufgetreten sind und ob Schäden auch auf die Aussaat von Raps zurückgeführt werden können.

Da die Aussaat von gebeiztem Mais seit 2008 in Deutschland verboten war, hat die Wahrscheinlichkeit einer Anwendung von mit Neonikotinoiden gebeiztem Mais nach 2008 sehr stark abgenommen. In Einzelfällen kann jedoch noch vorhandenes Restsaatgut illegal ausgesät worden sein. Die Rapsbeizung kam jedoch bis 2013, einschließlich der Rapsaussaat im Herbst 2013, flächendeckend zum Einsatz. Die zugelassenen, als bienengefährlich (B1) eingestuften Spritzanwendungen waren und sind auf relativ wenige Kulturen beschränkt.

In 8,9 % aller zur Untersuchung eingesandten, zur Analyse geeigneten Schadfälle wurden Clothianidin, Imidacloprid oder Thiamethoxam nachgewiesen. Die meisten Schadfälle mit Neonikotinoiden und der höchsten Anzahl betroffenen Imker wurden 2009 festgestellt, 2014 die höchste Anzahl geschädigter Bienenvölker. Clothianidin wurde in deutlich mehr Schadfällen als Imidacloprid und Thiamethoxam nachgewiesen. Für Thiamethoxam ist die Anzahl registrierter Schadfälle deutlich geringer als für Clothianidin und Imidacloprid (Tab. 1), was auf den deutlich geringeren Anwendungsumfang der Mittel in Deutschland (BVL, 2013) zurückzuführen ist.

Tab. 1 Bienenschäden durch Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam zwischen 2009 und 2014

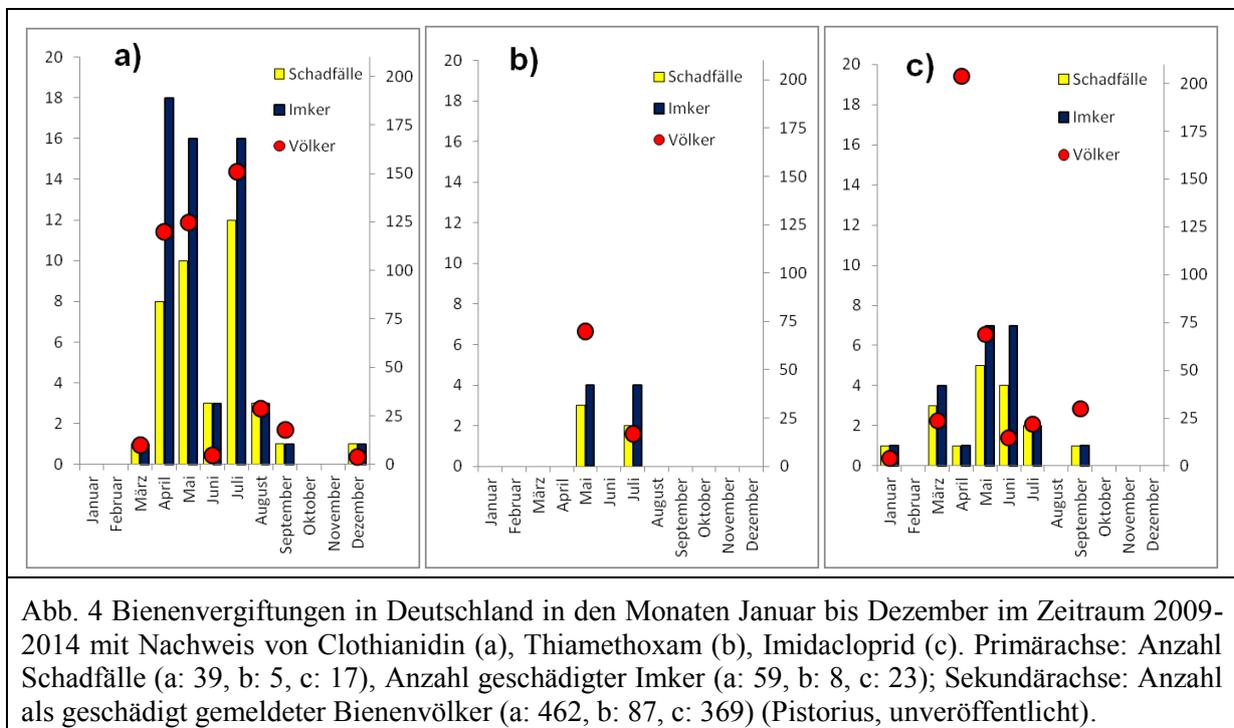
	Clothianidin			Thiamethoxam			Imidacloprid			Σ SF		
	Sf	Vö	Im	Sf	Vö	Im	Sf	Vö	Im	Sf	Vö	Im
2009	16	143	21	3	31	5	1	4	1	20	178	27
2010	8	144	9	1	13	2	2	19	2	11	175	13
2011	7	31	8	0	0	0	2	29	2	9	60	10
2012	4	33	5	0	0	0	2	27	3	6	60	8
2013	6	138	8	1	43	1	3	35	5	11	235	15
2014	4*	36*	9*	0	0	0	5	253	8*	9	314	24

Sf: Schadfälle; Vö: als geschädigt gemeldete Bienenvölker; Im: Imker mit Bienenschäden; Σ SF: Summe Schadfälle Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid.

* In einem Schadfall mit Nachweis von Clothianidin im April 2014 wurden vier Proben von vier geschädigten Imkern eingeschickt. Nach Auskunft des Pflanzenschutzdiensts traten bei 6 weiteren Imkern ebenfalls Bienenvergiftungen auf, die der Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen jedoch keine Informationen mitteilten und daher nicht in den Statistiken mit erfasst werden.

Analyse der Bienenvergiftungen mit Neonicotinoiden im Zeitraum der Mais- und Rapsaussaart

Im Zeitraum 2009-2014 wurden insgesamt 39 Schadfälle mit Clothianidin bei 437 Völkern, 5 Schadfälle mit Thiamethoxam bei 87 Völkern und 17 Schadfälle mit Imidacloprid bei 369 Völkern festgestellt (Abb. 4). Bienenvergiftungen mit Beteiligung von Clothianidin und Imidacloprid sind im Untersuchungszeitraum von März bis September aufgetreten, ein einzelner Fall Clothianidin auch im Dezember. Die meisten Schadfälle wurden im April, Mai und Juli gemeldet. Die Mehrzahl der Schadfälle mit Clothianidin ereignete sich in den Monaten April, Mai und Juli, mit Imidacloprid hingegen traten die meisten Schadfälle in März, Mai und Juni auf. Schadfälle mit Thiamethoxam beschränkten sich auf die Monate Mai und Juli.



Mais verlangt eine Keimtemperatur von 8 bis 10 °C im Boden. Diese ist Standort- und jahrespezifisch schon Anfang bis Mitte April oder erst Anfang Mai gegeben. Bei zu früher Saat besteht die Gefahr von schlechter oder verzögerter Keimung und von Feldaufgangsverlusten. Zu späte Aussaat verkürzt die Vegetationszeitspanne und kann zu Ertragseinbußen führen (DMK, 2014). Der Zeitraum einer möglichen Aussaat von Mais und möglicher Bienenschäden wird daher konservativ vom 15. März bis 10. Juni angenommen.

Raps wird in der landwirtschaftlichen Praxis nach der Getreideernte ab Mitte August bis Mitte September ausgesät (UFOP, 2014). Die richtige Aussaatzeit ist außerordentlich wichtig für die Kultur. Man sät idealerweise Mitte bis Ende August, so dass die Pflanzen mit einer Blattrosette von acht bis zehn Blättern in den Winter kommen (Mandl & Sukopp, 2011). Der Zeit-

raum einer möglichen Rapsaussaat und möglicher Bienenschäden wird somit ebenfalls konservativ vom 5. August bis 1. Oktober angenommen.

Die nach dem Aussaatzeitraum von Mais und Raps und Wirkstoffen aufgeschlüsselten Daten 2009 bis 2014 (Tab. 2) zeigen, dass mit 18 Schadfällen im Maisaussaatzeitraum deutlich mehr Vergiftungen durch Clothianidin auftraten als im Rapsaussaatzeitraum, in dem in drei Schadfällen Clothianidin detektiert wurden.

Tab. 2 Schadfälle mit Neonikotinoiden im Zeitraum der Maisaussaat und Rapsaussaat

Kultur	Wirkstoff	Zeitraum: 2009-2014	Schadfälle	Imker mit Bienenschäden	Völker
Mais	Clothianidin	15.3.	18	25	203
	Imidacloprid	bis	9	14	311
	Thiamethoxam	10.6.	3	4	70
Raps	Clothianidin	5.8.	3	3	42
	Imidacloprid	bis 1.10.	1	1	30

Einzelfallanalyse der Bienenvergiftungen mit Neonikotinoiden im Zeitraum der Mais- und Rapsaussaat

Die meisten Schäden wurden im Zeitraum der Mais- und Rapsaussaat für das am meisten verkaufte Insektizid Clothianidin festgestellt. In manchen Jahren wurden deutliche Unterschiede der Anzahl geschädigter Völker festgestellt, was auf die lokal unterschiedliche Anzahl an Bienenvölkern zurückzuführen ist. In einem Einzelfall mit Beteiligung von Imidacloprid wurden 204 Völker von einem Imker als geschädigt gemeldet.

Eine detailliertere Betrachtung der einzelnen Schadfälle im Zeitraum der möglichen **Maisaussaat** vom 15.3.-10.6. belegt im Jahr 2009 acht Schadfälle mit Nachweis von Clothianidin, vier in 2010, zwei in 2011, einen in 2012, zwei in 2013 und drei in 2014. Thiamethoxam wurde in drei Schadfällen, Imidacloprid in neun Schadfällen nachgewiesen. 2009 und 2010 konnten je zwei Schadfälle anhand der weiteren zu den Schadfällen vorliegenden Informationen, wie Probennahmen von Pflanzen, Saatgut und Vor-Ort Kontrollen von Landwirten eindeutig auf Staubabrieb/Drift nach Aussaat von illegal importiertem Mais oder Restbeständen aus 2008 zurückgeführt werden. In weiteren Schadfällen wurden relevante Wirkstoffmengen gefunden, es war jedoch keine weitere Klärung der Herkunft der Wirkstoffe möglich, die Schadfälle somit entweder auf Staubdrift oder auf Fehlanwendungen von Spritzmaßnahmen zurückzuführen.

Bei nach 2010 aufgetretenen Bienenvergiftungen konnte in Deutschland bei keinem Schadfallein klarer Nachweis von Schäden durch illegal ausgesäten Mais hergestellt werden. Im Zusammenhang mit Staubabdrift – Verdachtsfällen nach Maisaussaat konnten bislang ausschließ-

lich Schäden durch Clothianidin bestätigt werden, nicht aber durch Imidacloprid und Thiamethoxam, da für diese Anwendung in Deutschland keine Zulassung und keine Ausnahme-genehmigung für die Anwendung in Mais erteilt waren. Trotz des freien Saatguthandels in der EU ist nach Kenntnissen des BVL Pflanzenschutz-Kontrollprogramms 2009-2013 davon auszugehen, dass die Anzahl illegaler Importe allenfalls gering war und die Verordnungen weitestgehend eingehalten wurden (BVL, 2013). Da die Toxizität der Wirkstoffe vergleichbar ist, ist davon auszugehen, dass bei Aussaat von gebeiztem Mais, wie in anderen Ländern mit entsprechenden Zulassungen, auch in Deutschland entsprechende Schadfälle auftreten könnten.

Im Zeitraum der möglichen **Rapsaussa** wurden im Zeitraum 2009 bis 2014 drei Schadfälle mit Nachweis von Clothianidin mit drei beteiligten Imkern und 42 geschädigten Völkern und ein Schadfall mit Imidacloprid mit 30 geschädigten Bienenvölkern festgestellt. Zwei Schadfälle wurden 2010, je ein Schadfall in 2013 und 2014 gemeldet (Tab. 2). Bei diesen vier Schadfällen besteht aber nur eine geringe Wahrscheinlichkeit eines Zusammenhangs mit der Aussaat von Raps: in einem Fall in 2010 bestand einen nachgewiesener Zusammenhang mit einer Fehlanwendung des Clothianidin- haltigen Pflanzenschutzmittels Dantop® bei Spritzung in Kartoffeln, die aufgrund von Honigtaubelag von Bienen befliegen wurden. In dieser Bienenprobe wurden neben Clothianidin in schadensrelevanter Höhe mit 29 µg/kg noch vier weitere, ausschließlich in Spritzungen zugelassene Wirkstoffe³ nachgewiesen, ein Hinweis darauf, dass der Schaden durch eine Spritzmaßnahme verursacht wurde.

Im zweiten Schadfall wurden ebenfalls neben Rückständen von Clothianidin mit 19 µg/kg 5 weitere Spritzmittelwirkstoffe⁴ nachgewiesen. Im dritten Schadfall (2013) wurde Clothianidin mit 93 µg/kg und drei weitere⁵ insektizide Wirkstoffe gefunden, die nur in Spritzmitteln zugelassen sind. Ein Schadfall mit Imidacloprid wurde im Zeitraum der möglichen Rapsaussa in 2014 festgestellt. Die Aussaat von mit Neonikotinoiden gebeiztem Raps war jedoch vollständig verboten, auch eine Anwendung von Restbeständen aus 2013 war nicht mehr zulässig (Bundesrat, Drucksache 704/13), somit ist ein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Aussaat und Abdrift sehr unwahrscheinlich. Die Herkunft des nachgewiesenen und nur in Spuren (< 0,001 mg/kg) vorhandenen Imidacloprid im Schadfall blieb daher ungeklärt.

In Schadfallproben im Juli und August werden zwar tendenziell häufiger höhere Rückstandsmengen gefunden, allerdings traten auch in den Frühjahrsmonaten Schadfälle mit höheren Rückständen im Vergleich zu in den Versuchen mit Raps- und Maisaussa direkt nach Aussaat gezogenen Totenfallproben auf. Demnach zeigt die Analyse der Schadfälle im Zeitraum der Rapsaussa für Clothianidin und Imidacloprid keinen Schadfall, bei dem der Verdacht eines Zusammenhangs mit Aussaat von Raps bestätigt werden konnte. Während in Schadfällen im Frühjahr und Sommer regelmäßig Wirkstofffunde nachgewiesen wurden, ist die An-

³ Boscalid: 20 µg/kg; Carbendazim 11 µg/kg; Fluvalinat 87 µg/kg, Pyraclostrobin 2 µg/kg

⁴ Boscalid 20 µg/kg, Fluazinam 3,6 µg/kg Fluvalinat 154 µg/kg, Propiconazol 9 µg/kg, Pyraclostrobin 1 µg/kg

⁵ Abamectin: 2 µg/kg; Alpha-Cypermethrin: 107 µg/kg; Gamma- bzw. Lambda-Cyhalothrin 18 µg/kg

zahl der Schadfälle im Herbst sehr gering. Im Rahmen einer Einzelfallanalyse im Aussaatzeitraum konnte eine andere Schadensursache als die Rapsaussaat ermittelt werden.

Bienenvergiftungen durch insektizide Beizstaubabdrift in Europa, USA und Kanada

Auch aus anderen Ländern (Apenet, 2009; van der Geest, 2012; PMRA, 2013) wurden 2008 Vergiftungsschäden durch Staubabdrift bei der Aussaat von mit Neonikotinoid gebeiztem Mais gemeldet, wenngleich in geringerem Ausmaß als in Deutschland. In Italien wurden beispielsweise im Frühjahr 2008 insgesamt 185 Schadfälle bei etwa 6400 Bienenvölkern gemeldet. In 58% der Proben wurden Rückstände von Neonikotinoiden durch insektizide Beizstaubabdrift festgestellt (Bortolotti *et al.*, 2010). Als Reaktion auf die Schadfälle wurde in verschiedenen Ländern Europas wie Deutschland und Italien die Zulassung der Beizung mit Neonikotinoiden für Mais ausgesetzt (Apenet, 2009) und für die neonikotinoiden Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam wurde ein Import- und Aussaatverbot verhängt. In manchen Ländern wie USA, Kanada, Österreich, Frankreich und Slowenien blieben die Wirkstoffe zugelassen. Es wurden zunächst verschiedene Risikominimierungsmaßnahmen eingeführt (PMRA, 2013), eine Messung der Beizqualität auf Staubabriebfestigkeit mit dem Heubach-Test (Heimbach, 2008) vorgeschrieben und maximal zulässige Grenzwerte zwischen 0,75 und 2 g Abrieb je ha festgelegt. In Österreich wurde zudem der Einsatz von Deflektoren mit Ableitung der Abluft von Sämaschinen in die Drillschar vorgeschrieben.

Trotz der in Österreich, Kanada und Slowenien nach den Schadfällen 2008 durchgeführten unterschiedlichen Risikominimierungsmaßnahmen mit der Vorgabe von Grenzwerten für die Beizqualität und Vorschriften zum Einsatz von geprüfter Maschinenteknik in Verbindung mit der Verwendung von Deflektoren, wurden weitere Bienenvergiftungen während der Aussaat von Mais festgestellt. Nach Bienenvergiftungen in Slowenien 2011 bei mehr als 2500 Völkern wurde die Beizqualität von in der Region in 2011 ausgesät, mit Poncho® oder Cruiser® gebeiztem Mais mit der Heubach-Methode analysiert. In 18 von 19 Fällen wurden Werte unterhalb des 2008 in Slowenien festgelegten Grenzwerts von 2 g Staub/100 kg Saatgut gemessen (van der Geest, 2012).

In Kanada wurde der Grenzwert für mit Neonikotinoiden gebeiztem Mais für die Aussaatmenge je Hektar bei 0,75 g Heubachstaub in 2012 und 2013 festgelegt, aber keine Verwendung von Deflektoren festgeschrieben (Hart, pers. com., 2014). Trotz einer bereits gegenüber 2008 deutlich verbesserten Beizqualität wurden in Kanada im Jahr 2012 Bienenvergiftungen bei etwa 4500 Völkern festgestellt (PMRA, 2013). In Österreich wurde die gesetzlich festgelegte maximale Heubachstaubmenge 0,75 g in kommerziell erhältlichen Saatgutchargen mit mittleren Werten von 0,008 bis 0,19 g mit Maximum von 0,39 g Heubachstaub in allen Fällen unterschritten, zudem war die Verwendung von Deflektoren seit 2009 vorgeschrieben. Dennoch traten Bienenvergiftungen bei 743 bis 3489 Völkern in den Jahren 2009 bis 2011 auf (Girsch & Moosbeckhofer 2012).

Nicht überall wo gebeizter Mais ausgesät wurde traten Bienenvergiftungen auf. Trockene, windige Witterung begünstigt das Verwehen von Partikeln, während feuchtere Oberflächen

Partikel binden können (Rosenkranz & Wallner, 2009; Apenet, 2009; PMRA, 2013). Aus vielen Regionen mit Schadfällen wurde von trockenen, windigen Bedingungen während der Aussaat berichtet. Auch die starke regionale Komponente mit einer Häufung an Schäden in Gebieten mit kleinräumiger landwirtschaftlicher Struktur wird als Hinweis auf eine besondere Umweltsituation in den betroffenen Gebieten gesehen. Vermehrt wurden Schadfälle in Gebieten mit relativ kleinen Maisanbauflächen und enger Verzahnung zwischen Maisfeldern und Nachbarflächen mit blühender Vegetation. z. B. Wiesen, Streuobst, Vegetation an Bachufern bzw. in Waldinseln, blühende Ackerkulturen beobachtet (Giersch & Moosbeckhofer, 2012). Auch in Italien (Apenet, 2010) und Deutschland (Nikolakis *et al.*, 2009) wurden vermehrt in kleinräumig strukturierten Landschaftsgebieten Bienenvergiftungen beobachtet. In Österreich wurden wesentlich seltener Schadensfälle aus Gebieten mit großflächigem Maisanbau gemeldet (Giersch & Moosbeckhofer, 2012).

In Untersuchungen in Österreich im Jahr 2012 wurde ein ähnlicher Trend wie in Deutschland mit höheren Schadfällen in den Frühjahrsmonaten im Vergleich zum Sommer bis Spätsommer festgestellt. In 48 Bienenproben aus den Frühjahrsmonaten April bis Mai waren davon in 21 Proben Clothianidin, in acht Thiamethoxam, in sechs Imidacloprid nachweisbar. In 21 Proben des Zeitraums von Juni bis September war in einer Probe Clothianidin, in einer Probe Thiamethoxam, Imidacloprid hingegen in keiner Probe nachweisbar (Giersch & Moosbeckhofer, 2012).

Aus den Vorfällen kann abgeleitet werden, dass weitere Maßnahmen über die Messung des Heubach-Werts hinaus nötig sind, um relevante Staubabdrift und Bienenvergiftungen zu verhindern. Sie bekräftigen die Notwendigkeit der Erarbeitung wissenschaftlicher Grundlagen für die Abdrift nach Aussaat verschiedener Beizqualitäten und deren Auswirkungen auf Bienen.

3 Material und Methoden

3.1 Feldversuche mit Aussaat von Mais und Raps, Abdrift und Exposition von Bienen (Halbfreiland- und Freilandversuche)

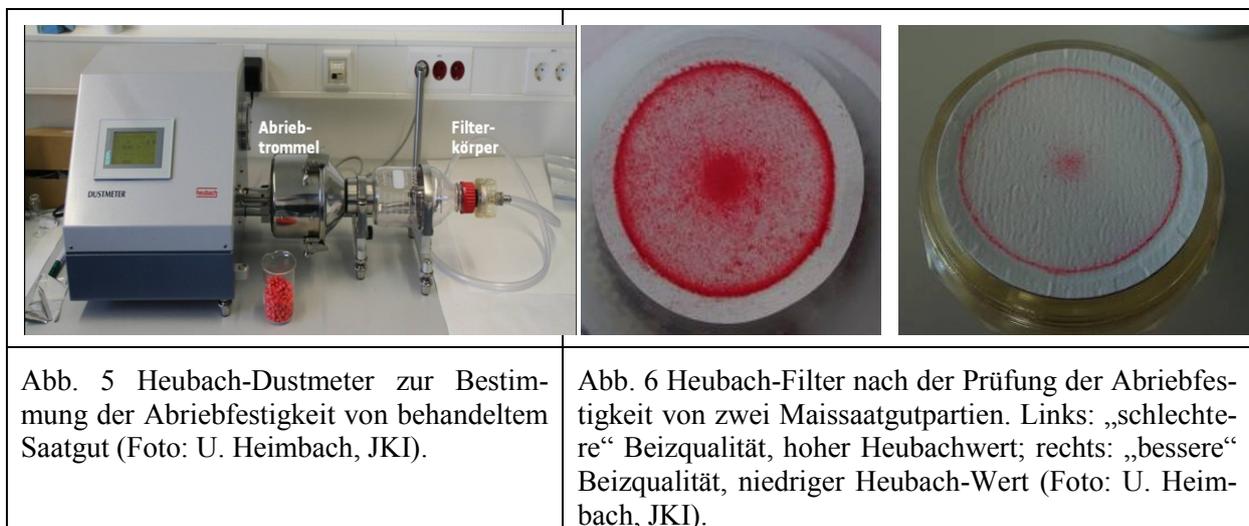
In den **Abdriftversuchen** (Kapitel 3.1) wurde neben benachbarten blühenden, bienenattraktiven Raps- oder Senfbeständen Mais oder Rapssaat mit vorab ermittelter Saatgutabriebqualität (Heubach Staubmenge (HBG) und Wirkstoffgehalt (Clothianidin) in Abriebstäuben (HBWG) je Saatgutmenge/ha, in g as/ha (HBAS)) ausgesät. Zur Messung der Auswirkungen auf Bienen wurden Völker im Freiland und in Flugzelten in Halbfreilandbedingungen aufgestellt. Während der Aussaat konnten die Flugbienen im Freiland bei geöffneten Fluglöchern ungehindert ein- und ausfliegen und auch auf der blühenden Kultur sammeln. Bienenvölker in Zelten wurden während der Aussaat verschlossen, die Zeltgaze während der Aussaat abgenommen. Nach Ende der Aussaat wurden die Zelte wieder abgedeckt und die Völker geöffnet, so dass die Bienen erst einige Minuten nach Ende der Aussaat auf der kontaminierten Kultur sammeln konnten. Nach Aussaat wurde die Staubbelastung in benachbarten Freiflächen und blühenden bienenattraktiven Kulturen ermittelt und parallel die Auswirkungen der Staubabdrift während der Aussaat auf Bienen untersucht. Hierfür wurden die Wirkstoffmengen an verdrifteten Stäuben *a posteriori* durch die Rückstandsmessung in Petrischalen, in Blüten und für die Gesamtpflanze im blühenden Bestand ermittelt und waren somit erst nach dem Versuch bekannt. Aus den Daten zur akuten Mortalität, Flugaktivität, Brut- und Volksentwicklung und Rückständen in toten Bienen sowie den Rückstandsdaten in Nichtzielflächen, kann das Risiko für Bienen bei realistischer Aussaat des gewählten Saatguts beurteilt werden.

3.1.1 Messung der Beizqualität des Versuchssaatguts

Für die Abdrift von Beizstäuben ist maßgeblich, wie viel Beizstaub vom Saatgut abgerieben kann und welchen Wirkstoffgehalt diese Stäube haben. Der HBAS wird von der zu beizenden Kultur, dem Beizprozess, der Beisanlage und den verwendeten Hilfsstoffen, wie Klebe- und Bindemittel beeinflusst (Heimbach, pers.com.). Vor Aussaat in den Abdriftversuchen wurde für das jeweilige Saatgut von Mais und Raps zuerst die Abriebfestigkeit der Beizung nach der Heubach-Methode (Heimbach, 2008) gemessen (HBG) und der Wirkstoffgehalt des Abriebs (HBWG) analysiert und so die Saatgutabriebqualität bestimmt, die im Folgenden auch als Beizqualität bezeichnet wird.

Mit dem Heubach-Test lässt sich die Abriebfestigkeit der Beize von behandeltem Saatgut zuverlässig und reproduzierbar messen. Hierfür wird eine bestimmte Saatgutmenge für eine definierte Zeit in einer Abriebtrommel konstant gedreht. Im Inneren der Trommel sorgen drei

Metallplatten und die Bewegung des Saatguts für eine mechanische Belastung der Körner. Während des Drehvorgangs wird eine konstante Luftmenge durch die Trommel gesaugt, die den Abriebstaub aus der Trommel auf einen Filter führt (Abb. 5). Die abgelagerte Staubmenge wird gewogen und dann der Heubach-Wert als Gramm Abriebstaub bestimmt, der für Mais, Raps und Zuckerrüben eine festgelegte Anzahl Körner pro Hektar berücksichtigt. Diese Methode erlaubt eine vergleichende Beurteilung der Abriebfestigkeit von behandelten Saatgutpartien (Heimbach, 2008). Eine geringere Abriebfestigkeit resultiert in höherem Staubabrieb als eine hohe Abriebfestigkeit (Abb. 6). Durch rückstandsanalytische Messung des Wirkstoffgehalts des Abriebstaubs kann anschließend die auf dem Feld über Beizpartikelabdrift verwehbare Wirkstoffmenge in g as/ha (HBAS) errechnet werden.



Eingesetztes Saatgut

Die Versuche mit Abdrift nach Aussaat von **Mais** fanden jeweils im Frühjahr 2010-2012 während der Rapsblüte mit Abdrift auf dem blühenden Bestand statt. Für die Versuche mit Maisaussaat (Tab. 3) wurden verschiedene Chargen von mit Poncho® oder Poncho Pro® gebeiztem Mais mit Beizqualitäten von 0,091 g Clothianidin/ha bis 0,041 g as/ha eingesetzt. In 2010 wurde Saatgut mit höherer Staubabriebmenge aber niedrigem Wirkstoffgehalt eingesetzt. In 2011 wurde eine Charge mit geringerem Staubabrieb, aber höherem Wirkstoffgehalt in Stäuben ausgewählt. Die resultierende verwehbare Wirkstoffmenge je Hektar, errechnet aus dem Staubabrieb und dem Wirkstoffgehalt des Abriebstaubs (HBAS), war mit 0,091 g as/ha in 2010 der Beizqualität in 2011 mit 0,086 g as ähnlich und höher als 2012. Ausgesät wurde jeweils die praxisübliche Aussaatstärke für Mais von 100.000 Korn je ha.

Tab. 3 In Versuchen mit Maisaussaat und Abdrift auf blühenden Rapsbestand eingesetztes Saatgut

AK	BK	KHA	TKG	AWM	HBG	HBWG	HBAS
		[Korn /ha]	[g / 1000 Korn]	[g as/ha]	[g / ha] je 100.000 Korn	[% (w/w)]	['Heubach' g as/ha]
Mais 2010	Raps	100.000	335	125	0,86	10,6	0,091
Mais 2011	Raps	100.000	259	50	0,45	19,1	0,086
Mais 2012 ¹	Raps	74.400 ¹	297	16,8	0,71 ¹	7,2 ¹	0,041 ¹

¹Für die Versuche 2012 wurde 13.400 Korn behandeltes (42 % HBWG) und unbehandeltes Saatgut vermischt (Mischung 7,2% HBWG), um einen etwa um die Hälfte geringeren HBAS Wert als 2010/2011 zu erreichen. HBG wurde von ausgesäten 74.400 Korn (HBG: 0,53 g/ha) auf 100.000 Korn (HBG: 0,71 g/ha) hochgerechnet.

AK: Ausgesäte Kultur; BK: Blühende Kultur; KHA: Aussaatstärke; TKG: Tausendkorngewicht; AWM: Mit Saatgut ausgebrachte Wirkstoffmenge/ha; HBG: Heubach-Abriebmenge in g im Feinstaub (1-200 µm); HBW: Wirkstoffgehalt Clothianidin im Heubach-Abriebstaub, HBAS: Ausgebrachte Wirkstoffmenge im Heubachstaub

Die Versuche mit Abdrift während der Aussaat von **Raps** und Abdrift auf blühendem Senf wurden mit kommerziell erhältlichem, mit Elado® gebeiztem Saatgut durchgeführt (Tab. 4). Im Gegensatz zu Mais schwanken die in der Praxis ausgesäten Saatgutmengen bei Raps stärker. Die zulässige Saatgutmenge wird oft in kg/ha angegeben, die Anzahl Saatkörner ist abhängig vom Tausendkorngewicht. Um ein *Worst-Case*-Szenario abzudecken, wurden leicht höhere als praxisübliche Aussaatstärken (etwa 500.000 bis 700.000 Korn), ca. 730.000 bis 920.000 Korn je ha ausgesät. Die Saatgutabriebqualität, die verwehbare, hier als ausgebracht bezeichnete Wirkstoffmenge im Heubachstaub (HBAS) lag zwischen 0,025 g und 0,0009 g as/ha. Ein Versuch wurde im Frühjahr mit Aussaat von Raps und Abdrift auf blühenden Raps (Versuch 2014/1) sowie drei Versuche im Herbst 2011, 2013 und 2014 mit Aussaat von Raps und Abdrift auf blühenden Senf durchgeführt. Im Zeitraum 2009-2013 konnten jedoch zwei bereits aufgebaute Versuche (im Herbst 2010 und Frühjahr 2013) aufgrund widriger Witterung gar nicht durchgeführt werden.

Tab. 4 In Versuchen mit Rapsaussaaf und Abdrift auf blühenden Senf- oder Rapsbestand eingesetztes Saatgut

AK	BK	KHA	TKG	AWM	HBG	HBWG	HBAS
		[Korn /ha]	[g / 1000 Korn]	[g as/ha]	[g / ha je 100,000 Korn]	[% (w/w)]	['Heubach' g as/ha]
Raps 2011	Senf	730.000	4,9	36	0,40	6,33	0,025
Raps 2013	Senf	872.614	4,75	41,2	0,13	6,83	0,00871
Raps 2014/1	Raps	920.635	5,25	48,3	0,38	1,21	0,0047
Winterraps 2014/2	Senf	753.365	5,35	40,3	0,031	2,91	0,0009

AK: Ausgesäte Kultur; BK: Blühende Kultur; KHA: Aussaatstärke; TKG: Tausendkorngewicht; AWM: Mit Saatgut ausgebrachte Wirkstoffmenge/ha; HBG: Heubach-Abriebmenge in g im Feinstaub (1-200 µm); HBW: Wirkstoffgehalt Clothianidin im Heubach-Abriebstaub, HBAS: Ausgebrachte Wirkstoffmenge im Heubachstaub. In allen Rapsaussaafversuchen wurde mit Elado®, 10 g Clothianidin/ kg gebeiztes Saatgut ausgesät.

3.1.2 Aufbau, Ablauf und Durchführung der Abdriftversuche

Aussaaf und Messung der Abdrift

Termine für die Abdriftversuche wurden kurzfristig bei der Vollblüte unter Berücksichtigung von Windrichtung und Witterungsbedingungen bestimmt, um eine möglichst optimale Bienenflugaktivität und geeignete Windbedingungen zu gewährleisten. Am Tag der Aussaat wurden Windrichtung und -geschwindigkeit gemessen und erst bei geeigneten Bedingungen (zwischen 2-5 m/s, wenig Böen) mit der Aussaat begonnen. Durch die Staubabdrift bei Aussaat wurde eine der benachbarten blühenden Flächen eingestäubt (im Folgenden als „Treatment“ bezeichnet), die der Windrichtung entgegengesetzte Fläche hingegen kaum (im Folgenden als „Kontrolle“ bezeichnet). In Freilandversuchen 2010 bis 2012 stand zusätzlich noch eine in mindestens 500 m Entfernung zur Aussaatfläche liegende Kontrolle, frei von potentieller Staubkontamination, zur Verfügung, die im Folgenden als Variante „Remote“ bezeichnet wird.

In den Versuchen wurden unterschiedliche, jeweils praxisübliche Aussaattechniken eingesetzt: Für die Mais-Aussaaf wurde eine pneumatische, mit Unterdruck arbeitende Einzelsämaschine (Kverneland Accord Optima NT e-drive) mit Deflektor eingesetzt. Deflektoren mit Umlenkung der Abluft in den Boden erreichen eine Reduktion der Staubdrift um ca. 90% im Vergleich zur Verwendung von nicht-nachgerüsteten Maschinen gleichen Typs (Rautmann et al., 2009). Zur Rapsaussaaf wurde eine pneumatische, mit Überdruck arbeitende Sämaschine (Amazone Drillkombination: pneumatische Aufbaudrille Amazone ADP Spezial) verwendet.

Versuchsflächen

Die Versuchsflächen für Raps- und Maisaussaat befanden sich auf verschiedenen windexponierten Standorten in der näheren Umgebung von Braunschweig (Tab. 5).

Tab. 5 Flächen für Aussaat von Mais und Winterraps und benachbarter, blühende Raps- respektive Senfbestand

Ausgesäte Kultur/Jahr	Blühende Kultur	Ort	Gesamtgröße ¹ [ha]	Länge x Breite [m] Blühende Kultur ²	Aussaatfläche [ha]	Länge x Breite [m] Säflähe
Mais 2010*	Raps	Wendhausen	3,5	242 x 94	1,23	242 x 51
Mais 2011	Raps	Lucklum	6,7	305 x 153	1,37	305 x 45
Mais 2012	Raps	Lucklum	6,7	305 x 153	1,37	305 x 45
Winterraps 2011	Senf	Lucklum	7,3	305 x 230	1,46	305 x 48
Winterraps 2013	Senf	Rietze	9,8	335 x 292	1,60	335 x 48
Winterraps 2014 (1)	Raps	Lucklum	6,7	305 x 153	1,37	305 x 45
Winterraps 2014 (2)	Senf	Rietze	9,8	335 x 292	1,50	335 x 45
¹ Aussaatfläche+ blühender Bestand vor Ausfräsen der Parzellen						
² blühender Bestand vor Ausfräsen der Parzellen						
* Maisaussaat 2010: auf 2 Seiten des blühenden Rapsbestands 2 benachbarte Flächen zur Aussaat.						

Im Jahr 2010 standen auf zwei Seiten des blühenden Rapsbestands zwei benachbarte Flächen zur Aussaat von gebeiztem Mais zur Verfügung (Anhang). Ab 2011 wurde ein veränderter Versuchsaufbau gewählt (siehe auch Georgiadis *et al.*, 2012a, Heimbach *et al.*, 2014). In allen folgenden Versuchen wurde für die Aussaat ein Streifen in der Mitte eines blühenden Raps- oder Senfbestands ausgefräst, so dass je nach Hauptwindrichtung eine der beiden blühenden Flächen mit Staub kontaminiert wurde (Abb. 7). Die Völker der Kontrolle im Halbfreiland und Freiland waren im Jahr 2011 somit potentiell etwas höher exponiert als 2010, da sie ebenfalls direkt am Feldrand der eingesäten Fläche aufgestellt wurden. Je Feldseite wurden mindestens 3 Expositionsmessflächen mit Petrischalen auf blankem Boden und dem blühenden, benachbarten Bestand angelegt und Bienenzelte über den blühender Trachtpflanzen aufgebaut. Zusätzlich, in Abb. 7 nicht zu sehen, wurden Bienenvölker im Freiland an einem nicht durch Staubabdrift beeinflussten Standort Remote in mindestens 500 m Entfernung zur Aussaatfläche aufgestellt.



Abb. 7 Aufbau Abdriftversuche 2011-2014: Staubabdrift während Aussaat in Versuchen mit Mais- und Rapsaussaat (Mittelstreifen) auf benachbarten blühenden Raps oder Senfbestand. Windabgewandter blühender Bestand diente als Kontrolle, windzugewandter, kontaminierter Bestand als Treatment. Je 3 Bienenvölker in Zelten (Δ) oder Freiland (B) und mindestens 3 Expositionsmessflächen auf blankem Boden und im blühenden Bestand für Petrischalen (PS)- und Pflanzenproben (P) je Variante. (Grafik: Pistorius, unveröffentlicht).

In den beschriebenen Versuchen gelang es meist gute Wind- und Witterungsbedingungen zu nutzen. Wegen widriger Witterungsbedingungen konnten 2 Versuche mit Rapsaussaat 2010 und Maisaussaat 2013 nicht ausgewertet werden.

Windgeschwindigkeit, Windrichtung und Witterung während der Versuche mit Aussaat von Mais (2010-2012) und Raps (2011-2014)

Insgesamt konnten in den realisierten Versuchen gut vergleichbare Windbedingungen für die Aussaat abgepasst werden. Daten zur Witterung im Versuchszeitraum wurden mit einer Wet-

terstation⁶ erhoben. Zusätzlich wurden Daten des Deutschen Wetterdiensts (DWD) in Braunschweig genutzt. Die Aufzeichnung der Windgeschwindigkeit und Richtung in 2,10 m Höhe während des Drillvorganges erfolgte sekundengenau mittels einer mobilen Wetterstation⁷. Die Messungen wurden jeweils in einer der mittleren Parzellen ohne Bewuchs und über den gesamten Aussaatzeitraum erfasst. Für die Versuche in Rietze im Herbst 2013 und 2014 wurden Daten zur Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Niederschläge der ca. 5,7 km von der Versuchsfläche entfernten Wetterstation „Hillerse“ des DWD genutzt. Die versuchsspezifischen Daten zu Windgeschwindigkeit und Windrichtung sind im Anhang II dargestellt.

Die Versuche mit Maisaussaat 2010-2012 wurden bei mittleren Windgeschwindigkeiten von 2,3 m/s mit Sollwertabweichung zur optimalen, senkrechten Windrichtung auf die staubexponierte Fläche von -38,2° bis +46,5° im gesamten Aussaatzeitraum durchgeführt, für die ersten fünf Reihen der Aussaat lagen die Windgeschwindigkeiten zwischen 2,3 bis 2,5 m/s, die Sollwertabweichung zwischen -27,8° bis +46,5°.

Die Versuche mit Rapsaussaat zwischen 2011 und 2014 wurden bei mittleren Windgeschwindigkeiten von 1,3 bis 2,5 m/s, mit Sollwertabweichung von -52,0° bis +62,3° im gesamten Aussaatzeitraum durchgeführt: Für die ersten fünf Reihen lagen die Windgeschwindigkeiten zwischen 1,3 und 2,3 m/s, die Sollwertabweichung zwischen -80,2° bis +26,6°.

3.1.3 Rückstandsmessungen in Nachbarflächen: Petrischalen, Blüten und Gesamtpflanzen

Erfassung der Rückstände auf unbewachsenem Boden benachbarter Flächen mit Petrischalen:

In Parzellen ohne Bewuchs wurden im Abstand von 0, 1, 3, 5, 10, 20 und 29,5 m von der gedrillten Fläche jeweils mittig längs der Drillrichtung in Windrichtung (Variante Treatment) fünf Petrischalen (ø 140 mm) mit feuchtem Filterpapier (Wasser plus Glycerol 1:1) auf dem Boden aufgestellt (Abb. 2). Auf der windabgewandten Seite, der Kontrollfläche, wurden in 3 m Abstand je 5 Petrischalen aufgestellt. Die Schalen wurden kurz vor der Aussaat geöffnet und einige Minuten nach Aussaatende wieder verschlossen und eingesammelt.

Erfassung der Rückstände in Nachbarkulturen durch Entnahme von Blütenproben im benachbarten Bestand:

Auf drei der windzugewandten Parzellen wurden in der blühenden Nachbarkultur (im Folgenden als Feldrandbereich bezeichnet) Expositions-Messflächen angelegt und mit einem Wasser-Glycerol-Gemisch (1:1) auf einer Spritzbreite von 11 m beginnend zur Aussaatfläche und

⁶ Wetterstation 2010 "Driesen & Kern MMC" mit eingebautem Datenlogger, ab 2011 Wetterstation Firma Gero „J 40“, Modell „CW 12“; Regenmesser „RW 12“ mit integriertem Datalogger

⁷ Firma Lambrecht GmbH, Modell "Vento", mit integriertem Datenlogger

einer Länge von 15 m appliziert. Dadurch wurde ein *Worst-Case*-Szenario generiert, um den Einfluss eines feuchten Pflanzenbestandes auf die Fängigkeit von wirkstoffhaltigen Stäuben zu untersuchen und um Staubverlust bei den Probenahmen zu vermeiden. Nach Beendigung der Aussaat wurde in der Wasser-Glycerol-behandelten Fläche je eine Pflanzenprobe im Abstand von 0, 1, 3 und 5 m zur gedrillten Fläche längs zur Drillrichtung mittels Zählrahmen (Göttinger Zählrahmen, 31 cm * 31 cm = 0,0961 m²) in 3 Wiederholungen beprobt. Bei jeder Pflanzenprobe wurden die Blütenbüschel am Blütenstiel abgeschnitten und in Aluschalen aufgefangen.

Erfassung der Rückstände in Nachbarkulturen durch Beprobung der gesamten Pflanze im benachbarten Bestand:

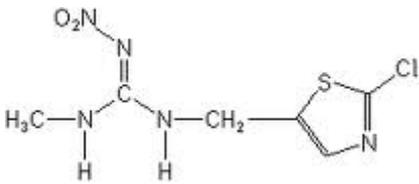
Nach den Blütenprobenahmen wurden auch die grünen Teile der Pflanzen beprobt und zusätzlich eine Petrischale auf dem Boden direkt unter der Pflanze an der Wurzel aufgestellt, so dass der gesamte von oben deponierte Staub über die Blüten, grünen Pflanzenteile und auf dem Boden errechnet und der Flächenbezug hergestellt werden konnte.

Rückstandsanalysen

Ziel der Rückstandsanalytischen Begleitung der Versuche war die Ermittlung der Deposition von Clothianidin auf „Passivsammlern“, den Petrischalen mit Filterpapier, in/auf Pflanzenblüten und –blättern im Off-Crop und die gleichzeitige Erfassung von Daten zur Exposition von Bienen durch die Bestimmung der Konzentrationen des Wirkstoffes in Nektar, Pollen und Bientotenfall. Ausgewählte physikalisch-chemischen Eigenschaften für den Wirkstoff Clothianidin sind in Tab. 6 aufgeführt.

Prinzipiell erfolgte die Aufarbeitung der Proben nach der im JKI, Institut ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Berlin-Dahlem etablierten Analysenmethode durch Dr. Matthias Stähler, I. Stachewitz und G. Smykalla. Eine repräsentative Menge Probenmaterial (ungefähr 2 g Bienen, entsprechend etwa 20 Bienen, oder 2 bis 3 g Pollen) wurde mit 40 ng Surrogat/Analysenprobe (Acetamidrid D3 D3 (N-methyl D3)) in einem Extraktionsröhrchen versetzt und etwa eine halbe Stunde belassen. Nach der Extraktion mit 30 ml Aceton/Wasser 2:1, (v:v) unter Verwendung eines Ultra-Turrax[®] für 3 Minuten wurde ein Aliquot von 15 ml des Extrakts in eine Chem Elut[®] Kartusche überführt und wiederum mit zweimal 50 ml Dichloromethan für den Reinigungsschritt eluiert. Dieser vereinte Extrakt wurde am Vakuumrotationsverdampfer bis zur Trockenheit eingeengt. Der getrocknete Extrakt wurde anschließend wieder mit 1 ml Methanol/Wasser 1:1, (v:v), das 50 ng/ml internen Standard (Clothianidin D3) enthält, aufgenommen und nach dem Ausfrieren des Messextraktes über Nacht bei –18 °C filtriert.

Tab. 6 Angabe zur Prüfsubstanz. Auszug aus dem Datenblatt (2012) des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) für den Wirkstoff Clothianidin

Wirkstoff:	Clothianidin (Neonicotinoid)
Strukturformel von Clothianidin (CAS-Nr. 210880-92-5) Summenformel: C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S	
IUPAC Name	(E)-1-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-3-methyl-2-nitroguanidine

Anschließend erfolgte die Messung der Probe am LC/MS/MS-System. Für jede der aufgeführten Matrices wurden die in Wiederfindungsraten und Bestimmungsgrenze getestet. Die mittlere Wiederfindung in Bienen an der Bestimmungsgrenze /LOQ) lag bei 93%, mit einer relativen Standardabweichung von 15,8%, in Pollen 108%, mit einer relativen Standardabweichung von 4,7%. Die Nachweisgrenze LOQ für die Metaboliten TZMU und TZNG betrug 10 µg/kg, mit LOD's von 1,0 µg/kg und 5,0 µg/kg und Wiederfindungsraten zwischen 84% bis 125%. Als Bestimmungsgrenzen (BG, LOQ) wurden für Petrischalen 0,70 µg/m² für Blüten und Blätter 0,10 µg/m², als Nachweisgrenzen (NG/LOD) für Petrischalen 0,14 µg/m², für Blüten und Blätter 0,050 µg/m² ermittelt.

Die Bestimmung von Clothianidin und des definiert zugegebenen Surrogats Acetamiprid D3 wurde mit der Kopplung von Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC: Dionex UltiMate 3000, Säule: enomenex Synergi Max RP 50*2 mm, 2,5 µm; Injektionsvolumen 2 µl; Solvent A: Methanol + 0,1 % Essigsäure; Solvent B: Wasser + 0,1 % Essigsäure) mit der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS: AB SCIEX QTRAP 5500) durchgeführt. Die Quantifizierung erfolgte über die Peakflächen.

3.1.4 Analyse der Auswirkungen auf Bienen, Rückstände in Bienen und Pollen

Für die Erfassung der Flugaktivität, Mortalität und Volks- und Brutentwicklung der Bienen wurden Versuche in Anlehnung an die Vorgaben zur Durchführung von Pflanzenschutzmittelversuchen mit Bienen in Richtlinie EPPO 170 (4) vorgenommen. Für die Versuche in dieser Arbeit werden spezifische Modifikationen für die Staubversuche in den Unterkapiteln beschrieben. Diesen und allen weiteren Applikationsversuchen gemein ist die offiziell empfohlene Erfassungsmethodik der Flugaktivität, Mortalität und Volks- und Brutentwicklung der Bienen.

Versuchsaufbau: Halbfreiland- Zeltversuche mit Bienenvölkern

In den Abdriftversuchen wurden jeweils sechs Bienenflugzelte (L x B: 16 x 6 m, „Römertunnel“, Professional Gardening, bedeckt mit bienendichter Gaze, Maschenweite ca. 2 mm), an beiden Seiten des Feldrands vor Beginn der Blüte aufgebaut. Um Flugbeobachtung der Bienen durchzuführen und den Totenfall zu erfassen, wurde ein Streifen in der Mitte des Bestandes freigeschnitten und mit grünem Schattierungsgewebe (50 x 700 cm und 50 x 1.700 cm) ausgelegt. In Versuchsgruppen wurden annähernd zwischen Varianten vergleichbar starke Bienenvölker, in jedem Zelt ein Volk mit Königin und etwa 6.000 bis 8.000 Bienen und allen Brutstadien, mit Brut auf mindestens drei Waben, etwa drei Tage vor der geplanten Aussaat aufgestellt. Am Tag der Aussaat vor Bienenflug (ca. 6:00 Uhr) wurden die Fluglöcher aller Völker in Zelten verschlossen und die Zeltgaze vor Beginn der Aussaat entfernt. Unmittelbar nach Ende des Drillvorgangs wurden alle Zelte wieder mit Gaze zugedeckt und anschließend die Fluglöcher der 6 Zeltvölker wieder geöffnet. Die Bienen wurden somit nicht direkt der Staubwolke während der Aussaat exponiert, sondern hatten nur Kontakt mit Partikeln auf Blüten. Für die Wasserversorgung in den Zelten wurde eine Schale mit Blähton und unkontaminiertem Wasser in der Nähe der Völker platziert.

Versuchsaufbau: Freiland-Versuche mit Bienenvölkern

Am Rand jeder Freifläche wurden in den Versuchen Bienenvölker mit Fluglochausrichtung zur Drillfläche in einem Meter Abstand zur Feldkante in der Regel 3 Tage vor der geplanten Aussaat aufgestellt. Für die Versuche wurden vergleichbar große Völker verwendet, je Variante (Remote, Kontrolle, Treatment) drei bis vier Bienenvölker vergleichbarer Stärke mit mindestens 10.000 Bienen und Brut auf mindestens fünf Waben und allen Brutstadien.

Die Fluglöcher aller Freilandvölker blieben während des gesamten Drillvorgangs unverschlossen, so dass die Bienen ungehindert ein- und ausfliegen konnten. Somit waren die Bienen der „Kontrolle“ auf der Versuchsfläche und Treatment in unterschiedlichem Ausmaß der Staubexposition während der Aussaat und somit in der Luft beim Durchfliegen der Staubwolke ausgesetzt. Die Bienen konnten sowohl auf der Kontroll- als auch auf der eingestaubten Seite des Versuchsfelds sowie an anderen Pflanzen in ihrem Flugkreis sammeln. Daher ist die Variante Kontrolle im Feld nicht als echte Kontrolle, sondern als „Feldkontrolle“ anzusehen.

In Versuchen mit Maisaussaat 2010, 2011 und 2012 sowie Rapsaussaat 2011 wurden an einem mehr als 500 m Luftlinie von der Versuchsfläche entferntem Standort „Remote“ vier weitere Versuchsvölker aufgestellt; die hier ein- und ausfliegenden Bienen waren somit nicht direkter Staubabdrift in der Luft exponiert und können daher als „echte“ Kontrolle betrachtet werden. Für Rückstandsproben wurde im Freiland zusätzlich jeweils auf beiden Seiten der Versuchsfläche je ein Bienenvolk aufgestellt um einen möglichen Einfluss der Rückstands-

probennahmen auf Volksparemeter wie Erhebung des Totenfalls der Versuchsvölker auszuschließen. Im Anschluss an die Expositionsphase nach Abdrift wurden alle Bienenvölker der Halbfreiland- und Freilandversuche 7 Tage (± 1 Tag) nach Aussaat in einem mehr als 5 km von der Versuchsfläche entfernten Standort ohne intensiv bewirtschaftete Flächen in der näheren Umgebung für die Nachbeobachtung der Populationsparameter aufgestellt.

Erfassung der Flugaktivität in Versuchszelten und im Freiland

Die Flugaktivität wurde in Zelten innerhalb dreier Beobachtungsareale von je 1m² blühendem Bestand ermittelt. Im Freiland wurden je sechs Flugquadrate je Variante zufällig über das Feld verteilt. In einer Momentaufnahme (ca. 15-20 Sekunden) wurde die Anzahl der Bienen im Beobachtungsareal visuell erfasst. Die Flugaktivität wurde nach Aufstellung der Völker vor und nach der Applikation in der Regel je einmal täglich, am Applikationstag einmal vor und dreimal nach Applikation, am Tag nach Applikation zweimal erfasst.

Erfassung des Totenfalls in am Flugloch angebrachten Totenfallen

Zur Erhebung des Totenfalls wurde jedes Versuchsvolk jeweils mit einer vor den Fluglöchern angebrachten Totenfalle Typ „Gary“ versehen (B x L x H: 435 x 400 x 300 mm) (nach Gary, 1960, mit Modifikationen nach Illies *et al.*, 2002). Bei der Sammlung des Totenfalls wurden die toten Bienen aus den angebrachten Fallen und vom ausgelegten Schattierungsgewebe gezählt und nach Entwicklungsstadien (Larve oder Adult) und Geschlecht (Arbeiterin oder Drohne) differenziert. Der Totenfall wurde nach Aufstellung der Völker an Tagen vor und bis 7 Tage nach der Aussaat einmal täglich erfasst. Am Drilltag wurde die Mortalität einmal vor und dreimal nach Aussaat, und am Tag nach Aussaat zweimal ausgezählt.

Populationsschätzungen adulter Bienen und Brutzellen im Bienenvolk

Die Volksstärke (Anzahl adulter Bienen), die Wabenfläche mit Eiern, Larven und verdeckelter Brut sowie Nektar- und Pollenvorräte wurde einmal vor der Aussaat, und mindestens einmal nach Aussaat geschätzt, in Versuchen mit verlängerter Beobachtungszeit nach Aussaat bis zu vier Mal geschätzt. Die Gesamtzahl an Bienen, Anzahl Eier, Larven, verdeckelter Brut sowie Nektar und Pollen wurden aus den Schätzdaten errechnet und Mittelwerte bestimmt, auf der Basis von 800 cm² je Wabenseite, unter Annahme von 400 Zellen pro 100 cm² und maximal 3.200 Zellen pro Wabenseite. Für die Berechnung der Volksstärke wurden 125 Bienen pro 100 cm² angenommen. Die Anzahl an Bienen an den Beutenwänden wurde bei gleichen Annahmen mit in die Schätzung und Berechnung einbezogen.

Bei der Untersuchung der Bienenvölker und der Bienenbrut wurde zusätzlich auf Symptome von Bienenkrankheiten wie Kalkbrut, Sackbrut, *Nosema* spp. Amerikanische oder Europäische Faulbrut oder Parasiten wie *Varroa destructor*, *Aethina tumida*, *Tropilaelaps* spp. geachtet, und jegliche Auffälligkeiten (z.B. schwarze, haarlose Bienen, flugunfähige Bienen, unübliches oder löchriges Brutnest) wurden dokumentiert. Durch die visuelle Schätzung der Gesamtzahl der Bienen, Brutzellen und des Nahrungsvorrats kann die Brutmenge- und der Brutzustand präzise erfasst werden; für die Bienenzahl sind jedoch einige Einflussfaktoren gegeben, welche die Interpretierbarkeit der Daten erschweren. In Versuchen mit Staubabdrift wurden Populationsschätzungen als Momentaufnahmen der Anzahl adulter Bienen und der Bienenbrut vorgenommen. Da in den Versuchen dieser Arbeit die akute Mortalität im Fokus stand und vergleichende Untersuchungen zur Anzahl adulter Bienen im Volk die Daten zum Totenfall erweitern, ist die Aussagekraft für die Messung des Volkszustands bei Abdriftversuchen als Parameter ausreichend.

Gewinnung von Nektar-, Pollen- und Bienenproben für die Rückstandsanalyse

Die Proben der Totenfallen vor den Einzelvölkern wurden für die weiteren rückstandsanalytischen Untersuchungen nach Versuchsvarianten (Remote, Kontrolle und Treatment der Freiland- und Zeltversuche) als Sammelproben zusammengefasst und in Kühlboxen zwischengelagert. Nach den Bonituren wurden Proben in die Tiefkühlkette überführt und bis zur weiteren Aufarbeitung bei -20°C aufbewahrt. Für Nektar- und Pollenproben wurden etwa 50 lebende Sammler am Flugloch mit einer Saugfalle abgefangen und unmittelbar mit Trockeneis am Versuchsstandort tiefgefroren. Für die Aufarbeitung im Labor wurde den gefrorenen Sammlerinnen der Hinterleib in angetautem Zustand mit einer Pinzette geöffnet und die Honigblasen einer Variante je Probenahme vollständig in ein Eppendorf überführt. Pollenhöschen wurden den Sammlerinnen in gefrorenem Zustand mit einer Pinzette abgenommen. Bienenbrot aus den Völkern wurde mit Plastikmessern aus Waben mit sichtbar frisch eingelagertem Pollen ausgeschnitten. Details zur Probenanzahl in den verschiedenen Versuchen sind im Anhang VII dargestellt.

3.2 Halbfreiland- und Freilandversuche mit Ausbringung definierter Staub- und Wirkstoffmengen

In den Applikationsversuchen (Kapitel 3.2) wurden *a priori* festgelegte Wirkstoffmengen ausgebracht und gezielt Dosis-Wirkungsbeziehungen untersucht: In einem Halbfreilandversuch die Auswirkung nach Ausbringung wirkstoffhaltiger Stäube vor täglichem Bienenflug auf blühenden Winterraps (Versuch I), in einem weiteren Halbfreilandversuch (Versuch II)

und einem Freilandversuch (Versuch III) nach Ausbringung während des täglichen Bienenflugs auf blühender Phacelia. Die Auswirkung von Staubexposition auf Bienen wurde anhand der akuten Mortalität, Flugaktivität, Brut- und Volksentwicklung der Bienenvölker erfasst und Rückstände in Nektar, Pollen und toten Bienen gemessen.

Gewinnung und Fraktionierung von Abriebstäuben für Versuche mit gezielter Applikation

Für die gezielte Ausbringung von Stäuben wurde eine größere Menge Stäube von der Absaugung einer kommerziellen Saatgutbeizungsanlage nach der Saatgutbeizung mit Poncho® (600 g/L Clothianidin) erhalten. Die Stäube wurden mit einem Rüttelsieb (Retsch, AS200) in sieben Größenfraktionen gesiebt. Die verschiedenen Fraktionen wurden gewogen und rückstandsanalytisch untersucht (Anhang). Vom gesamten Staub wurde ein Masseanteil 1,33 % der Fraktion <80 µm (mit Wirkstoffgehalt von 16,2%) und 1,96% Masseanteil der Fraktion 80-160 µm (mit 17,7% Wirkstoffgehalt) erhalten. Die Fraktionen <80 µm und 80-160 µm wurden im Verhältnis 2:3 (w/w) wiedervereinigt. Als Füllmaterial wurde unkontaminierter Standardboden LUFA 2.2 (Batch F 21593) gesiebt und in einem im Verhältnis 2:3 gemischten Fraktionen <80 µm und 80-160 µm mit den wirkstoffhaltigen Stäuben gemischt, um die sehr geringe Materialmenge gleichmäßiger ausbringen zu können.

3.2.1 Manuelle Ausbringung definierter Staub- und Wirkstoffmengen im Halbfreiland

In zwei Halbfreilandversuchen wurden die Auswirkungen einer Staubausbringung verschiedener Aufwandmengen, 1,0 und 2,0 g as/ha (Versuch I) und für die Aufwandmenge 1,0 g as/ha ein Vergleich der Auswirkung einer Staubapplikation im Vergleich zu einer Spritzapplikation (Versuch II) auf Honigbienen untersucht.

Versuchsablauf und Versuchsdurchführung

Versuch I: Ausbringung verschiedener Aufwandmengen (1,0 und 2,0 g as Clothianidin/ha):

Im Versuch wurden drei Varianten mit je 3 Wiederholungen untersucht:

- eine unbehandelte Kontrollvariante K,
- Behandlung T1 mit einfacher (1,0 g as Clothianidin/ha)
- Behandlung T2 mit doppelter Aufwandmenge (2,0 g as/ha)

In jeder der drei Varianten wurden je 45,1 g wirkstofffreier Erdstaub (LUFA 2.2) als Füllmaterial eingesetzt, um die geringen Wirkstoffstaubmengen möglichst gleichmäßig verteilen zu können. Jedes Versuchszelt wurde auf vier Einzelparzellen aufgeteilt und für jede Parzelle das

Wirkstoff-Erdstaubgemisch vorbereitet. In der Kontrolle wurde nur Erdstaub (LUFA 2.2), in Behandlung T1 Erdstaub mit 0,000753 g Wirkstoffs/ Parzelle, in Behandlung T2 Erdstaub mit der doppelten Wirkstoffaufwandmenge (0,001505g/ Parzelle) vermischt und die Mischung manuell durch Handverstäubung möglichst gleichmäßig ausgebracht.

Für die Halbfreilandversuche, Versuch I und Versuch II, wurden Zelte mit Grundfläche von 4 m auf 10 m in blühendem Winterraps oder blühender Phacelia aufgebaut, mit einer luftdurchlässigen Gaze (Maschenweite: 2 mm) abgedeckt und der blühende Bestand für eine kreuzweise ausgelegte 0,5 m breiten Bodengaze zur Erfassung des Totenfalls außerhalb der Völker freigeernt (Abb.8).

Im Versuch wurden neun einzargige Wirtschaftsvölker (zehn Zandermaß-Waben in Hohenheimer Einfachbeuten, Maße: 520 x 420 x 227 mm), mit jeweils einer eierlegenden Jungkönigin, etwa 10.000 Arbeiterinnen, Brut auf mindestens 3 Waben und vergleichbarer Anzahl aller Brutstadien und einen ausreichendem Futtermittelvorrat an Pollen und Nektar eingesetzt. Die Erfassung der Flugaktivität, der Mortalität und Populationsentwicklung erfolgte für Honigbienen wie in den in Kap 3.1. beschriebenen Abdriftversuchen. Bei den Bienenvölkern erfolgten zwei weitere Populationsschätzungen (Tag +8 sowie Tag +21) nach Applikation.

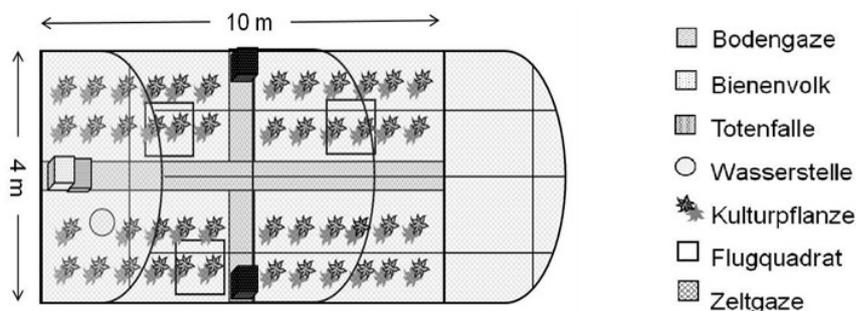


Abb. 8 Versuchszelte mit Bienenvölkern und blühenden Kulturpflanzen für Halbfreilandversuche mit manueller Applikation von Beizstäuben

Versuch II: Auswirkung einer Staubapplikation im Vergleich zu einer Spritzapplikation:

Für die Beantwortung der Frage, inwiefern Daten aus Versuchen mit Spritzanwendungen zur Interpretation der möglichen Auswirkungen von Staubexposition Abdriftdaten herangezogen werden können, und ob sich das Risiko durch Staubpartikel- von Spritzmittelkontamination unterscheidet, wurden in diesem Versuch die Auswirkungen nach manueller Staubapplikation und Spritzung auf eine Fläche mit blühender Phacelia (*Phacelia tanacetifolia*) bei gleicher Aufwandmenge je ha verglichen.

Hierfür wurden folgende Varianten gewählt:

- mit Leitungswasser behandelte Spritzung (CS) während des Bienenflugs
- eine (CD) mit unbelastetem Erdstaub (Lufa 2.2.)
- mit manueller Staubapplikation von 1.0 g as Clothianidin/ha (TD) mit unbelastetem Erdstaub (Lufa 2.2.) als Streckmittel
- mit Spritzung (TS) von Dantop® mit Aufwandmenge 1.0 g as Clothianidin/ha
- mit Spritzung (TS) von Dantop® mit Aufwandmenge 1.0 g as Clothianidin/ha

In den vier untersuchten Varianten (CS, CD, TS, TD) wurden je zwei Wiederholungen in den Zelten der Kontrollvarianten CS und CD und je 4 Wiederholungen in Varianten TS und TD geprüft. In Behandlung CD und TD wurden je 45,1 g wirkstofffreier Erdstaub (LUFA 2.2) ausgebracht, in TS der Erdstaub zusätzlich mit 0,000753 g Wirkstoffs / Parzelle (1,0 g as. Clothianidin / ha) vermischt und die gesamte, im Labor für je vier Parzellen pro Zelt vorbereitete Mischung, manuell möglichst gleichmäßig über dem Bestand ausgestreut. In den Spritzvarianten wurde in der Kontrolle CS nur Wasser, in Variante TS eine Spritzung von 1,0 g as Clothianidin des formulierten Mittels Dantop® (wasserdispergierbares Granulat; 500 g/kg Clothianidin, reguläre Aufwandmenge 35 g as/ha) mit einer Wasseraufwandmenge von jeweils 300 L/ha appliziert.

Im Versuch wurden 12 einzargige, (zehn Zandermaß-Waben, Hohenheimer Einfachbeuten), im Vergleich zu Versuch I etwas kleinere Jungvölker mit jeweils einer eierlegenden Jungkönigin, etwa 2.500 bis 5.000 Arbeiterinnen, Brut auf mindestens drei Waben und vergleichbarer Anzahl aller Brutstadien und einem ausreichenden Futtervorrat an Pollen und Nektar eingesetzt. Populationsschätzungen erfolgten drei Tage vor und zehn Tage nach der Applikation.

Im Anschluss an die Expositionsphase wurden die Bienenvölker an demselben, ca. neun km entfernten Standort ohne intensiv bewirtschafteten Flächen in der näheren Umgebung aufgestellt. Für die Spritzung wurde eine handelsübliche Rückenspritze (Firma Lechler) verwendet.

3.2.2 Maschinelle Ausbringung definierter Staub- und Wirkstoffmengen im Freiland

Versuchsablauf

In diesem Freilandversuch wurden die Auswirkungen nach maschineller Staubapplikation auf eine Fläche mit blühender Phacelia (*Phacelia tanacetifolia*) während des täglichen Bienenflugs für folgende Varianten untersucht:

- Unbehandelte Kontrolle
- Behandlungsgruppen T1 (0,25 g as Clothianidin/ha)
- Behandlungsgruppen T2 (1,0 g as/ha)

Für die gezielte maschinelle Applikation von Stäuben im Freiland (Versuch III) wurde ein Gerät durch Kooperation der Eurofins-GAB und Firma Lechler entwickelt. Basis hierfür sind ein kommerzielles Gebläse, welches in Sägeräten eingesetzt wird, ein Staubapplikator (basie-

rend auf dem Design eines Mikrogranulatapplikators) und eine Saatgutvereinzelung eines pneumatischen Sägeräts mit 3 Meter Ausleger und 24 Düsen. Die Applikation wurde mit einer Zielapplikationsrate von 600 g/ha Erdstaub vermischt mit Beizmittelabriebstäuben ausgebracht. Die Verdünnungsrate Erdstaub zu Beizstaub betrug 424:1 in T1 und 103:1 in T2. Der Reststaub in der Maschine wurde gewogen und die Abweichung von der Zielmenge mit +8,7 % (T1) und 0,0 % (T2) bestimmt, so dass die ausgebrachte Menge 0,27 g as/ha in T1 und 1,0 g as/ha in T 2 betrug.

Versuchsfläche

An Versuchsflächen mit blühender Phacelia (*Phacelia tanacetifolia*) mit einer Größe der Kontrollfläche von 0,6 ha und der Behandlungsvarianten T1 und T2 von je 0,4 ha mit einer Steigung von 0% und einem Abstand von mindestens 4 km zwischen den Versuchsflächen und maximalem Abstand von 7,8 km zueinander wurden je vier Bienenvölker vergleichbarer Größe fünf Tage vor der Applikation aufgestellt. Der Versuch wurde im Zeitraum 1. August bis 6. September 2012 in Süddeutschland, in der Nähe von Niefern-Öschelbronn, durchgeführt. Der Feldversuch wurde in Anlehnung an die offiziellen Rahmenrichtlinien für Pflanzenschutzmittelstudien, EPPO 1/170 (4) (OEPP/EPPO, 2010) und den in Kapitel 3.1 beschriebenen Methoden zur Erfassung der Auswirkung auf Bienen durchgeführt.

Erfassung der Auswirkung auf Bienen

Die Völker hatten zu Versuchsbeginn in allen Varianten etwa 20.000 Bienen und mindestens auf 5 Waben Brut aller Stadien (Eier, Larven, verdeckelte Brut). Mortalität in Totenfallen, Sammelaktivität und Verhalten der Bienen wurden 4 Tage vor der Applikation bis 7 Tage nach der Applikation erfasst. Populationsschätzungen wurden einmal vor der Applikation und vier Mal nach der Applikation bis 28 Tage nach Applikation durchgeführt. Durch die für die Applikation und den Transport der Maschine zwischen den Versuchsfeldern benötigte Zeit wurde die Applikation in T1 etwa zwei Stunden früher als in T2 durchgeführt. Um die entsprechende Flugaktivität in der Kontrolle zu erfassen, wurden die Flug- und Mortalitätsbonituren jeweils den Zeiten in T1 und T2 angepasst.

Rückstände in Bienen und eingelagertem Bienenbrot

Die in den Totenfallen verendeten Bienen wurden nach der täglichen Auszählung in eine Sammelprobe je Behandlungsvariante überführt, sofort mit Trockeneis eingefroren und in Kühlboxen bei -20°C transportiert und gelagert. Phacelia-Pollen ist durch die intensive Farbe gut von anderen Blütenpollen zu unterscheiden. Von eingelagertem Bienenbrot mit violetter Phacelia-Pollen wurden sieben Tage nach der Applikation mit Einmal-Plastikmessern je zwei

Proben pro Volk aus den Völkern ausgeschnitten und gekühlt ins Labor und in weitere Lagerung bei -20°C bis zur beschriebenen Rückstandsanalytik gebracht (vgl. Kap. 3.2).

3.3 Statistische Auswertung

Die beschreibende Statistik wie die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen erfolgte mit MS Office Excel 2010. Die Auswertung folgt den Empfehlungen der OECD Richtlinie 54 (OECD, 2006) für statistische Auswertung von ökotoxikologischen Versuchen. Zur statistischen Bewertung der Ergebnisse wurden Varianz-, Regressions- und Korrelationsanalysen mit dem Statistikprogramm XLSTAT (V.20144) durchgeführt. Die statistischen Auswertungen wurden getrennt für jeden Versuchsansatz (Halbfreiland/Freiland) und jeden Einzelversuch berechnet. Vor der Durchführung der Auswertungen wurde jeweils die Normalverteilung der Residuen mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test / Shapiro-Wilks ($p > 0,2$ mit Shapiro-Wilks Test) sowie ein Barlett's Test zur Untersuchung der Varianzhomogenität eingesetzt, die Homoskedastizität wurde mit dem Levene-Test überprüft. Für direkte multiple Vergleiche wurde der Dunnett's-t-test nach $\log_{10}(x+0.5)$ Transformation eingesetzt. Bei Normalverteilung, Varianzhomogenität und Homoskedastizität wurde mit dem parametrischen Testverfahren, eine mehrfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen durchgeführt, um die Wirkung der Behandlung und die zeitliche Auswirkung der Behandlung und die Interaktion der Faktoren Zeit und Behandlungsgruppe auf die Mortalität respektive Volks- und Brutentwicklung zu bestimmen. Um darüber hinaus Unterschiede zwischen den unabhängigen Stichproben der Varianten zu analysieren, wurden mit post-hoc Tests multiple Vergleiche, dem Dunn-Sidak-Test ($\alpha=0,05$) durchgeführt, auf signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen analysiert und durch verschiedene Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Die zu verschiedenen Probenahmeterminen gemessenen Parameter adulte Bienen und gesamte Bienenbrut wurden für jeden Schätztermin einzeln ausgewertet. Damit ergab sich ein zweifaktorielles Varianzmodell, in dem die Prüffaktoren Behandlungsgruppe und Schätztermine sowie die Wechselwirkung zwischen beiden Faktoren aufgenommen wurden. Die sehr umfangreichen Detailergebnisse der post-hoc-Tests der tageweise verglichenen Mortalität sind im Anhang aufgeführt. Wenn die Daten nicht normalverteilt vorlagen, wurden die Daten mit dem Kruskal-Wallis Test auf Signifikanzen geprüft. Für alle eingesetzten Testverfahren erfolgte die Auswertung entsprechend $p > 0,05$ nicht signifikant; * ($p=0,05$) signifikant; ** ($p=0,01$) hoch signifikant; *** ($p=0,001$) höchst signifikant.

4 Ergebnisse

Vorbemerkung

Nach Aussaat von Mais- und Rapssaatgut unterschiedlicher Beizqualitäten, gemessen in g as Clothianidin/ha (HBAS), wurden die Rückstände in Nichtzielflächen in benachbarten Arealen in Petrischalen auf unbewachsenem Boden und im benachbarten blühenden Pflanzenbestand (Petrischalen + grüne Teile + Blüten) gemessen (Kap. 4.1.1 und Kap 4.2.1). Die Rückstandsmessungen beschreiben somit die Kontamination der Fläche, der Bienen bei der Sammelaktivität auf dem benachbarten blühendem Raps- oder Senfbestand in den Halbfreiland- und Freilandversuchen ausgesetzt waren. Die Auswirkungen auf Bienen und Rückstände in Nektar, Pollen und toten Bienen nach Aussaat von Mais (Kap. 4.1.2-4.1.4) und Raps (Kap. 4.1.5-4.1.8) werden vergleichend in Kap. 4.3. dargestellt.

Für eine bessere Lesbarkeit und Übersichtlichkeit werden die Versuche mit verschiedenen HBAS im Folgenden auch nach dem Versuchsjahr bezeichnet, obwohl anzunehmen ist, dass das Jahr in diesen Versuchen keinen Einfluss hat. Aufgrund des hohen Aufwands und der verfügbaren Flächen konnten maximal zwei Versuche im selben Jahr durchgeführt werden.

4.1 Aussaatversuche mit Mais

4.1.1 Rückstände in Petrischalen und Blüten in Nichtzielflächen

Rückstände in Petrischalen

Die Insektizidrückstände in Petrischalen, die auf den nicht bewachsenen Flächen aufgestellt wurden, verringerten sich in den einzelnen Versuchen nur langsam mit zunehmender Entfernung zur Drillfläche: ein Zeichen für eine weite Verfrachtung der Stäube.

Im Versuch mit Maisaussaat 2010 wurden maximale Rückstände in Petrischalen in 1 m Abstand zur Drillfläche gemessen (0,11 g Clothianidin/ha). Ab 2011 wurde in allen Versuchen auch die Deposition zusätzlich direkt am Feldrand in 0,15 cm (Probenahme von 0-30 cm) Entfernung sowie auch in 29,5 m Entfernung gemessen. Die maximale Rückstandsbelastung wurden bei mittlerem Abstand von 0,15 m mit 0,5 g as/ha gegenüber 0,2 g as/ha in 1 m nachgewiesen und belegen die hohe Kontamination des Feldrandbereichs. In 20 m Entfernung zum Feldrand wurden 2010 noch 0,028 g as/ha gegenüber 0,042 g/ha in 2011 gemessen. In 29,5 m Entfernung waren 2011 immer noch 0,025 g nachweisbar (Abb. 9).

Während nach Aussaat von Maissaatgut mit vergleichbaren HBAS die Rückstände in 1 m Abstand 2011 damit etwa doppelt so hoch wie 2010 lagen, wurden 2010 und 2011 bei Entfernungen von mehr als 1 m Rückstände in etwa vergleichbarer Höhe ermittelt. In 2012 lag der

Mittelwert in 0,15 m Entfernung mit 0,040 g Wirkstoff/ha deutlich niedriger als 2010 und 2011. Auch an den weiteren Messpunkten in 1 bis 29,5 m Entfernung waren die Werte deutlich niedriger, wohingegen die Werte aus 2010 und 2011 jeweils in ähnlicher Höhe lagen.

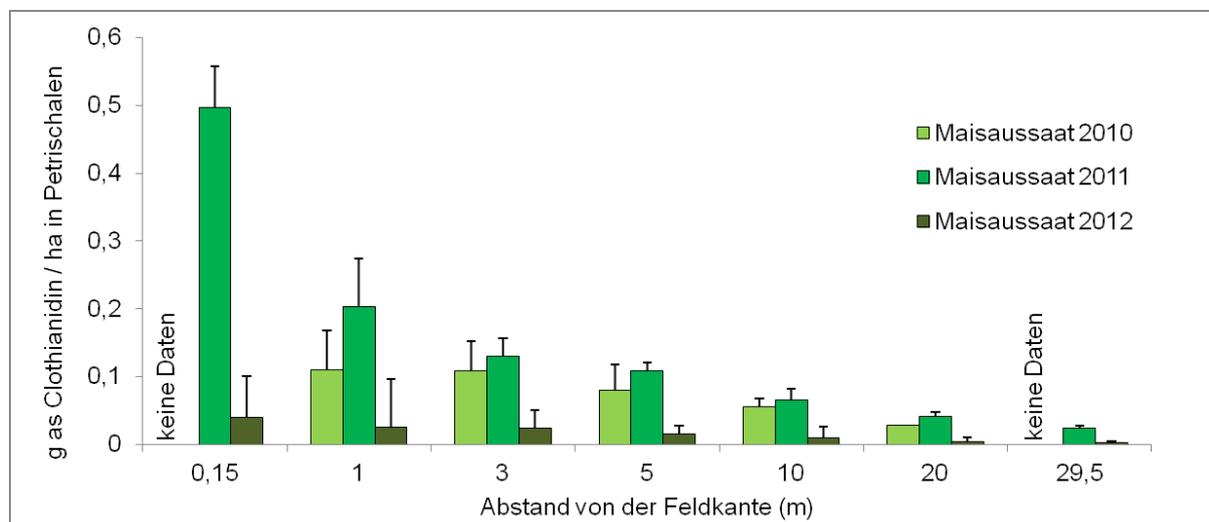


Abb. 9 Rückstände in Petrischalen mit Filterpapier in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Maisaussaats 2010-2012, Variante Treatment. Mindestens 3 Petrischalen pro Abstand, je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.

Die Messung auf der windabgewandten Kontrollseite in je 4 Petrischalen in 3 m Entfernung zeigte nur sehr geringe Wirkstoffmengen mit $< 0,001$ g as/ha in 2010; $0,0005$ g as/ha in 2011 und $0,008$ g as/ha in 2012. Eine Staubdeposition im Spurenbereich kann also auch auf der Kontrollseite nicht vollständig ausgeschlossen werden, allerdings war die Wirkstoffmenge sehr viel geringer im Vergleich zur eingestaubten Variante Treatment.

Die gesamte emittierte und verdriftende Staubmenge konnte über die hier durchgeführten Messungen nicht erfasst werden. Da bis 29,5 m Abstand Rückstände gemessen wurden, sind auch in weiterer Entfernung Rückstände anzunehmen.

Rückstände in Blüten des benachbarten Rapsbestands

Im Blütenbereich wurden nach Maisaussaats 2011 maximale Rückstände von $192 \mu\text{g}$ Clothianidin/kg Blüten in einem Abstand von 0,15 m zur Feldkante gemessen. Dies ist mehr als das 2-fache der Rückstände in 2010 ($89 \mu\text{g}/\text{kg}$) trotz nahezu vergleichbaren HBAS des Saatguts. In Blüten lagen auch die Mittelwerte von 1-5 m in 2011 mit $50,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ doppelt so hoch gegenüber $21,6 \mu\text{g}/\text{kg}$ in 2010 und 10 mal so hoch wie in 2012 mit $4,2 \mu\text{g}/\text{kg}$ gemessen. In 5 m Entfernung wurden in Blüten noch $33 \mu\text{g}/\text{kg}$ in 2011 und $14,9$ in 2010 gegenüber $4,8 \mu\text{g}$ Clothianidin/ kg in 2012 detektiert. In 0,15 m Abstand waren Blüten 2012 mit $13,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ kontaminiert.

Rückstände auf Gesamtpflanzen im benachbarten blühenden Rapsbestand

Neben den Rückständen in Petrischalen und Blüten des benachbarten Bestands wurde über die Summe der Messwerte der Blüten, der gesamten übrigen Pflanzenteilen und direkt an den Wurzeln auf dem Boden aufgestellten Petrischalen die gesamte Deposition im Pflanzenbestand in g as/ha gemessen (Abb. 10). In 2010 wurde der Wert noch nicht für den direkten Feldrand 0,15 m Abstand erfasst. In 2011 wurden im Vergleich mit 2010 sehr ähnliche Wirkstoffmengen in 1, 3 und 5 m Entfernung gemessen. In 0,15 m mittlerer Entfernung (Pflanzenproben von 0-30 cm) wurde das 2,66 fache der Rückstände im Vergleich mit der Messung bei 1 m Abstand nachgewiesen. Da auch der HBAS vergleichbar war, wurde der Faktor 2,66 auch für 2010 angenommen und die Messwerte extrapoliert. Im Bestand wurden somit höhere Wirkstoffmengen je ha als in Petrischalen abgelagert. Die im Nachbarbereich wachsenden Pflanzen und die Vegetationsstruktur beeinflussen demnach die Wirkstoffdeposition.

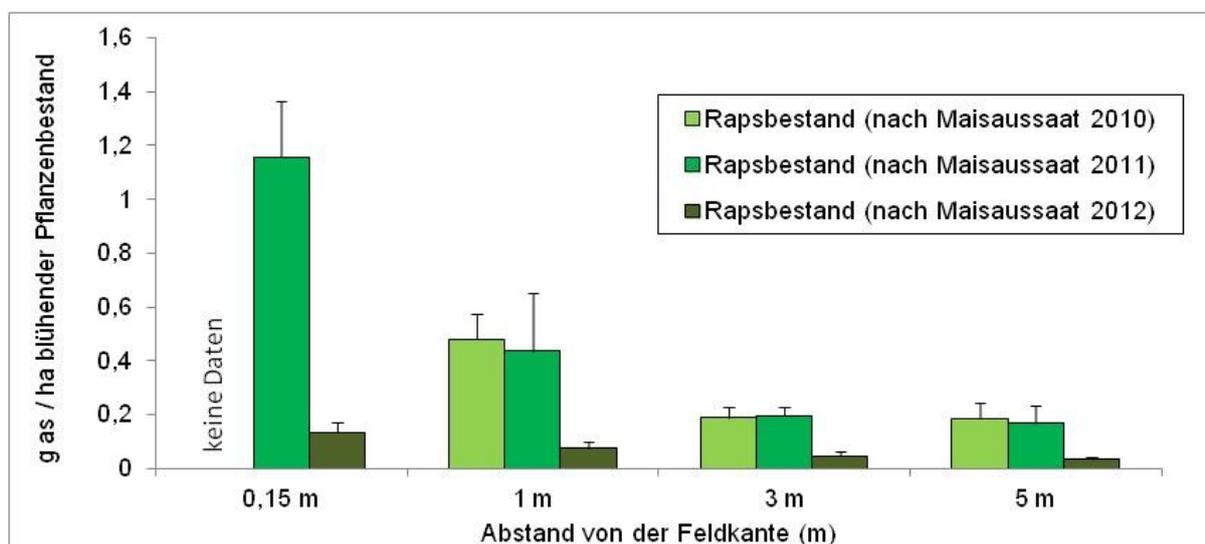


Abb. 10 Rückstände im benachbarten blühenden Rapsbestand in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Maisaussaat 2010-2012, Variante Treatment. Mindestens 3 Pflanzenproben pro Abstand, je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.

4.1.2 Auswirkungen der Beizstaubabdrift auf Mortalität von Bienen

Maisaussaat 2010: HBAS 0,091 g as Clothianidin / ha

Während der Blütezeit von Raps muss ein Versuchszeitraum mit möglichst günstigen Windbedingungen und ausreichender Flugaktivität von Bienen abgepasst werden. Aufgrund von starken Niederschlägen war jedoch 2 Tage vor Aussaat und an Tag 2 und 3 nach Aussaat keine Flugaktivität feststellbar. Die Flugaktivität im Freiland am Tag der Aussaat war zufrieden-

stellend, in den Versuchszelten gut. Die detaillierten Angaben zur Witterung und Flugaktivität während der Versuche sind im Anhang III dargestellt.

Halbfreiland: Im Versuch zeigten sich sehr schnell erste letale Auswirkungen auf die Bienen nach akuter Exposition durch Beizstaubpartikel. Vor der Aussaat betrug die Mortalität in den Zelten unter Halbfreilandbedingungen in der Kontrolle im Mittel 24,1 gegenüber 10,1 Bienen pro Volk im Treatment. Nach der Aussaat wurde ein deutlicher Anstieg der Mortalität in Halbfreiland und Freiland (Abb. 11) bereits unmittelbar in Variante Treatment festgestellt; Bienen mit Vergiftungserscheinungen wie Krämpfen, Verhaltensstörungen, Lähmungserscheinungen, gekrümmten Abdomen und unnatürlich abgespreizten Flügeln sowie erste tote Bienen waren bereits 30 Minuten nach Drillinge sichtbar. Unter Halbfreilandbedingungen (Abb. 11) wurden 378,3 tote Bienen pro Volk in Totenfallen am Drillingtag bis 6 Stunden nach Drillinge (Tag +0) gemessen. Der höchste Totenfall mit 815,3 Bienen pro Volk an Tag 1, 24 Stunden nach Aussaatende, war somit im Treatment um das 81 fache erhöht im Vergleich zum Voraussaatzeitraum. Im Nachaussaatzeitraum bis 6 Tage nach Drillingen wurde ein mittlerer Totenfall von 31,9 in Kontrolle gegenüber 275,5 adulter Bienen pro Volk im Treatment festgestellt.

Im Vergleich der Mortalität des Nach- zum Voraussaatzeitraum wurde in der Kontrolle ein Verhältnis von 1,3 gegenüber 27,2 im Treatment festgestellt (Tab. 7). Während die höchste Mortalität in den ersten 24 Stunden nach Aussaat feststellbar war, wurde weiterhin erhöhter Totenfall über mehrere Tage festgestellt. Sowohl für die Faktoren Zeit, Behandlungsgruppe ($F_{1,44}=28,34$; $p<0.0001$) als auch die Interaktion Zeit*Gruppe ($F_{10,44}=6,18$; $p<0.0001$) wurden statistisch hochsignifikante Unterschiede nachgewiesen (Tab. 8). Die gefundenen Unterschiede sind allerdings nicht nur auf einen reinen Gruppeneffekt zurückzuführen, sondern auf einen Effekt, der in der Zeit abhängig von der Gruppe variiert. Für die Interpretation der statistischen Auswertung sind besonders die Gruppe als auch Interaktion zwischen den Faktoren Zeit* Gruppe relevant für die Beurteilung der Auswirkungen der Staubabdrift auf die Mortalität. Null bis 7 Tage nach Drillingen wurde in Variante Kontrolle ein mittlerer täglicher Puppentotenfall von 4,6 Puppen/Tag gegenüber 2,8 im Treatment festgestellt. Trotz des starken Totenfalls adulter Bienen zeigten sich keine Auswirkungen auf den Puppentotenfall.

Freiland: Auch im Freiland wurden wie im Halbfreilandversuch deutliche Vergiftungssymptome und stark erhöhter Totenfall ab 30 Minuten nach Aussaatende verzeichnet. Während starke Mortalität adulter Bienen insbesondere in Variante Treatment, in deutlich geringerem Umfang auch in Kontrolle auf die Mortalität adulter Bienen festzustellen war, wurden keine Hinweise auf erhöhte Mortalität von Larven oder Bienenbrut im Nachaussaatzeitraum festgestellt. An Tag+1 wurde das 6 fache der Mortalität im Freiland (Abb. 11) in Variante Treatment im Vergleich zum Vorapplikationszeitraum gemessen. Nach den regnerischen Tagen 2 und 3 wurde an Tag 4 erneut deutlich erhöhter Totenfall im Treatment festgestellt. Auch in der Kontrolle wurde eine leicht erhöhte Mortalität nach Applikation im Vergleich zur Vari-

te Remote beobachtet. Im Freiland lag die Mortalität der Kontrolle um einen Faktor 2,1 höher im Nach- zum Voraussaatzeitraum. Wie im Halbfreilandversuch wurde im Freiland eine hochsignifikante Unterschiede zwischen Behandlungsgruppen und der Interaktion der Faktoren Zeit*Gruppe (Tab. 8) nachgewiesen, was den hohen Einfluss der Beizstaubabdrift auf die akute Mortalität statistisch belegt.

Null bis 7 Tage nach der Aussaat wurde in Variante Remote ein mittlerer täglicher Puppentotenfall von 0,69 Puppen/Tag gegenüber 0,78 in Kontrolle beobachtet. Im Treatment wurde höherer Puppentotenfall, im Mittel 2,2 Puppen pro Tag festgestellt.

Zusammenfassend wurde bei den Maisaussaatversuchen 2010 ein deutlich höherer Totenfall im Halbfreilandversuch im Vergleich zum Freilandversuch festgestellt. Sowohl im Halbfreilandversuch wie im Freilandversuch trat der höchste Totenfall in den ersten 24 Stunden nach Aussaat (Tag +0 und Tag+1) auf. Im Freilandversuch wurde ein sehr hoher Totenfall auch 4 Tage nach Aussaat in Variante Treatment festgestellt. Während ein deutlicher Anstieg der Mortalität bei adulten Bienen festgestellt wurde, wurde in diesem Versuch eine höhere Puppenmortalität im Freiland, nicht aber im Halbfreiland festgestellt. Insgesamt blieb die Puppenmortalität auf geringem Niveau.

Maisaussaat 2011: HBAS 0,086 g as Clothianidin / ha

Der Versuch konnte in einem Zeitraum mit günstigen Witterungsbedingungen und ohne Niederschläge durchgeführt werden. Die Flug- und Sammelaktivität auf dem blühenden Rapsbestand im Freiland war trotz intensiver Ein- und Ausflugaktivität an den Fluglöchern auf der Versuchsfläche im gesamten Zeitraum nur gering. Die geringe Flugaktivität auf den Versuchsflächen bei hoher Flugaktivität lässt vermuten, dass die Bienen andere Trachtquellen erschlossen hatten, die für sie attraktiver waren. Im Halbfreiland war die Flugaktivität hoch (Anhang III).

Halbfreiland: Vor Applikation war die Mortalität gering, nach Aussaat zeigte sich erneut ein sehr starker, sehr rascher Anstieg des Totenfalls. Vor Aussaat wurde eine mittlere Mortalität von 10,58 Bienen pro Volk in Kontrolle und 13,8 im Treatment gemessen. Nach Aussaat wurden in Totenfallen an Tag +0 im Mittel 198,3 tote Bienen pro Volk im Treatment, der höchste Wert an Tag 1 mit 440,6 Bienen gemessen (Abb. 11). Im Zeitraum nach der Aussaat von +0 bis +6 wurden 13,7 tote Bienen pro Volk in der Kontrolle und 195,9 im Treatment festgestellt (Tab. 7). Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 1,3 in der Kontrolle gegenüber 14,2 im Treatment.

Neben dem sehr hohen Totenfall wurde in diesem Versuch außergewöhnlich hohe Mortalität in allen 3 Völkern an Tag 6, bei den Populationsschätzungen einige Stunden nach Erfassung des täglichen Totenfalls im Halbfreiland im Treatment in den Unterböden entdeckt. Die Bienenvölker waren so stark geschädigt, dass sie nicht mehr in der Lage waren, allen Totenfall aus dem Unterboden bis in die Totenfalle abzutransportieren. Alle anderen Varianten zeigten keinen Totenfall im Unterboden, da normalerweise die toten Bienen aus dem Unterboden aus

dem Flugloch herausgeschafft werden und dann in Totenfallen erfasst werden. Da unklar war, wann die Bienen verendet sind, wurde der Unterboden-Totenfall für die weiteren Berechnungen und Abbildungen nicht in die Berechnung des täglichen Totenfalls in den Fallen einbezogen. Die Erfassung des Totenfalls im Unterboden ist nicht Bestandteil von Routineprüfungen, und wird weder in EFSA-, EPPO-, noch OECD- Richtlinien erwähnt. An Tag 6 wurden in den einzelnen Völkern der Variante Treatment im Unterboden zusätzlich 901, 67 und 1027 tote Bienen gefunden, im Mittel 665 tote Bienen pro Volk. Nach Aussaat traten an Tag +0 in Totenfallen einschließlich der toten Bienen im Unterboden im Mittel 311,8 tote Bienen pro Volk auf, der höchste Wert an Tag 1 mit 725,4 Bienen. Im Zeitraum nach der Aussaat von +0 bis +6 wurden 13,7 tote Bienen pro Volk und Tag in der Kontrolle und 344,8 tote Bienen pro Volk und Tag im Treatment festgestellt. Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 1,29 in der Kontrolle gegenüber 19,9 im Treatment. Die Mortalität war somit im Vergleich zum Voraussaatzeitraum um Faktor 25,2 erhöht. Die Ergebnisse zeigen für die statistische Auswertung ohne Totenfall im Unterboden hochsignifikante Unterschiede zwischen Behandlungsgruppen und eine hochsignifikante Interaktion zwischen den Faktoren Zeit*Gruppe (Tab. 8). Null bis 6 Tage nach Drillen wurde in Variante Kontrolle ein mittlerer täglicher Puppentotenfall von 1,1 Puppen/Tag gegenüber 0,7 im Treatment festgestellt. Es bestätigte sich erneut, dass akute Staubexposition starke Auswirkungen auf adulte Bienen, nicht jedoch auf Bienenbrut hat.

Freiland: Vor Aussaat wurde eine mittlere Mortalität von 21,8 Bienen pro Volk in Variante Remote, 38,6 in der Kontrolle und 70,4 im Treatment gemessen. Die vergleichsweise hohe durchschnittliche Mortalität von 125,5 toten Bienen pro Volk im Treatment wurde hauptsächlich durch eines der 4 Völker an Tag 0 vor der Applikation verursacht, was in einer sehr hohen Standardabweichung resultierte (Abb. 11). Die Ursache für die erhöhte Mortalität vor Aussaat bleibt unklar; eine rückstandsanalytische Untersuchung des Totenfalls mit einer Multimethode belegte Rückstände im Spurenbereich von Carbendazim (0,002 mg/kg), Flusilazol (0,003 mg/kg), Spiroxamin (<0,001 mg/kg) und Thiacloprid (0,001 mg/kg). Die relativ hohe Vorapplikationsmortalität erschwert die Interpretation der Auswirkungen der Staubabdrift. Nach der Aussaat waren jedoch bei Bienen in der Totenfalle eindeutige Vergiftungssymptome feststellbar, die Mortalität lag an Tag +0 in Remote bei 11,0, in Kontrolle 8,3 und 30,3 toten Bienen pro Volk im Treatment, wo auch die maximale Mortalität an Tag 1 mit 93,8 toten Bienen gemessen wurde. Im Zeitraum nach der Aussaat von +0 bis +6 wurden im Mittel 3,4 tote Bienen pro Volk in Variante Remote gegenüber 16,1 in Kontrolle und 38,8 im Treatment festgestellt. Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 0,15 in Remote, 0,42 in Kontrolle gegenüber 0,55 im Treatment. Im Freiland wurde für den Faktor Zeit ein signifikanter Einfluss auf die Mortalität, nicht jedoch für die relevanten Parameter Gruppe und die Interaktion von Zeit*Gruppe festgestellt (Tab. 8). Erhöhter Puppentotenfall war wiederum nicht

festzustellen, null bis 6 Tage nach Drillen wurde in Variante Remote im Mittel von 0,17 Puppen/Tag gegenüber 0,16 in Kontrolle und 0,11 im Treatment gezählt.

Zusammenfassend wurde im Maisaussaatversuch 2011 bereits am Aussaatag bei zahlreichen Bienen eindeutige Vergiftungssymptome und in Folge ein sehr starker Anstieg des Totenfalls im Halbfreiland gegenüber einer geringer erhöhten Mortalität im Freiland festgestellt. Im Freiland wurde wesentlich geringerer Totenfall im Vergleich zum Halbfreiland festgestellt; hier waren die Auswirkungen so stark, dass zahlreiche Bienen nicht mehr aus dem Volk in die Totenfalle heraus transportiert werden konnten, und im Unterboden zu finden waren. Obwohl im Halbfreiland 2011 sehr starke Effekte auf die akute Mortalität adulter Bienen, ähnlich 2010 festgestellt wurden, zeigte sich im Freiland eine deutlich geringere Mortalität als 2010, was auf die wesentlich geringere Sammelaktivität auf Blüten der eingestäubten Freilandfläche zurückzuführen ist. Dennoch ist ein Trend erhöhter Mortalität auch im Freiland erkennbar. Wiederum wurde trotz starken Totenfalls keine erhöhte Puppenmortalität beobachtet.

Maisaussaat 2012: HBAS 0,041 g as Clothianidin / ha;

Die Maisaussaat konnte in einem Zeitraum mit günstigen Witterungsbedingungen und nur sehr geringen Niederschlägen durchgeführt werden. In der Nacht zu Tag 6 wurden 6,5 mm Niederschlag gemessen, am Tag herrschte jedoch wieder gute Flugaktivität (Anhang III).

Ähnlich 2011 wurde 2012 im Freiland erneut nur eine sehr geringe Flugaktivität auf der Versuchsfläche im gesamten Versuchszeitraum festgestellt, trotz gutem Flugbetrieb an Fluglöchern (nicht quantifizierte Beobachtung) vor, während und nach der Aussaat. Ein leichter Anstieg der Sammelaktivität war nur an Tag 2 und Tag 4 zu verzeichnen. Die Flugaktivität im Halbfreiland war an den Tagen vor der Aussaat und auch an einigen Tagen nach der Aussaat witterungsbedingt gering, am Tag der Aussaat jedoch vergleichsweise gut (Anhang III).

Halbfreiland: Vor Aussaat wurde eine mittlere Mortalität von 6,7 Bienen pro Volk in Kontrolle und 3,1 im Treatment gemessen. Nach Aussaat wurden an Tag +0 die höchste Anzahl mit 44,5 toten Bienen pro Volk im Treatment gemessen (Abb. 11). Im Zeitraum nach der Aussaat von +0 bis +7 wurden 4,9 tote Bienen pro Volk in Kontrolle und 15,6 im Treatment festgestellt. Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 0,73 in der Kontrolle gegenüber 5,13 im Treatment. Im Halbfreiland konnten sowohl für den Faktor Behandlungsgruppe sowie für die Interaktion der Faktoren Zeit*Gruppe statistisch signifikante Unterschiede belegt werden (Tab. 8).

Null bis 7 Tage nach Drillen wurde in Variante Kontrolle ein mittlerer täglicher Totenfall von 0,06 Puppen und Larven /Tag gegenüber 0,29 im Treatment festgestellt.

Freiland: Gegenüber den vorhergehenden Versuchen mit Maisaussaat 2010 und 2011 wurde im Freiland nur eine geringe mittlere Grundmortalität von 11,6 Bienen pro Volk in Variante Remote, 3,3 in der Kontrolle und 1,6 im Treatment vor dem Drillen beobachtet. Nach der Aussaat wurde kein klar erhöhter Totenfall festgestellt und lag in allen Varianten auf ver-

gleichbarem Niveau. Deutlich erhöhter Totenfall wurde nur an Tag 4 im Treatment und auch an DAA7 in Varianten Remote und Treatment festgestellt (Abb. 11). Im Zeitraum nach der Aussaat von +0 bis +7 wurden 15,6 tote Bienen pro Volk in Variante Remote gegenüber 6,1 in Kontrolle und 16,9 im Treatment festgestellt. Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 1,3 in Remote, 1,8 in Kontrolle gegenüber 10,9 im Treatment. Im Freilandansatz war wie bereits 2011 keine signifikante Interaktion der Faktoren Zeit*Gruppe feststellbar. Nur für den Faktor Zeit wurden signifikante Unterschiede festgestellt ($F_{11,108}=4,36$; $p<0.0001$), nicht aber für die Behandlungsgruppen (Tab. 8). Null bis 7 Tage nach Drillen wurde in Variante Remote ein mittlerer täglicher Larven- und Puppentotenfall von 0,34 Puppen/Tag gegenüber 0,43 in Kontrolle und 0,29 im Treatment beobachtet.

Zusammenfassend lag im Versuch mit Maisaussaat 2012, mit deutlich besserer Beizqualität (geringerer HBAS) und somit niedrigeren je Hektar ausgebrachten Wirkstoffmenge als bei Maisaussaaten 2010 und 2011 der Totenfall auch im *Worst-Case-Szenario* im Halbfreiland deutlich niedriger als in Versuchen mit höheren HBAS. In den Freilandversuchen konnte 2012 ebenso wie 2011 keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Behandlungsgruppen noch eine Interaktion zwischen Gruppe*Zeit im Freiland nachgewiesen werden, jedoch in allen Halbfreilandversuchen. Auch in diesem Versuch wurden keine Auswirkungen auf die Mortalität von Bienenlarven oder Puppen beobachtet.

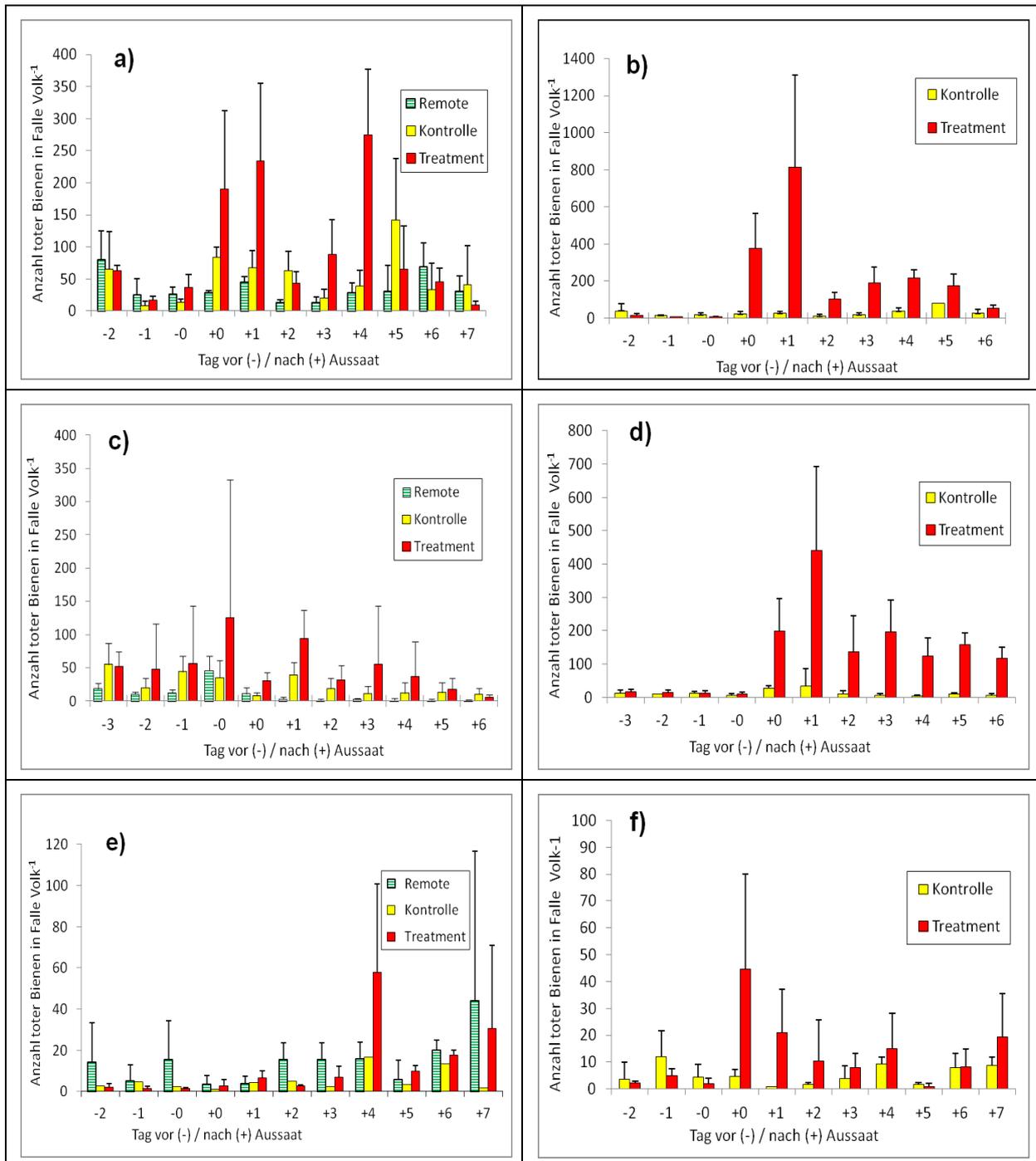


Abb. 11 Tageweiser Vergleich der mittleren Anzahl toter Bienen in Totenfallen je Volk und Variante (Remote, Kontrolle, Treatment: jeweils $n=3$) im Freiland (a, c, e) und (Kontrolle, Treatment: jeweils $n=3$) Halbfreiland (b, d, f) an Tagen vor (-) und nach (+) Maisaussaat 2010 (a, c), 2011 (b, d*) und 2012 (e, f), MW und StdAbw. Rückstände im Totenfall siehe Abb. 12.

* in Variante Treatment bei Populationsschätzungen der einzelnen Völker wurden an Tag 6 nach den Totenfallzählung zusätzlich 901, 67 und 1027 tote Bienen im Unterboden entdeckt, die nicht in der Grafik dargestellt sind.

Tab. 7 Mittlere Mortalität und Mortalitätsquotienten im Vergleich des Vor- und Nachaussaatzeitraums und der Varianten Remote (nur Freiland), Kontrolle und Treatment in Versuchen mit Maisausaat

Maisausaat 2010: HBAS 0,091 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag vor Aussaat -2 bis -0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +6	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk
Halbfreiland	Kontrolle	24,1	32	1,3	223,7
Halbfreiland	Treatment	10,1	275,5	27,2	1928,7
Freiland	Remote	43,7	32,1	0,7	256,8
Freiland	Kontrolle	28,7	61	2,1	488,3
Freiland	Treatment	38,9	118,7	3,1	949,8
		Faktor			Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	0,42	8,62		1705
Freiland	Kontrolle / Remote	0,66	1,90		231,5
Freiland	Treatment / Remote	0,89	3,70		693,0
Freiland	Treatment / Kontrolle	1,36	1,95		461,5
Maisausaat 2011: HBAS 0,086 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag Vor Aussaat -3 bis -0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +6	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk nach Aussaat
Halbfreiland	Kontrolle	10,6	13,7	1,3	95,7
Halbfreiland	Treatment	13,8	196 (344,8*)	14,2 (19,9*)	1371,6 (2068*)
Freiland	Remote	21,9	3,4	0,2	33,0
Freiland	Kontrolle	38,6	16,1	0,4	145,0
Freiland	Treatment	70,4	38,8	0,6	336,5
		Faktor			Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	1,6	14,3 (25,2*)		1275 (1972*)
Freiland	Kontrolle / Remote	1,77	4,73		112,0
Freiland	Treatment / Remote	3,22	11,55		303,5
Freiland	Treatment / Kontrolle	1,82	2,41		191,5
Maisausaat 2012: HBAS 0,041 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag Vor Aussaat -2 bis -0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +7	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk nach Aussaat
Halbfreiland	Kontrolle	6,7	4,9	0,7	39,0
Halbfreiland	Treatment	3,1	16	5,1	127,7
Freiland	Remote	11,7	15,6	1,3	124,5
Freiland	Kontrolle	3,3	6,1	1,8	48,8
Freiland	Treatment	1,6	16,9	10,9	135,3
		Faktor			Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	0,47	3,27		88,7
Freiland	Kontrolle / Remote	0,29	0,39		-75,7
Freiland	Treatment / Remote	0,13	1,09		10,8
Freiland	Treatment / Kontrolle	0,47	2,78		86,5

* Versuch 2011 mit hohem Totenfall im Unterboden in Völkern Variante Treatment. Werte vor Klammern Berechnung ohne TF im UB. Werte in Klammern mit TF im UB (anteilig auf Tage 0-6 nach Aussaat aufaddiert)

Tab. 8 Statistische Auswertung der Mortalität in Abdriftversuchen mit Maisaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

Maisaussaat 2010: HBAS 0,091 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	10	99	9,082	< 0,0001	10	44	7,840	< 0,0001
Gruppe	2	99	5,414	0,006	1	44	28,342	< 0,0001
Zeit*Gruppe	20	99	7,441	< 0,0001	10	44	6,180	< 0,0001
Maisaussaat 2011: HBAS 0,086 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	10	99	3,280	0,001	10	44	7,797	< 0,0001
Gruppe	2	99	1,359	0,262	1	44	12,844	0,001
Zeit*Gruppe	20	99	0,905	0,582	10	44	6,205	< 0,0001
Maisaussaat 2012: HBAS 0,041 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	11	108	4,358	< 0,0001	11	48	4,256	0,0002
Gruppe	2	108	0,001	0,999	1	48	4,346	0,042
Zeit*Gruppe	22	108	0,311	0,999	11	48	2,452	0,016

Anhand der statistischen Auswertungen konnten deutlich signifikante Unterschiede der Gruppe sowie Interaktionen der Gruppe*Zeit für die **Halbfreilandversuche** mit Mais 2010, 2011 und 2012 (Tab. 8) festgestellt werden und die Auswirkungen von Beizstaubabdrift auf die akute Mortalität auch in dem Vergleich der Versuchstage mit post-hoc-Tests (siehe Anhang V) untermauert werden. Im **Freiland** konnten nur 2010 signifikante Effekte belegt werden.

Im Versuch 2010 war an Tag 2 und Tag 3 nach Drillen aufgrund von Niederschlägen keine Flugaktivität (Anhang III) feststellbar, in der gesamten Versuchsphase 2011 blieb es trocken. Während der niederschlagsfreien Tage wurde im Rapsbestand im Abdriftversuch 2010 bei Wendhausen eine weit höhere Flugaktivität als im Abdriftversuch 2011 bei Lucklum beobachtet; 2011 wurde bei optimalen Flugbedingungen für Bienen kaum Sammelaktivität im Versuchsbestand, trotz starker Aktivität an den Fluglöchern der Versuchsvölker beobachtet. 2011 und auch 2012 wurden somit andere Trachtquellen im Flugradius der Völker intensiv beflogen, weniger aber der blühende Raps der Versuchsfläche.

Nach Maisaussaat 2010 mit 0,091 g HBAS trat in den **Halbfreilandversuchen** die höchste Mortalität auf. 2011 war nach Maisaussaat mit 0,086 g HBAS im Halbfreilandversuch zwar leicht geringere, aber ebenfalls sehr stark erhöhte Mortalität zu verzeichnen; bei Einberechnung des Totenfalls im Unterboden lag die Mortalität jedoch in derselben Größenordnung wie 2010. In 2012 wurde nach Maisaussaat im Halbfreiland erhöhte Mortalität festgestellt, jedoch deutlich geringer, als 2010 und 2011. Im Vergleich der Mittelwerte des Voraussaatzeitraums

mit dem Nachaussaatzeitraum einer Behandlungsgruppe wurde 2010 im Halbfreiland im Treatment ein Anstieg der Mortalität um das 27,2-fache festgestellt gegenüber dem 1,3-fachen in Kontrolle. Bei geringerer absoluter Mortalität 2011 wurde ein Verhältnis der Mortalität (Vor- im Vergleich zu nach Drillen) von 1,3 in Kontrolle gegenüber 14,2 im Treatment, bei Berücksichtigung des Totenfalls im Unterboden ein Faktor 19,9 ermittelt, während die Mortalität 2012 im Nachaussaatzeitraum um den Faktor 5,1 fache höher im Vergleich zum Voraussaatzeitraum lag.

Auch im **Freiland** war die Mortalität im Treatment, der windzugewandten Seite am stärksten erhöht im Vergleich zur Kontrolle, der windabgewandten Seite des Feldes. Auch die Mortalität in der Kontrolle lag deutlich höher als in der entfernt aufgestellten Variante Remote. Die Unterschiede waren 2011 jedoch deutlich geringer ausgeprägt im Vergleich zu 2010, trotz höherer Rückstände in Petrischalen und Blüten. In 2012 war nach Maisaussaat nur 4 Tage nach Aussaat eine erhöhte Mortalität feststellbar, die Mortalität in Kontrolle war aber durchweg niedriger oder so hoch wie in Variante Remote.

4.1.3 Rückstände in toten Bienen, Nektar und Pollen nach Beizstaubabdrift

Maisaussaat 2010: HBAS 0,091 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: Die höchsten Wirkstoffrückstände in toten Bienen der Variante Treatment wurden 30 Minuten nach der Aussaat gemessen (Abb. 12). Die höchste Kontamination von Bienen tritt unmittelbar nach der Aussaat auf und nahm rasch wieder ab, blieb dann aber über mehrere Tage erhöht gegenüber der Kontrolle. Vom 2. bis 7. Tag nach Drillen waren die Rückstände gering und auf vergleichbarem Niveau. In der Kontrolle waren nur sehr geringe Wirkstoffmengen nachweisbar. Im Halbfreiland waren nach 1 Stunde 42%, nach 2 und 4 Stunden noch 21 bzw. 19 % und 1 Tag nach Applikation noch 8,8 % der maximalen Wirkstoffmengen, die 30 Minuten nach Drillende gemessen wurden nachweisbar (Abb. 12). In Pollenhöschchen wurden in den 3 Treatment-Völkern 4 Stunden nach Aussaat 1200 µg/kg, 280 und 350 µg/kg gemessen gegenüber 57 µg/kg in der Kontrolle. Sechs Tage nach Aussaat wurden in Pollenhöschchen von 2 Zelten der Kontrolle keine Rückstände, in der Behandlung 1,1- 3,3 µg/kg gemessen.

In Honigblasen heimkehrender Sammler wurden 4 Stunden nach Aussaat keine Rückstände in der Kontrollvariante nachgewiesen. Vier Stunden nach Aussaat wurde in Variante Treatment in einer Probe keine Rückstände, in den übrigen Proben 2,4 µg/kg, 6,7 µg/kg und 7 µg/kg Nektar nachgewiesen. Sechs Tage nach Drillen wurden in 3 Kontrollproben in einer Probe 1,2 µg/kg nachgewiesen, keine Rückstände in 3 Proben der Variante Treatment.

Freiland: Die höchsten Wirkstoffgehalte in den toten Bienen wurden im Freiland 4 Stunden nach Aussaat gemessen (Abb. 12). Während an Tag 1 noch höhere Wirkstoffgehalte im Totenfall nachweisbar waren, lagen die Wirkstoffgehalte am 2. Tag nach Aussaat bereits deut-

lich niedriger; blieben aber in den Folgetagen auf relativ konstantem Niveau. Auch war kein sonderlicher Unterschied zwischen der Kontamination der Variante Treatment im Vergleich zur Kontrolle. An Tag 1 wurden im Treatment noch 63 % des Maximalwerts, an Tag 2 noch 14 % festgestellt. An den Folgetagen waren im Treatment nur noch leicht höhere Rückstände als in Kontrolle und Remote feststellbar. In diesem Versuch haben auch einige Bienen aus Völkern der Variante Remote auf der Versuchsfläche gesammelt, wie die Rückstände zeigen, allerdings waren die Bienen deutlich geringer kontaminiert.

In Pollenhöschchen von heimkehrenden Sammlerinnen wurden vor der Aussaat in 6 von 7 Proben Rückstände von 0,7 bis 1,8 µg/kg nachgewiesen, was wahrscheinlich auf das bekannte Phänomen der systemischen Verlagerung von Rückständen in Nektar und Pollen des im Herbst ausgesäten, mit Clothianidin gebeizten Raps zurückzuführen ist. Nach Aussaat lag die Kontamination deutlich höher in Varianten mit Beizpartikel-Kontamination. So wurden bei Treatment-Völkern bis zu 45 µg Clothianidin/kg, in der Kontrolle 0,9 µg/kg und keine Rückstände am Standort Remote am Aussaatag nachgewiesen. Sechs Tage nach der Aussaat waren in keiner Variante Rückstände detektierbar. Da der Raps noch weiterhin befliegen wurde, ist der fehlende Nachweis vermutlich auf Schwankungen der Rückstandsverlagerung von in 2009 ausgesäten, gebeizten Rapspflanzen und individuelle Schwankungen bei der Nutzung verschiedener Trachtpflanzen in der Umgebung zurückzuführen.

Im Nektar aus Honigblasen heimkehrender Sammlerinnen wurde vor der Aussaat 1,0 µg/kg am Standort Remote, 0,6 µg/kg in Kontrolle und 0,9 µg/kg im Treatment ermittelt. Vier Stunden nach der Aussaat wurden maximal in Remote 2,1 µg/kg, Kontrolle 2,3 µg/kg und 4,1 µg/kg im Treatment, Sechs Tage nach Aussaat jeweils 1,0 µg/kg in Remote und Treatment gegenüber 1,8 µg/kg in der Kontrolle gemessen.

Zusammenfassend traten die höchsten Wirkstoffgehalte in den toten Bienen am Tag der Aussaat auf. Sehr starke Variabilität der Rückstände einzelner Proben wurde insbesondere in Pollenpaketen festgestellt, was auf eine Kontamination durch einzelne Beizstaubpartikel schließen lässt. In einzelnen Pollenhöschchen wurden sehr hohe Rückstände, insbesondere in *Worst-Case*-Bedingungen Halbfreiland detektiert, hohe Werte waren aber auch im Freiland nachweisbar. Maximale Rückstände in Pollen waren deutlich höher als in Nektar. Sowohl in Halbfreiland als auch im Freiland wurden in der Variante Treatment deutlich höhere Rückstände im Vergleich zur Kontrolle gemessen. Es bestätigte sich gleichermaßen in den Halbfreilandversuchen wie im Freiland, dass Pollenmaterial wesentlich höher kontaminiert ist als Nektar. Im Nektar sind die absoluten Wirkstoffmengen als auch die Variabilität wesentlich geringer.

Maisaussaat 2011: HBAS 0,086 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: In Variante Treatment wurden die höchsten Rückstandskonzentration in toten Bienen 1 Stunde nach Aussaat ermittelt, danach fielen die Rückstandswerte rasch ab. Bis 6 Tage nach Aussaat waren Rückstände in toten Bienen nachweisbar. Deutlich geringere Rückstände wurden in der Kontrolle im Halbfreiland detektiert (Abb. 12). In Pollenhörschen im Halbfreiland wurden am Tag der Aussaat in 1 von 2 Proben 17 µg/kg in der Kontrolle, in 2 Proben 740 und 420 µg/kg im Treatment detektiert. Einen Tag nach Aussaat waren keine Rückstände in Kontrolle, im Treatment aber 110 µg/kg in Pollen nachweisbar. Obwohl keine Anzeichen erhöhter Mortalität in der Kontrolle feststellbar waren, wurde jedoch in einer Pollenprobe ebenfalls Clothianidin gemessen, was zeigt, dass eine geringfügige Einstäubung und Kontamination auch in der Kontrolle stattgefunden hat.

Freiland: Am Tag der Aussaat wurden im Durchschnitt im Totenfall in der Kontrolle 13,3 µg Clothianidin/kg gegenüber 24,7 µg/kg im Treatment nachgewiesen. Die Kontamination im Treatment lag nur geringfügig höher als in der Kontrolle. Eine Rückstandsprobe des Totenfalls 4 Stunden nach Aussaat zeigte keine Rückstände in Remote. Zwei Tage nach Aussaat wurden trotz leicht erhöhtem Totenfall keine Clothianidin-Rückstände mehr nachgewiesen. Im Freiland wurde nur in 1 Probe von Pollen aus Pollenhörschen in Variante Remote <4 µg/kg am Drilltag nachgewiesen, in 5 Proben im Freiland von Treatment und Kontrolle wurden keine Rückstände gemessen. In am Flugloch angebrachten Pollenfallen waren in je einer Probe je Variante am Drilltag sowie Tag 1,3,5 und 6 nach der Aussaat keine Rückstände von Clothianidin messbar.

Die Ergebnisse belegen erneut, dass maximale Rückstände im Totenfall im Halbfreiland bis 1 Stunde, im Freiland bis 4 Stunden nach Drillvorgang nachweisbar sind. Im Freiland gingen in Kontrolle und Treatment die Rückstände rasch zurück und waren an Tag 2 nicht mehr nachweisbar, obwohl immer noch erhöhter Totenfall festgestellt wurde. In Totenfall im Freiland waren in allen Proben bis Tag Rückstände detektierbar. Während im Pollen besonders hohe Rückstände im Halbfreiland gemessen wurden, wurden im Pollen im Freiland in der überwiegenden Mehrzahl der Proben keine Rückstände gemessen. Dies deckt sich mit der beobachteten geringen Sammelaktivität der Versuchsfläche. Die hohe Variabilität der Rückstände in Pollen bestätigte sich auch in diesem Versuch.

Maisaussaat 2012: HBAS 0,041 g as Clothianidin / ha;

Halbfreiland: In Kontrolle und Treatment wurden im Halbfreiland vor Aussaat keine Rückstände in toten Bienen nachgewiesen, ebenso in der Kontrolle im gesamten Nachaussaatzeitraum. Maximal wurden im Treatment 10,3 µg/kg Clothianidin am Tag der Aussaat nachgewiesen. Obwohl an Tag 4,5 und 6 keine Rückstände im Totenfall mehr nachweisbar waren, wurden im Totenfall an Tag 7 erneut 5,5 µg/kg Clothianidin nachgewiesen (Abb. 12).

Freiland: Trotz des relativ geringen Totenfalls waren Rückstände von Clothianidin in Kontrolle bis 3 Tage, in Treatment bis 4 Tage nach Aussaat nachweisbar. Maximalwerte wurden

in der Kontrolle am Tag nach der Aussaat mit 7,5 µg/kg, in Treatment 8,8 µg/kg detektiert. Interessanterweise wurden an Tag 7, wie im Halbfreiland, nach Tagen ohne Rückstände an Tag 5 und 6, erneut 6,7 µg/kg Clothianidin im Totenfall gefunden. Am Standort Remote waren im gesamten Zeitraum in den Analysen der Proben von Tag -2, +0, +1, +4, +6 und +7 keine Rückstände vorhanden. Im Totenfall wurden somit sowohl in Halbfreiland als auch Freiland höhere Rückstände bis 3 Tage nach Drillvorgang und erneut 7 Tage nach Drillen festgestellt. Rückstände waren im Freiland über einen längeren Zeitraum nachweisbar als in 2011.

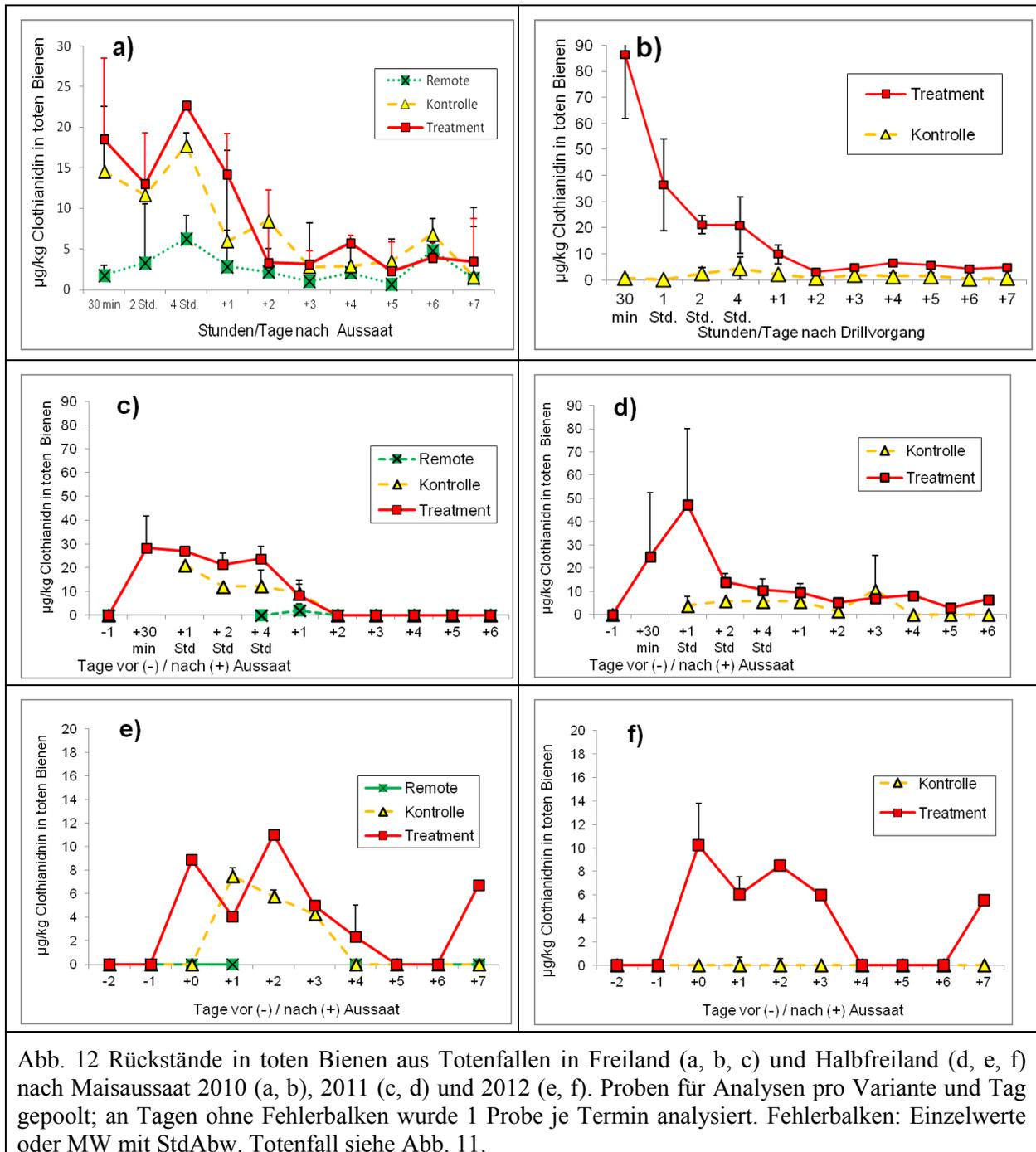


Abb. 12 Rückstände in toten Bienen aus Totenfällen in Freiland (a, b, c) und Halbfreiland (d, e, f) nach Maisaussaat 2010 (a, b), 2011 (c, d) und 2012 (e, f). Proben für Analysen pro Variante und Tag gepoolt; an Tagen ohne Fehlerbalken wurde 1 Probe je Termin analysiert. Fehlerbalken: Einzelwerte oder MW mit StdAbw. Totenfall siehe Abb. 11.

4.1.4 Auswirkung der Beizstaubabdrift auf Volkstärke und Brutentwicklung

Maisaussaats 2010: HBAS 0,091 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: Vor der Aussaat wurden nur geringe Unterschiede in der Volksstärke zwischen Kontrolle und Treatment an Tag -5 festgestellt (K: 11452 Bienen; T: 10201). Vier Tage nach Aussaat wurde eine Zunahme adulter Bienen in der Kontrolle (K: 12673) und Abnahme im Treatment festgestellt (T: 9147). Analog zum erhöhten Totenfall wurde in den Völkern in Variante Treatment ein leichter Rückgang der Anzahl adulter Bienen je Volk gemessen. Es wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten oder zwischen den Schätzterminen beobachtet. In der Kontrolle und im Treatment nahm die Brutfläche gleichermaßen zwischen Tag -5 (K: 20391 Zellen; T: 23458) und Tag +4 (K: 16783; T: 18791) ab, was generell als Reaktion von Bienenvölkern auf die beschränkten Sammelmöglichkeiten im Zelt bekannt ist und die Interpretation erschweren kann.

Freiland: Vor der Aussaat waren die Versuchsvölker in Variante Treatment etwas stärker als in Remote und Kontrolle (R: 17024 Bienen; K: 13140, T: 21539). In allen Varianten nahm die Volksstärke bis zur nächsten Populationsschätzung an Tag +4 zu (R: 22121; K: 16597, T: 26000). Je ein Volk in Kontrolle und Remote ist im Versuchszeitraum zwischen dem 12.5. und 21.5. abgeschwärmt und wurde daher aus der weiteren Auswertung und Darstellung der Populationsschätzung ausgenommen, da die Daten zur Anzahl adulter Bienen und der Brutentwicklung nicht mehr verlässlich interpretierbar sind. Beiden Völkern gelang es anschließend eine neue Königin aufzuziehen. In Remote, Kontrolle und Treatment wurde in allen Völkern ein Rückgang der Brutfläche (Summe Eier, Larven und verdeckelte Brut) zwischen der ersten Schätzung an Tag -4 und der zweiten an Tag +5 festgestellt (Tag -4: R: 48081; K: 38079; T: 47250; Tag +5: R: 36637; K: 33242; T: 37775). Weder für Bienen noch für Brut wurden signifikante Unterschiede zwischen den Varianten an einem Schätztermin noch zwischen den Schätzterminen festgestellt.

Maisaussaats 2011: HBAS 0,086 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: Während die Versuchsvölker in Variante Treatment 8 Tage vor Aussaat deutlich stärker und signifikant unterschiedlich zur Kontrolle waren (K: 7500 Bienen; T: 9542), war die Anzahl Bienen durch den hohen Totenfall deutlich dezimiert, so dass bei der nächsten Schätzung 6 Tage nach Drillen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten mehr feststellbar waren (K: 10208 Bienen; T: 10750). Bis zur nächsten Schätzung an Tag +17 wuchsen die Völker der Kontrolle leicht an, während in der Variante Treatment keine Zunahme der Anzahl Bienen festgestellt wurde (K: 11917 Bienen, T: 10250). Obwohl sich ein Trend zeigt, und ein behandlungsbedingter Effekt anzunehmen ist, konnten weder signifikante Effekte zwischen den Gruppen Kontrolle und Treatment noch eine Interaktion Zeit*Gruppe belegt werden.

Die Brutleistung nahm von Tag -8 (K: 24533; T: 37600) bis Tag +6 sowohl in der Kontrolle als auch im Treatment deutlich ab (K: 14667; T: 21467) und blieb bis zum Versuchsende an Tag 17 (K: 19867; T: 16933) geringer als am Versuchsbeginn. Die statistische Auswertung zeigt signifikante Unterschiede für Anzahl Brutzellen zwischen der ersten Schätzung 8 Tage vor zu den Schätzungen an Tag 6 und 17 nach der Aussaat, aber keine Unterschiede zwischen den Versuchsvarianten an den jeweiligen Schätzterminen und keine signifikante Interaktion zwischen Zeit*Gruppe.

Freiland: Durch das explosive natürliche Wachstum der Völker im Frühjahr konnten die Völker trotz auftretender Mortalität insgesamt an Stärke zulegen. Die Völker der Variante Remote waren zu Versuchsbeginn etwas kleiner als in Kontrolle und Treatment (R: 9000 K. 12450; T: 10750) und zeigten bis zur nächsten Erfassung an Tag 6 das stärkste Wachstum (R: 22375; K. 24950; T: 20400). Das geringste relative Wachstum wurde im Treatment gemessen. An Tag 17 war die Volksstärke aller Varianten vergleichbar (R: 22000; K. 22375; T: 21906). Zwischen den verschiedenen Varianten waren zum jeweiligen Schätztermin keine signifikanten Unterschiede feststellbar. In allen Varianten wurde ein Anstieg der Brutfläche zwischen Tag -8 und Tag +6 festgestellt (Tag-8: R: 33200; K: 35800; T: 36300; Tag +6 R: 51700; R:42800; T: 41800), die stärkste Zunahme in Variante Remote. In allen Varianten wurde an Tag 17 (R: 34800; K: 35800; T: 32500) ein Rückgang der Brutfläche im Vergleich zu Tag +6 festgestellt. Zwischen den verschiedenen Varianten waren im Zeitraum 8 Tage vor bis 17 Tage nach dem Drillen keine signifikanten Unterschiede feststellbar, aber es lässt sich ein Trend ableiten, dass Völker ohne Staubexposition sich besser entwickelten.

Maisaussaat 2012: HBAS 0,041 g as Clothianidin / ha;

Im **Halbfreiland** waren die Versuchsvölker vor Versuchsbeginn von vergleichbarer Größe (K: 7750; T: 8583); 8 Tage nach Aussaat war eine höhere Zunahme der Anzahl an Bienen in der Kontrolle (K: 10375 Bienen; T: 9375 Bienen) zu verzeichnen. Zwischen Tag 8 und Tag 21 nach Aussaat blieb die Anzahl der Bienen in der Kontrolle nahezu unverändert. Die Völker waren somit weiterhin stärker als in Variante Treatment (K: 10208 Bienen; T: 8583), in der ein leichter Rückgang feststellbar war. Ebenso wurden Unterschiede zwischen den Varianten für die Brutleistung vor und nach Aussaat festgestellt (Tag -8: K: 16666; T:18133; Tag +8: 20133; T: 17733, Tag +21: K: 201400; T: 17600), die aber nicht signifikant waren.

Im **Freiland** wurde ein starkes Wachstum der Völker aller Varianten im Zeitraum 8 Tage vor (R: 14938; K: 15141; T: 14968) bis 21 Tage nach Aussaat beobachtet. Bei vergleichbarer Größe vor Aussaat wurde die höchste Zunahme an Bienen in Kontrolle 8 Tage nach Aussaat festgestellt, in Variante Treatment war das Wachstum der Bienenzahl am geringsten. Zwischen Tag 8 und Tag 21 blieb die Stärke der Völker in Kontrolle nahezu unverändert, in Remote und Treatment wurde ein weiteres Wachstum festgestellt; an Tag 21 waren alle Varianten von vergleichbarer Volksstärke (R: 26000; K: 26438; T: 27750). Während die Brutleistung in Remote und Kontrolle im Versuchszeitraum deutlich zunahm (Tag -8: R: 25700; K:

26950; T: 25600; Tag +8: R: 36300; K: 41325; T: 31933; Tag +21: R: 50800; K: 43050; T: 31066), wurde in Variante Treatment eine geringere Zunahme der Brutleistung als in der Kontrolle festgestellt.

In der zusammenfassenden Betrachtung der Versuche mit Maisausaat wurde in Varianten mit erhöhtem Totenfall tendenziell auch ein Rückgang der Anzahl adulter Bienen im Volk beziehungsweise ein leicht reduziertes Wachstum der Völker festgestellt. Die Auswirkungen der Staubabdrift sind aber nicht so klar und deutlich erkennbar wie in den Messungen des Totenfalls. Während sich Tendenzen andeuten, zeigten diese aber meist keine signifikanten Unterschiede. Aufgrund der Variabilität der Völker und der Anzahl Wiederholungen konnten statistisch signifikante Unterschiede in den Versuchsjahren 2010 und 2012 nicht belegt werden, nur im Halbfreiland 2011 wurden signifikante Unterschiede der Anzahl an Bienenbrutzellen festgestellt, nicht aber für die Anzahl adulter Bienen. Durch den hohen täglichen Brutumsatz der Bienenvölker kommt es zu einer gewissen Kompensation von Bienenverlusten. Es wurden selbst in Halbfreilandversuchen keine direkten Effekte auf die Brutentwicklung in Versuchen mit Maisausaat beobachtet, auch in Versuchen mit hohem Totenfall adulter Bienen zeigte der Totenfall von Puppen und Larven keinen Anstieg.

4.2 Aussaatversuche mit Raps

4.2.1 Rückstände in Nichtzielflächen

Petrischalen: : Nach Abdrift auf Flächen mit blühendem Senf wurden nur geringe Unterschiede in der Rückstandsbelastung für den direkten Feldrand und 1 m Abstand festgestellt. Während in 2011 in 0,15 m Abstand zur gesäten Fläche 27 mg as/ha und in 1 m 26 mg/ha in Petrischalen nachweisbar waren, wurden im Versuch 2013 trotz deutlich besserer Beizqualität mit 9 mg as/ha am Feldrand deutlich höhere Werte mit 76 mg/ha, in 1 m 68 mg/ha gemessen. Die Ursache für die im Vergleich zu den weiteren Raps- und Maisausaaten relativ hohen Messwerte 2013 in Nichtzielflächen bei relativ geringem Heubach as konnte nicht weiter geklärt werden. In 29,5 m Entfernung verringerten sich die Werte bis auf 8 mg/ha in 2011 und 11 mg/ha in 2013 (Abb. 13).

In Versuchen mit relativ gesehen sehr guter Beizqualität (HBAS) von 0,0047 g as/ha wurden im Frühjahr 2014 in 0,15 m Entfernung 52 mg und in 1 m 47 mg Wirkstoff gemessen, höhere Werte als 2011. Ab 3 m bis 20 m Abstand wurden deutlich geringere Rückstände als 2011 festgestellt, mit nur 9 mg in 2014/1 in 3 m Entfernung gegenüber 18 mg in 2011. Im Vergleich waren nur noch sehr geringe Rückstände in Petrischalen direkt am Feldrand im Herbst 2014 (2014/2) in 0,15 m mit 3,1 mg, 2,4 mg in 1 m und 1 mg in 29,5 m Entfernung messbar (Abb. 13).

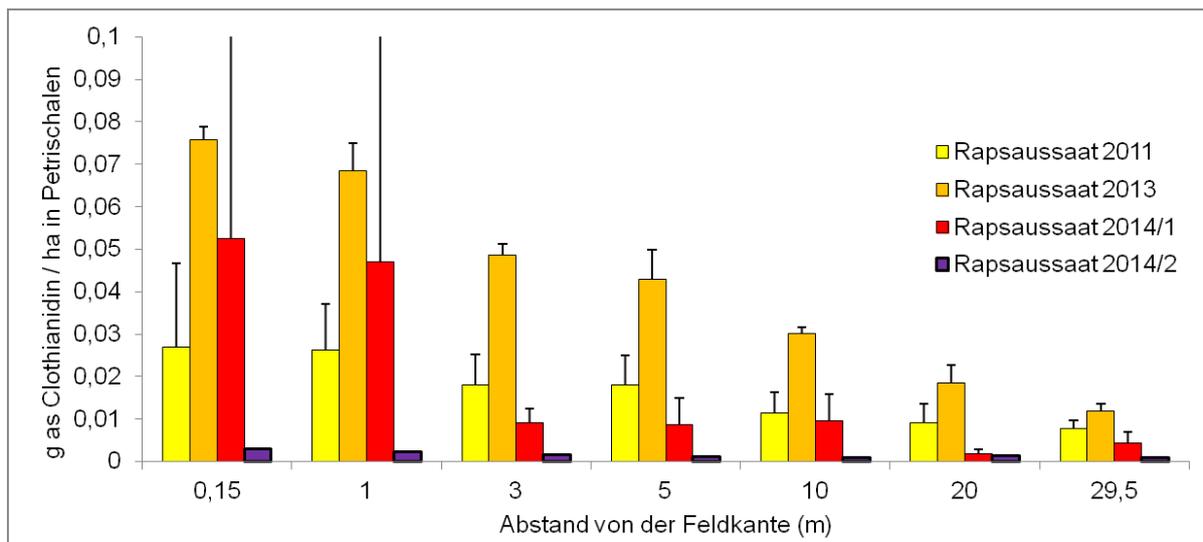


Abb. 13 Rückstände in Petrischalen mit Filterpapier, in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Rapsaussaat 2011-2014. Je min. 3 PS pro Abstand, Mittelwert je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.

Blüten: Ebenso wie in Petrischalen lagen die Rückstände in Blüten in 2013 deutlich höher als 2011, etwa doppelt so hoch. In 2013 wurden direkt am Feldrand Rückstände von rund 33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Blüten, in 2011 18 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 2014/1 nur noch 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, die geringsten Rückstände nach Rapsaussaat 2014/2, 2,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Blüten nachgewiesen. Im Mittel der Messungen in 1,3, und 5 m wurden 12,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in 2013, 5,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in 2011 gegenüber 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in 2014/1 und 1,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in 2014/2 ermittelt.

Deposition auf Gesamtpflanzen / Bestand

Auch in allen Messungen der Deposition auf dem gesamten Bestand (Abb. 14) zeigten sich 2013 die höchsten Wirkstoffbelastungen, gefolgt von 2011 mit deutlichem Abstand zum Versuch 2014/2. Maximal wurden 0,199 g Clothianidin/ha im Bestand ermittelt. Im Vergleich wurde in allen Versuchen etwa das 4-fache an Rückständen in 0,15 m im Vergleich zu Rückständen in 5 m gefunden. Für den Versuch 2014/1 mit Abdrift in blühenden Raps traten bei der Analytik messtechnische Probleme auf, aufgrund derer keine plausiblen Werte der Restpflanzen ohne Blüten ermittelt werden konnten. Somit wurden Bestandsdaten nur in Versuchen mit blühendem Senfbestand als Nachbarkultur ermittelt.

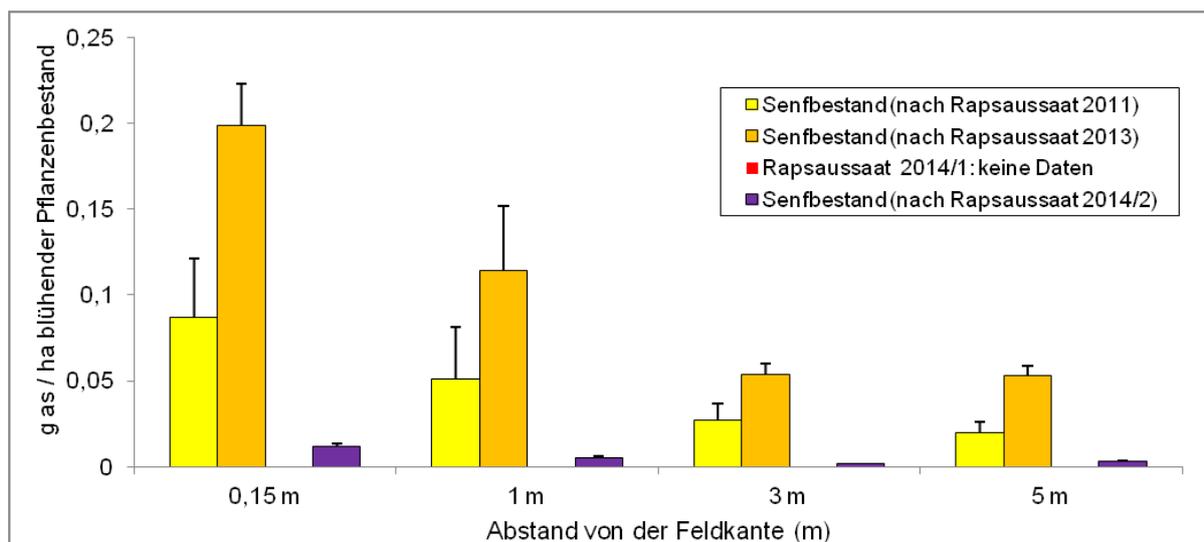


Abb. 14 Rückstände im benachbarten blühenden Senfbestand in Abhängigkeit der Entfernung zur Feldkante nach Rapsaussaat 2011-2014/2, Variante Treatment. Mindestens 3 Proben je Abstand, je 3 Messflächen auf kontaminierter Feldseite (Treatment), MW und StdAbw.

Wie in den Petrischalen zeigte sich somit in den Blüten aber auch im Gesamtbestand eine höhere Belastung in 2013, als nach den Heubach-Werten zu erwarten war. Die Driftkurven verliefen in Versuchen mit Mais- und Rapsaussaat jedoch nicht immer gleichförmig. Auswirkung der Beizstaubabdrift auf akute Mortalität von Bienen.

Rapsaussaat 2011: HBAS 0,025 g as Clothianidin / ha

Die Witterung war im Versuchszeitraum teils durchwachsen. Die Aussaat wurde unter noch günstigen Bedingungen durchgeführt, an Tag +1 waren die Bedingungen tagsüber gut, abends trat dann Niederschlag auf. An Tag +2, Tag +4 und +5 wurden auch tagsüber geringe Niederschläge gemessen. Stärkere Niederschläge folgten an Tag +6 und +7 (Anhang II). Diese Umstände können die Exposition von Bienen im Vergleich zu Tagen mit sehr guter Flug- und Sammelaktivität verringern, und Partikel von Blättern und Blüten abspülen was zu einer Unterschätzung der Effekte führen könnte. Unmittelbar vor der Aussaat wurde eine zufriedenstellende Flugaktivität im Freiland gemessen. Nach der Aussaat wurde kurzzeitig eine höhere Flugaktivität beobachtet, diese ging aber bereits eine Stunde nach Aussaat im Halbfreiland und Freiland durch aufziehende Bewölkung deutlich zurück. Am Tag nach dem Drillen war die Flugaktivität gut, an Tag +2 witterungsbedingt kaum Bienenflug feststellbar, ab Tag +3 bis Tag +5 wurde wiederum eine deutliche Zunahme der Sammelaktivität (Anhang III). Da für Halbfreiland und Freiland keine Vorapplikationsdaten verfügbar sind, ist in diesem Versuch nur ein direkter Vergleich von Kontrolle und Treatment möglich.

Mortalität Halbfreiland: Im Halbfreilandversuch wurden vor Aussaat durchschnittlich 7,7 tote Bienen in Kontrolle gegenüber 10,0 in Treatment dokumentiert. Eine leicht erhöhte Mor-

talität mit Tendenz eines leichten Anstiegs wurde im Zeitraum zwischen Tag 0 und Tag 6 im Vergleich zur Kontrolle festgestellt (Abb. 15). Insgesamt war der Totenfall auf geringem Niveau, im Nachaussaatzeitraum wurden täglich 8,8 Bienen in Kontrolle gegenüber 17,8 in Treatment gezählt. Null bis 7 Tage nach Drillen wurde in Variante Kontrolle ein mittlerer täglicher Puppentotenfall von 0,08 Puppen/Tag gegenüber 1,04 im Treatment festgestellt.

Da für den Versuch keine Daten für den Zeitraum vor Aussaat vorliegen, kann nur ein direkter Vergleich der Kontrolle gegenüber Treatment erfolgen. Die Mortalität war am Tag der Rapsaussaat in der Variante Treatment geringer als in der Kontrolle. An den Folgetagen zeigte sich dann allerdings eine konstant leicht höhere tägliche Mortalität in Variante Treatment. Nur für den Faktor Zeit ($F_{8,36}=2,40$; $p=0,035$) und die Interaktion Zeit*Gruppe ($F_{8,36}=1,15$; $p=0,041$) wurden statistisch signifikante Unterschiede, jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen Kontrolle und Treatment und somit kein Einfluss der Beizstaubabdrift auf die akute Mortalität nach Rapsaussaat nachgewiesen (Tab. 10).

Freiland Im Freiland trat am Tag der Aussaat vor dem Drillvorgang eine mittlere Mortalität von 25,5 Bienen in Remote, 31,3 in Kontrolle und 11,0 im Treatment auf. Nach der Aussaat lag die Mortalität bei 5,5 Bienen in Kontrolle, 7,8 in Remote und 6,0 in Variante Treatment. Am Tag nach dem Drillen lag der Totenfall bei 6,3 Bienen in Remote, 12,5 in Kontrolle und 13,3 in Remote. In Variante Treatment wurde ebenfalls ein Trend leicht erhöhter Mortalität an Tag 5 (18 Bienen) und Tag 6 (20 Bienen) nach Aussaat festgestellt (Abb. 15). Der Totenfall nach Aussaat war jedoch insgesamt trotz nachgewiesener Rückstände in Pollen (Kap.4.2.3) gering, der Mittelwert von Tag 0 bis Tag 7 betrug 6,1 tote Bienen in Variante Remote, 5,5 in der Kontrolle und 11,1 in Variante Treatment. Nur für den Faktor Zeit wurden signifikante Unterschiede, aber keine signifikanten Unterschiede für zwischen Behandlungsgruppen sowie Interaktion zwischen Zeit und Gruppe (Tab. 10) errechnet. Null bis 7 Tage nach Drillen wurde in Variante Remote ein mittlerer täglicher Puppentotenfall von 0,06 Puppen/Tag gegenüber 0,06 in Kontrolle und 0,19 im Treatment festgestellt. Somit waren in Freilandbedingungen keine Auswirkungen auf Mortalität adulter Bienen, von Bienenlarven oder Puppen feststellbar.

Zusammenfassend war die Mortalität wesentlich geringer Niveau im Vergleich mit Versuchen mit Maisaussaat 2010 und 2011. Nur in einzelnen Totenfallproben wurden Rückstände festgestellt, die Mehrzahl der Proben zeigte keine Rückstände. Obwohl die Rückstände in der Nachbarkultur höher lagen als im Versuch mit Maisaussaat 2012, wurden keine Totenfallpeaks oder klarer Anstieg der Mortalität nach dem Drillvorgang festgestellt. Im akuten Expositionszeitraum lag der tägliche Totenfall im Halbfreiland jedoch leicht höher im Treatment als in der Kontrolle und zeigte eine leichte Zunahme über den gesamten Zeitraum, während im Freiland nur ein Anstieg an Tag 5 und 6 nach Drillen feststellbar war.

Rapsaussaart 2013: HBAS 0,009 g as Clothianidin / ha

Die Aussaat auf der Versuchsfläche Rietze konnte unter günstigen Witterungsbedingungen durchgeführt werden. Die Flugaktivität war am Tag der Applikation im Halbfreiland akzeptabel. Während an Tag 1 nach Applikation witterungsbedingt kein Flug feststellbar war, stieg die Aktivität an Tag 2 und 3 in beiden Varianten an (Anhang III).

Halbfreiland: In diesem Versuch wurde am Tag nach der Aussaat in den Zelten eine deutlich erhöhte Mortalität nach 24 Stunden, mit 80 Bienen das 33,8-fache im Vergleich zum Vorapplikationstagen und eine 6,0-6,4-fach höhere an Tag 2 und 3 nach Drillvorgang im Vergleich zum Vorapplikationszeitraum im Treatment festgestellt (Abb. 15). Interessanterweise war im Gegensatz zu Versuchen mit Maisaussaart und erhöhtem Totenfall dieser Trend in den ersten Stunden nach dem Drillen nicht erkennbar. Im Zeitraum nach der Aussaat von +0 bis +7 wurden durchschnittlich 3 tote Bienen pro Volk in Kontrolle und 15,4 im Treatment festgestellt. Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 1,2 in der Kontrolle gegenüber 6,5 im Treatment. Für die akute Mortalität wurde ein hochsignifikanter Einfluss der Zeit sowie der Gruppe ermittelt; auch die Interaktion Zeit*Gruppe zeigte sich hochsignifikant verschieden (Tab. 10).

Freiland: Von Tag -6 bis zum Drilltag lag im Freiland eine mittlere Mortalität von 5,5 Bienen in Kontrolle und 6,0 im Treatment vor. Eine leicht höhere Mortalität mit 15,7 toten Bienen pro Volk wurde an Tag 1 im Treatment festgestellt, das 6,6 fache im Vergleich zum Voraussaatzeitraum. Ab Tag 2 war keine weiter erhöhte Mortalität erkennbar (Abb. 15). Die Anzahl toter Bienen blieb in beiden Varianten im gesamten Nachaussaatzeitraum von + 0 bis + 7 bis zum Versuchende auf sehr geringem Niveau mit 4,0 Bienen/Tag in Kontrolle gegenüber 4,4 in Variante Treatment. Somit wurde allenfalls ein sehr geringfügiger Anstieg der Mortalität im Zeitraum bis 24 Stunden nach Aussaat beobachtet. Die insgesamt relativ geringen Mortalität zeigte signifikante Unterschiede für den Faktor Zeit und auch für die Interaktion der Zeit*Gruppe, nicht aber für die Gruppe (Tab. 10).

Rapsaussaart 2014/1: HBAS 0,0047 g as Clothianidin/ha

Durch das fortgeschrittene Blühstadium sowie regnerische und kühlere Witterungsbedingungen (Anhang II) im Zeitraum vor Versuchsbeginn konnte die Aussaat am Standort Lucklum an einem Tag mit für Bienenflug ausreichenden Temperaturen durchgeführt werden. Im Vorapplikationszeitraum war an den meisten Tagen kein Bienenflug möglich (Anhang III).

Halbfreiland: Über den gesamten Zeitraum vor Aussaat lag die Mortalität auf geringem Niveau. Am Tag der Aussaat und auch an Tag 1 blieb die Mortalität sehr gering. Auch an den Folgetagen waren keine behandlungsbedingten Unterschiede oder ein Anstieg der Mortalität feststellbar. Von Tag +0 bis +7 wurden 8,1 tote Bienen pro Volk und Tag in Kontrolle und 9,0 im Treatment festgestellt (Abb. 15). Da die Erhebung der Mortalität in den Totenfallen an Tag

2, 4 und 5 nicht möglich war, wurden die toten Bienen in den Fallen belassen und die an Tag 3 und Tag 6 erfassten Werte gemittelt. Das Verhältnis der Mortalität im Zeitraum vor/nach Aussaat betrug 0,9 in der Kontrolle gegenüber 1,2 im Treatment. Es war kein signifikanter Unterschied für die Gruppe sowie die Interaktion Zeit*Gruppe nachweisbar (Tab. 10).

Freiland: In den Freilandvölkern wurde sowohl an Tag 3 vor der Applikation und in Kontrolle höhere Grundmortalität im Vergleich zum Halbfreiland festgestellt, vor Aussaat wurden im Mittel täglich 18,2 Bienen pro Volk in Variante Kontrolle und 18,4 im Treatment gemessen. Im Zeitraum nach der Aussaat von Tag +0 bis +8 wurden täglich 28,0 tote Bienen pro Volk in Variante Kontrolle und 32,0 im Treatment und somit keine behandlungsbedingten Effekte festgestellt (Abb. 15). Das Verhältnis der Mortalität vor/nach Aussaat betrug 1,53 in Kontrolle gegenüber 1,74 im Treatment. Wie im Halbfreiland konnten weder zwischen Gruppen noch für die Interaktion Zeit*Gruppe signifikante Unterschiede festgestellt werden (Tab. 10).

Rapsaussaat 2014/2: HBAS 0,0009 g as Clothianidin / ha

Im Halbfreiland und Freiland konnten am Standort Rietze günstige Witterungsbedingungen genutzt werden (Anhang II). Die Flugaktivität war an den Tagen vor und nach der Aussaat sowie am Drilltag im blühenden Senfbestand hoch (Anhang III).

Halbfreiland: Die Mortalität vor dem Drilltag zeigte leichte Variabilität, war aber insgesamt gering. In Halbfreilandbedingungen wurde nach Applikation sowohl im Zeitraum 24 Stunden nach Aussaat (K: 1,4 tote Bienen; T: 1,1) wie auch im gesamten Zeitraum nach Applikation (K: 13,0; T: 9,5) kein erhöhter Totenfall im Vergleich zum Vorapplikationszeitraum wie auch im Vergleich Kontrolle zu Treatment festgestellt. Im Vergleich der Mortalität im Nach- zum Vorapplikationszeitraum wurde ein Anstieg der Mortalität um den Faktor 1,53 in Kontrolle und 2,3 im Treatment festgestellt. Insgesamt war die Mortalität jedoch gering (Abb. 15). Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen und keine Interaktion der Zeit*Gruppe ermittelt (Tab. 10).

Freiland: Vor der Aussaat betrug die mittlere Mortalität 10,6 Bienen in der Kontrolle und 6,7 Bienen im Treatment. Bis 24 Stunden nach Applikation war die Mortalität nicht erhöht (K: 4,7; T: 4,1). An Tag 2 wurde eine höhere Mortalität mit 19,3 Bienen in Kontrolle und 36 toten Bienen, allerdings bei einer sehr hohen Variabilität der Völker im Treatment festgestellt. An den folgenden Tagen lag die Mortalität in Kontrolle geringfügig höher als im Treatment (Abb. 15). Im Vergleich der Mortalität im Nach- zum Vorapplikationszeitraum wurde ein Anstieg der Mortalität um den Faktor 1,21 in Kontrolle und 1,4 im Treatment festgestellt. Insgesamt war die Nachapplikationsmortalität auf sehr geringem Niveau; weder für Zeit, die Behandlungsgruppe noch für die Interaktion Zeit*Gruppe konnten Unterschiede statistisch belegt werden (Tab. 10).

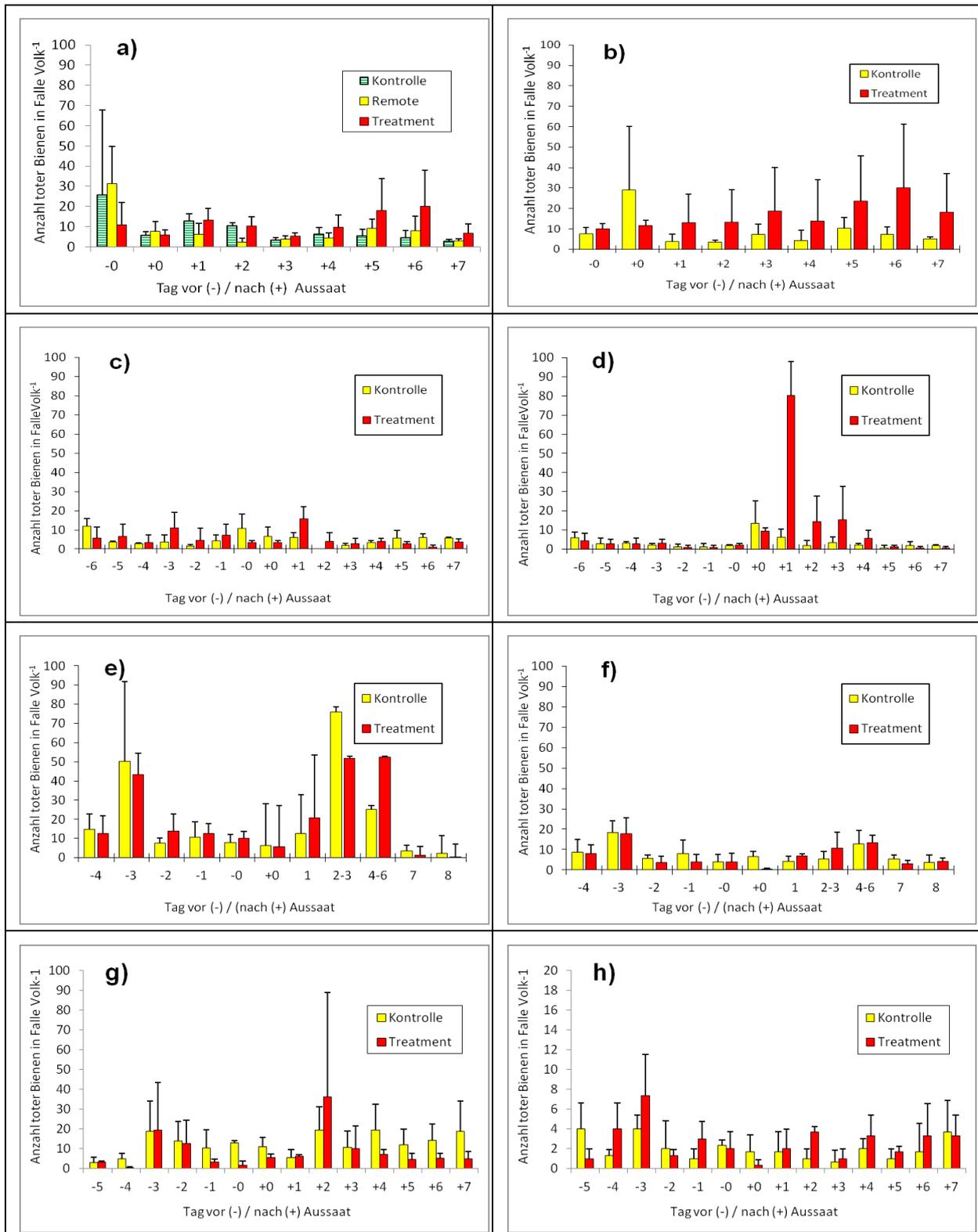


Abb. 15 Tageweiser Vergleich der mittleren Anzahl toter Bienen in Totenfällen je Volk und Variante (Remote, Kontrolle, Treatment: jeweils n=3) im Freiland (a, c, e, g) und (Kontrolle, Treatment: jeweils n=3) Halbfreiland (b, d, f, h) an Tagen vor (-) und nach (+) Rapsaussaat 2011 (a, b), 2013 (c, d), 2014/1 (e, f) und 2014/2 (g, h), MW und StdAbw.

Tab. 9 Mittlere Mortalität und Mortalitätsquotienten im Vergleich des Vor- und Nachaussaatzeitraums und Varianten Remote (nur Freiland), Kontrolle und Treatment nach Rapsaussaat 2011-2014

Rapsaussaat 2011: HBAS 0,025 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag vor Aussaat 0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +7	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk nach Aussaat
Halbfreiland	Kontrolle	7,7	8,8	1,1	70,3
Halbfreiland	Treatment	10	17,8	1,8	142
Freiland	Remote	25,5	6,1	0,2	46,5
Freiland	Kontrolle	31,3	5,5	0,2	41,3
Freiland	Treatment	11	11,2	1	82,5
Faktor					Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	1,3	2,02		71,7
Freiland	Kontrolle / Remote	1,23	0,9		-5,2
Freiland	Treatment / Remote	0,43	1,82		36,0
Freiland	Treatment / Kontrolle	0,35	2,02		41,2
Rapsaussaat 2013: HBAS 0,009 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag vor Aussaat -6 bis -0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +7	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk nach Aussaat
Halbfreiland	Kontrolle	2,6	3,8	1,2	30,7
Halbfreiland	Treatment	2,4	15,6	6,5	127,7
Freiland	Kontrolle	5,5	4,4	0,7	35,3
Freiland	Treatment	6	4,6	0,7	37,0
Faktor					Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	0,93	5,13		97,0
Freiland	Treatment / Kontrolle	1,09	1,1		1,7
Rapsaussaat 2014/1: HBAS 0,0047 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag vor Aussaat -4 bis -0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +7	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk nach Aussaat
Halbfreiland	Kontrolle	8,9	8,1	0,9	38,0
Halbfreiland	Treatment	7,4	9	1,2	38,7
Freiland	Kontrolle	18,2	28	1,5	125,7
Freiland	Treatment	18,4	32	1,7	132,0
Faktor					Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	0,84	1,1		0,7
Freiland	Treatment / Kontrolle	1,01	1,15		6,3
Rapsaussaat 2014/2: HBAS 0,0009 g as/ha					
Mittelwert Mortalität		Mittelwert Totenfall/Volk/Tag vor Aussaat -5 bis -0	Mittelwert Totenfall/Volk/Tag nach Aussaat +0 bis +7	Verhältnis Mortalität nach/vor Aussaat	Summe Mortalität/Volk nach Aussaat
Halbfreiland	Kontrolle	2,4	1,5	0,6	13,3
Halbfreiland	Treatment	3,1	2,3	0,7	18,7
Freiland	Kontrolle	10,7	13	1,2	111,0
Freiland	Treatment	6,8	9,5	1,4	80,0
Faktor					Differenz
Halbfreiland	Treatment / Kontrolle	1,27	1,51		5,4
Freiland	Treatment / Kontrolle	0,64	0,74		-31

Tab. 10 Statistische Auswertung der Mortalität in Abdriftversuchen mit Rapsaussaart mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

Rapsaussaart 2011: HBAS 0,025 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	8	81	3,678	0,001	8	36	2,397	0,035
Gruppe	2	81	0,560	0,574	1	36	0,691	0,411
Zeit*Gruppe	16	81	1,147	0,329	8	36	2,309	0,041
Rapsaussaart 2013: HBAS 0,009 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	11	48	2,899	0,005	11	48	22,180	< 0,0001
Gruppe	1	48	0,188	0,666	1	48	16,740	< 0,0001
Zeit*Gruppe	11	48	2,965	0,004	11	48	17,445	< 0,0001
Rapsaussaart 2014/1: HBAS 0,0047 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	9	40	12,294	< 0,0001	9	40	7,504	< 0,0001
Gruppe	1	40	0,059	0,809	1	40	0,232	0,632
Zeit*Gruppe	9	40	1,168	0,341	9	40	0,957	0,489
Rapsaussaart 2014/2: HBAS 0,0009 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	13	56	1,557	0,126	13	56	3,250	0,001
Gruppe	1	56	0,991	0,324	1	56	0,663	0,419
Zeit*Gruppe	13	56	0,543	0,887	13	56	1,188	0,312

In der zusammenfassenden Betrachtung der Versuche mit Rapsaussaart zeigte sich 2011 (HBAS 0,025 g Clothianidin) eine leicht höhere Mortalität in der exponierten Variante im Halbfreiland, allerdings traten diese Unterschiede relativ gleichmäßig im Nachbeobachtungszeitraum von 7 Tagen auf. Ein Mortalitätspeak nach der Aussaat wie in anderen Versuchen mit klaren Effekten wurde nicht beobachtet. Im Freiland war der Totenfall geringfügig höher im Treatment in Vergleich zur Kontrolle und Remote, aber vergleichbar in Kontrolle und Remote. Der Unterschied der Mortalität im Treatment vor dem Drillen gegenüber nach Drillen war sehr gering; insgesamt war die Mortalität im Freiland auch im Treatment relativ niedrig.

In 2013 wurde nach Rapsaussaart (0,0087 HBAS) im Halbfreiland kurzzeitig, aber deutlich und signifikant erhöhte Mortalität im Treatment festgestellt, im Gegensatz zum Freiland. Hier wurde keine deutlich erhöhte Mortalität und kein signifikanten Unterschiede zwischen Varianten gemessen. In der aufsummierten Mortalität des Nachaussaatzeitraums zeigten sich im

Freiland mit 35,3 toten Bienen in Kontrolle gegenüber 37 toten Bienen im Treatment dagegen keine Unterschiede zwischen Behandlungsgruppen. Erneut war die Grundmortalität insgesamt auf sehr niedrigem Niveau. Im Versuch 2014/1 mit Rapsaussaart (0,0047 HBAS) im Frühjahr wurde weder im Halbfreiland noch Freiland erhöhte Mortalität gemessen. Ebenso waren im Versuch 2014/2, mit Rapsaussaart (0,0009 HBAS, dem niedrigsten Wert aller Versuche) keine Auswirkungen der Beizstaubabdrift auf die Mortalität in Halbfreiland und Freiland messbar.

4.2.2 Rückstände in toten Bienen, Nektar und Pollen nach Beizstaubabdrift

Raps 2011: HBAS 0,025 g as Clothianidin / ha

In insgesamt 135 analysierten Totenfallproben wurde am Tag der Aussaat in 2 Proben im Halbfreiland Rückstände von 11 µg Clothianidin/kg und <6,1 µg/kg, in Totenfallen im Freiland 11 µg/kg und 12 µg/kg nachgewiesen. Einen Tag nach der Aussaat wurde in einer Probe 4,9 µg/kg, an Tag 5 wurden in Totenfallen der Variante Remote 6,2 µg/kg nachgewiesen. Alle weiteren 128 Totenfallanalysen zeigten keine nachweisbaren Rückstände.

Im Halbfreiland wurden in Pollenhöschchen der Variante Treatment am Tag der Aussaat 360 µg/kg Clothianidin, keine Rückstände aber in der Kontrolle nachgewiesen. In Pollenhöschchen der Varianten Remote, Kontrolle und Treatment waren im Freiland am Aussaatag und den Tagen 1 und 3 nach Aussaat in keiner Probe Rückstände über der Nachweisgrenze messbar. Auch in Nektar wurde in 3 Proben der Varianten Halbfreiland Treatment, Freiland Kontrolle und Treatment am Tag der Aussaat sowie 3 Tage nach Aussaat und in jeweils einer Probe aller 5 Varianten kein Clothianidin gemessen. In insgesamt 10 Bienenbrotproben aller Varianten aus den Völkern konnte am Tag nach der Aussaat sowie 3 Tage nach Aussaat kein Clothianidin nachgewiesen werden.

In diesem Versuch waren somit in einzelnen Proben von Pollenhöschchen im Halbfreiland sehr hohe Rückstände nachweisbar, nicht jedoch in der Kontrolle. Im Freiland waren in Varianten Remote, Kontrolle und Treatment keine Rückstände nachweisbar. Alle Nektar-, Honig- und Bienenbrotproben waren frei von Rückständen über dem Detektionslimit.

Rapsaussaart 2013: HBAS 0,009 g as Clothianidin / ha

Vor der Aussaat waren keine Rückstände in 7 Totenfallproben der Halbfreiland- und Freilandvölker detektierbar. In der Kontrolle im Halbfreiland waren 1 Stunde nach der Aussaat in 3 Totenfallproben keine Rückstände in toten Bienen nachweisbar. 2 Stunden nach Aussaat wurden jedoch <6,2 µg/kg, 2 Tage nach Aussaat noch <2,7 µg Clothianidin/kg Bienen detektiert, konnten aber nicht näher quantifiziert werden. Die maximale Konzentration in Variante Treatment im Halbfreiland zwei Stunden nach Aussaat lag bei 17,3 µg/kg. Im Freiland wurden sowohl in der Kontrolle als auch in Variante Treatment Rückstände nachgewiesen. In

Kontrolle wurden die Rückstände eine Stunde nach Aussaat mit 3,3 µg/kg, 2 Stunden nach Aussaat mit 18,2 µg/kg, in Variante Treatment eine Stunde nach Aussaat mit 11,3 µg/kg, 2 Stunden nach Aussaat mit 12,0 µg/kg quantifiziert. 2 Tage nach Aussaat wurden in 4 Proben des Treatment-Totenfalls 3,9-4,9 µg/kg gemessen. Die maximalen Rückstände wurden somit im Halbfreiland und Freiland zwei Stunden nach der Applikation gemessen. Im Freiland wurden in allen Totenfallproben, eine, zwei Stunden und zwei Tage nach Applikation in Kontrolle und Treatment Rückstände nachgewiesen.

Vor Applikation wurde in keiner der 8 Honigblasen bzw. 4 Pollenproben im Halbfreiland und Freiland Clothianidin detektiert. Am Tag der Applikation wurden in je einem Pollenhöschen am Flugloch gefangener Bienen im Freiland in der Kontrolle 1700 µg/kg Clothianidin, in Treatment 550 µg/kg Clothianidin, in präparierten Honigblasen keine nachweisbaren Rückstände gefunden. Im Halbfreiland wurde in der präparierten Pollenhöschen-Probe 260 µg/kg Clothianidin in der Kontrolle gegenüber 14.600 µg/kg Wirkstoff im Treatment belegt. In zwei analysierten Honigblasen in Treatment und einer Kontrollprobe wurden keine Rückstände nachgewiesen. Erneut zeigte sich die hohe Kontamination sowie hohe Variabilität in Pollenproben, während im Nektar keine Kontamination nachweisbar war.

Sowohl im Halbfreilandversuch, in dem kurzzeitig deutliche und behandlungsbedingte erhöhte Mortalität bis 24 Stunden und leicht erhöhte Mortalität bis 3 Tage nach der Aussaat festgestellt wurde, als auch im Freilandversuch, in dem jedoch keine erhöhte Mortalität feststellbar war, wurde Clothianidin nachgewiesen. Rückstände wurden sowohl in beiden Versuchsansätzen in der Kontrolle als auch Treatment in einzelnen Proben mit ähnlichen Maximalkonzentrationen gefunden, was dadurch bedingt ist, dass Bienen der Kontrolle im Freiland auch auf der eingestaubten Treatment-Feldseite sammeln konnten und auch der Beizstaub-belasteten Luft beim Durchfliegen ausgesetzt waren. In diesem Versuch wurde die höchste Rückstandsbelastung sowohl in Petrischalen als auch im benachbarten blühenden Bestand aller Rapsversuche nachgewiesen. Die Rückstände in Kontrolle im Halbfreiland waren jedoch geringer als in Variante Treatment.

Rapsaussaat 2014/1: HBAS 0,0047 g as Clothianidin / ha

In 3 Poolproben des Totenfalls aller Völker vor Aussaat waren keine Rückstände nachweisbar. In 17 Proben nach Aussaat wurde Clothianidin im Freiland am Tag 0 in der Kontrolle, maximal 5,8 µg/kg, und im Treatment, maximal 9,1 µg/kg, an Tag 3 nur im Treatment mit 2,2 µg/kg bestimmt. Im Totenfall der Halbfreilandvölker waren am Tag der Aussaat weder in der Kontrolle noch im Treatment Rückstände nachweisbar, am Tag 3 im Halbfreiland Rückstände in Kontrolle und Treatment mit <1,9 µg/kg. Da hier keine Quantifizierung möglich war, wurde die probenspezifische LOD abgebildet (Anhang VII).

In diesem Versuch führte die deutlich bessere Beizqualität in niedrigeren Rückständen in Petrischalen und benachbarten Blüten und führte zu keinen nachweisbaren Auswirkungen auf die akute Bienenmortalität. Auch bei geringem Totenfall können in einzelnen Bienen im Freiland

erneut höhere Rückstände gefunden werden, im Halbfreiland auch an Tag 3. Erneut zeigte sich kein direkter Zusammenhang zwischen Rückstandshöhe und Höhe des Totenfalls.

Rapsaussaats 2014/2: HBAS 0,0009 g as Clothianidin / ha

Am Aussaatag wurden keine Rückstände im Totenfall im Treatment im Halbfreiland und Freiland nachgewiesen, im Halbfreiland jedoch am Tag nach Aussaat und 2 Tage nach Aussaat, in Freiland 1 und 3 Tage nach Aussaat. Maximal wurden im Freiland 4,8 µg Clothianidin/kg und 3,6 µg/kg in toten Bienen im Halbfreiland gemessen. Insgesamt wurden 6 Bienen, 2 Honigblasen- und Pollenproben vor Aussaat, 29 Totenfall- und je 18 Honigblasen- und Pollenproben des Nachaussaatzeitraums analysiert. Vor Aussaat waren keine Rückstände nachweisbar. Die Rückstände in Einzelproben betragen in Pollen im Treatment bis zu 20,6 µg/kg, in der Kontrolle <1,7 µg/kg. Keine Rückstände wurden im Freiland; im Halbfreiland im Treatment maximal 16,1 µg Clothianidin/ kg gefunden. In präparierten Honigblasen des Halbfreilands wurde nur am Tag der Applikation in einer von 4 Proben <1,2 µg/kg Clothianidin nachgewiesen, an den Folgetagen in 2 Proben jedoch nicht mehr. Im Freiland wurde in 2 Proben vor und 8 Proben nach Aussaat kein Clothianidin gemessen.

Da die Beizqualität in diesem Versuch vergleichsweise sehr gut und daher auch die resultierenden Rückstände in Petrischalen und Blüten wesentlich geringer waren als in allen anderen Versuchen mit Raps- und mit Maisaussaats, wurde im *Worst Case* im Halbfreilandversuch kein Anstieg des Totenfalls festgestellt. Während im Freiland am Tag 2 erhöhter Totenfall festgestellt wurde, waren keine Rückstände im Totenfall nachweisbar. Im Halbfreiland dahingegen war kein behandlungsbedingter Effekt feststellbar. Zwar waren vereinzelt Rückstände im Totenfall in Treatment-Proben der Varianten Halbfreiland und Freiland nachweisbar, und Rückstände waren in von Bienen gesammelten Pollen am Drilltag und am Folgetag nachweisbar, jedoch wesentlich geringere als in anderen Versuchen mit Beprobung von Pollen.

4.2.3 Auswirkung der Beizstaubabdrift auf Volkstärke und Brutentwicklung

Rapsaussaats 2011: HBAS 0,025 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: 5 Tage vor Aussaat war die Anzahl adulter Bienen in der Kontrolle etwas geringer (14854 ± 2106) als im Treatment (17010 ± 5120), wohingegen die Volksstärke 12 Tage nach Aussaat im Treatment niedriger lag (14437 ± 676) als in der Kontrolle (15958 ± 1101). Am letzten Beobachtungstermin an Tag 26 waren die Völker der Kontrolle (10916 ± 563) etwas stärker als im Treatment (9968 ± 2261). Wenngleich eine Tendenz der Schädigung auch in der Anzahl adulter Bienen erkennbar ist, wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt (Anhang VI). Die Summe der Brutzellen (Eier, Larven, verdeckelte Brut) war im Zeitraum 5 Tage vor (K: 22733, T: 24166) ähnlich. In beiden Varianten wurde eine Abnahme der Brutzellen 12 Tage nach Aussaat (K: 10733; T: 10733) beobachtet. Am letzten Schätz-

termin an Tag +26 wurde eine etwas geringere Menge an Brutzellen im Treatment (K: 12933; T: 9166) beobachtet.

Freiland: Die Stärke der Bienenvölker blieb nahezu unverändert im Zeitraum 5 Tage vor (R: 14281 ± 2074; K: 13453 ± 3410; T: 15375 ± 956) bis 12 Tage nach Aussaat (K: 15961 ± 1263; R: 14469 ± 2340, T: 15672 ± 1694). Ein Rückgang der Volksstärke und Brutleistung wurde zwischen Tag 12 und Tag 26 auf 11094 ± 1227 Bienen in Remote, 8898 ± 930 in Kontrolle und 12563 ± 3381 im Treatment festgestellt. Die Anzahl der Bienen in Variante Kontrolle ging somit stärker zurück als in Remote und Treatment, die höchste Bienenzahl wurde in Variante Treatment gemessen; behandlungsbedingte signifikante Effekte auf Volksstärke und Brutentwicklung konnten nicht festgestellt werden. Die Brutentwicklung verlief in den Varianten im Freiland nahezu gleich. Alle Brutstadien waren über den gesamten Zeitraum in den Völkern vorhanden. Die Summe der Brutzellen 5 Tage vor Aussaat betrug in Remote 22150, in Kontrolle 22175 und im Treatment 23350. An Tag 12 wurden 21425 Zellen in Remote, 18375 in Kontrolle und 19275 Zellen im Treatment festgestellt. Die Anzahl Brutzellen an Tag 26 war in allen Varianten aufgrund der natürlichen Verringerung des Brutumfangs im Herbst deutlich geringer mit 8350 Zellen in Remote, 9750 in der Kontrolle und 7000 Zellen im Treatment.

Rapsaussaat 2013: HBAS 0,009 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: Bei der 2. Populationsschätzung, war die Anzahl Bienen im Halbfreiland in der Kontrolle von 6750 ± 2680 Bienen 8 Tage vor Aussaat auf 6458 ± 201 Bienen 14 Tage nach Aussaat, im Treatment von 5771 ± 1258 auf 4854 ± 1445 zurück gegangen. Die Summe der Brutzellen 8 Tage vor Aussaat betrug in Kontrolle 10600 und im Treatment 11866, 14 Tage nach der Aussaat 8533 in Kontrolle und 8133 in Variante Treatment. Somit wurde ein Trend eines stärkeren Rückgangs für die Anzahl adulter Bienen und Bienenbrut im Treatment festgestellt, die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant.

Freiland: In Variante Kontrolle im Freiland wuchsen die Völker von Tag -8 bis Tag +14 von 6292 ± 1807 auf 7813 ± 827, im Treatment von 5938 ± 882 auf 8458 ± 1962 Bienen pro Volk. Die Summe der Brutzellen 8 Tage vor Aussaat betrug in Kontrolle 10533 und im Treatment 11066, 14 Tage nach der Aussaat 13400 in Kontrolle und 12866 in Variante Treatment. Die Völker zeigten somit im Versuchszeitraum ein Wachstum, sowohl die Anzahl Brutzellen wie auch die Anzahl adulter Bienen zeigten eine leichte Zunahme. Zwischen den Varianten und zwischen den Schätzterminen wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt, weder für Halbfreiland noch Freiland.

Rapsaussaat 2014/1: HBAS 0,0047 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: Die Versuchsvölker im Halbfreiland waren mit 4625 ± 1631 in Kontrolle und 4958 ± 2209 Bienen pro Volk im Treatment von vergleichbarer mittlerer Volksstärke 4 Tage vor Aussaat. Auch die Anzahl an Brutzellen war mit 27680 ± 4459 in Kontrolle und 23946 ±

6682 ähnlich. Aufgrund von Kapazitätsengpässen konnten keine Daten zur Volks- und Brutentwicklung im Freiland und nach der Aussaat erhoben werden.

Rapsaussaat 2014/2: HBAS 0,0009 g as Clothianidin / ha

Halbfreiland: Die Versuchsvölker im Halbfreiland (K: 8708 Bienen \pm 1813, Treatment 8625 Bienen \pm 1090) waren 6 Tage vor Aussaat von vergleichbarer Volksstärke. Bei der 2. Populationsschätzung, 9 Tage nach der Aussaat war die Anzahl Bienen im Halbfreiland in der Kontrolle mit 8750 ± 1090 annähernd gleich, im Treatment auf 8041 ± 1283 zurück gegangen. Die Brutfläche nahm im Zeitraum im Halbfreiland in beiden Varianten ab, wobei im Rahmen der Fehler die Werte als gleich anzusehen sind, so dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten an Tag 6 vor Aussaat und Tag 9 nach Aussaat festgestellt wurden.

Freiland: Im Freiland lag die Volksstärke in der Kontrolle 6 Tage vor Aussaat (12208 Bienen \pm 2482) etwas höher als im Treatment (8979 ± 1786 Bienen). In Variante Kontrolle im Freiland ging die Volksstärke bis Tag 9 nach der Aussaat auf 11375 Bienen \pm 125 leicht zurück, im Treatment wurde ein geringer Anstieg auf 9208 ± 1512 festgestellt. Die gefundenen Unterschiede waren signifikant, allerdings zeigen sich keine behandlungsinduzierten Effekte. Auch im Freiland wurde ein signifikanter Rückgang der Brutleistung der Völker in beiden Varianten festgestellt, jedoch wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten an Tag 6 vor Aussaat und Tag 9 nach Aussaat nachgewiesen.

Schlussfolgernd konnte eine statistisch signifikante Abnahme der Bienenzahl und Verringerung der Brutleistung auch in Versuchen mit Rapsaussaat nicht belegt werden. Im Versuch mit Rapsaussaat 2013 ist in Variante Treatment dennoch ein leichter Trend zu einem stärkeren Rückgang der Anzahl adulter Bienen und zur Verringerung der Anzahl Brutzellen erkennbar. Auch für 2011 wurde ein Trend zur Abnahme der Bienenzahl und Summe der Brutzellen festgestellt, während in 2014/2 keine Unterschiede erkennbar sind. Auch in den Versuchen mit Rapsaussaat waren keine Auswirkungen auf die Mortalität von Puppen oder Larven feststellbar.

4.3 Zusammenfassende Betrachtung der Abdriftversuche mit Raps und Mais

Die Auswirkungen auf die akute Mortalität und das Auftreten von Rückständen in Nichtziel­flächen zeigten deutliche Unterschiede nach Aussaat von Saatgut mit schlechterer Beizquali­itäten bei Mais (hohe HBAS-Werte) gegenüber Versuchen mit Rapsaussaat und höherwertige­ren Qualitäten (geringe HBAS-Werte) mit geringem Abrieb und Wirkstoffgehalt des Abriebs.

Um den Einfluss der verschiedenen, die Beizqualität charakterisierenden Faktoren auf die Staubdeposition in benachbarten Zielflächen zu ermitteln, wurden die Korrelationen für die Parameter berechnet: pro Feld im Versuch ausgebrachte Aufwandmenge am Saatgut in g Wirkstoff/ha (AWM), Heubachstaubmenge in g/ha (HBG), Wirkstoffgehalt der Stäube (HBWG) und der Kombination aus Staubmenge und Wirkstoffgehalt (HBAS). Darüber hin­aus wurde der Zusammenhang der Qualitätsparameter mit den Messergebnissen von Rück­ständen in Petrischalen, im gesamten Bestand und separat nur in Blüten untersucht, um fest­zustellen, inwiefern eine Abschätzung der für Bienen relevanten Rückstände über den HBAS-Wert möglich ist.

4.3.1 Rückstände in Nichtzielflächen

Petrischalen, Blüten und Gesamtpflanzenbestand

In allen Blüten- sowie wie in Petrischalen-Proben in verschiedenen Abständen zur Feldkante wurden nach Maisaussaat 2011 höhere Rückstände als nach Maisaussaat 2010 gemessen. Im Gesamtbestand waren die Werte der beiden Versuchsjahre dahingegen ähnlich (Abb. 17).

Während die Mittelwerte in Petrischalen in Versuchen mit Maisaussaat 2012, Rapsaussaat 2011 und Rapsaussaat 2014/1 mit etwa 21 mg as/ha vergleichbar waren, zeigten sich in Blü­ten Unterschiede mit 4,2 µg as/kg Blütenmasse nach Maisaussaat 2012, 5,8 µg as/kg nach Rapsaussaat 2011 und 1,3 µg as/kg nach Rapsaussaat 2014/1. Nach Rapsaussaat 2014/2 wur­de trotz deutlich niedrigerer Rückstände in Petrischalen von nur 1,7 mg in Blüten mit 1,8 µg as/kg höhere Rückstände als in Raps 2014/1 gemessen. Auch nahm die Rückstandsbelastung in diesem Versuch vergleichsweise schwach mit der Entfernung ab.

Nach Maisaussaat 2012 war der Mittelwert in 0,15 m Entfernung aufgestellten Petrischalen mit 40 mg Wirkstoff/ha etwas höher als nach Rapsaussaat 2011, der Mittelwert in Petrischa­len betrug hier 27 mg as/ha. In den weiteren Abständen ab 3 m waren die Rückstände in ver­gleichbarer Höhe; bei Distanzen von 20 und 29,5 m fielen die Rückstände nach Rapsaussaat und Drift in Senf geringer ab als in Versuchen mit Maisaussaat und Abdrift in Raps. In Rela­tion zur Heubach-Wirkstoffmenge wurden nach Rapsaussaat 2013 und 2011 mit Abdrift in blühenden Senf somit höhere Rückstände in Blüten als nach Maisaussaat 2012 mit Abdrift in blühenden Raps nachgewiesen. Deutlich geringere Rückstände wurden in Versuchen mit

Rapsaussaart im Frühjahr (2014/1, Abdrift auf Raps) und Herbst 2014 (2014/2, Abdrift auf Senf) gemessen.

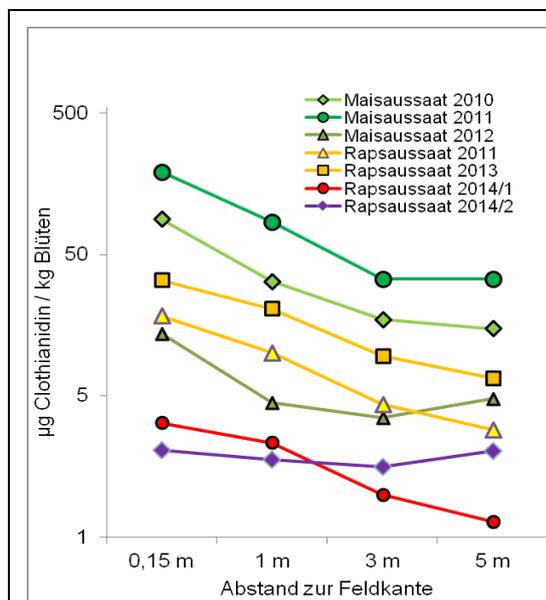


Abb. 16 Mittlere Rückstände in Raps- oder Senfblüten im benachbarten Bestand nach Aussaat von Raps und Mais im Abstand 0,15 m bis 5 m Entfernung zur gesäten Fläche. MW und StdAbw.

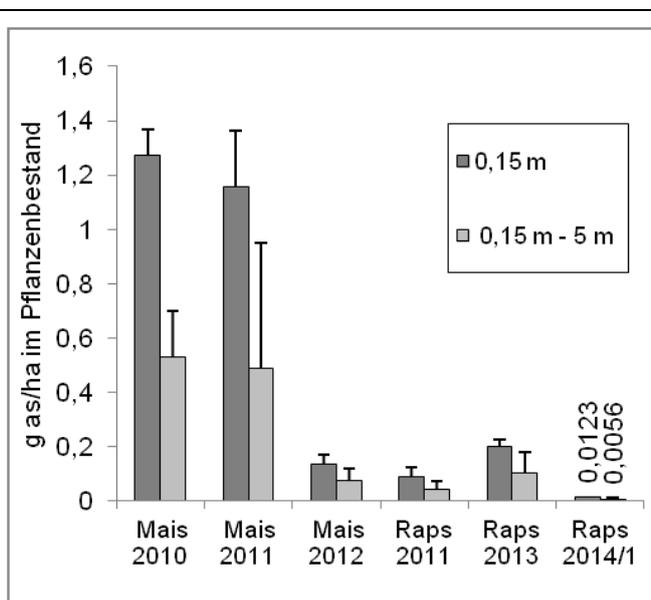


Abb. 17 Rückstände im Gesamtbestand in 0,15 m Entfernung und Mittelwert der Messpunkte in 0,15 m, 1 m, 3 m und 5 m Abstand zur gesäten Fläche. MW und StdAbw.

Es zeigt sich, dass das gewählte Versuchsdesign mit Aufstellung der Zelte für Halbfreilandversuche direkt am Feldrand bei einer Breite von 6 m die Bereiche mit den höchsten Kontaminationen abdeckt und somit ein *Worst-Case*-Szenario für die Bienen hergestellt wurde. Die Errechnung des Mittelwertes aus den Messungen 0,15 m, 1 m, 3 m und 5 m ist zwar kein arithmetisches Mittel, ist aber dennoch geeignet, die Belastung mit Rückständen darzustellen. Der Einfluss des feldrandnah, bei 0,15 m gemessenen Werts auf diesen Mittelwert ist höher als die der Messwerte bei 1, 3 und 5 m. Diese Berechnung ist dadurch gerechtfertigt, dass der feldrandnahe Bereich mit der höchsten Kontamination am kritischsten zu werten ist. Interessanterweise betragen die so gemittelten Werte in allen Versuchen etwa die Hälfte des Messwertes in 0,15 m Abstand.

Während per Spritzung auf der Fläche ausgebrachte Wirkstoffmenge maßgeblich die Rückstände und Effekte auf Bienen determinieren, ist bei Staubabdrift zunächst unerheblich, welche Wirkstoffmenge mit dem Saatgut ausgesät wird, aber maßgeblich, welche Staub- und Wirkstoffmengen verwehen. Für eine Modellierung der Rückstände in Nichtzielflächen und Effekte auf Bienen wurde daher die ausgesäte Wirkstoffmenge (AWM), die Menge Abriebstaub (HBG), der Wirkstoffgehalt des Abriebstaubs (HBWG) und die Menge des Abriebstaubs in Kombination mit dem Wirkstoffgehalt der Stäube (HBAS) betrachtet. Aus den Be-

rechnungen ist zu schlussfolgern, dass der HBAS der für die Vorhersage der Wirkstoffkontamination von Nichtzielflächen am geeignetste Parameter ist. Für die Rückstandswerte in Petrischalen ($R^2= 0,716$), im Bestand ($R^2= 0,886$) und in Blüten ($R^2= 0,619$) wurden höhere Korrelationen für HBAS als für AWM, HBG und HBWG (Tab. 11). Im Versuch mit Rapsaussaart 2013 wurden keine Daten zu den gesamten Rückständen im Bestand erhoben. Nur minimale Unterschiede der Korrelationen wurden nach Analyse der Werte direkt am Feldrand nachgewiesen, daher wurde der Mittelwert der Deposition in 1-5 m Abstand berechnet. Es bestätigt sich aus den Daten, dass der Heubach g as/ha der am besten geeignetste Parameter für die Abschätzung der Rückstandskontamination von Nichtzielflächen ist.

Rückstandsmessungen in Petrischalen zeigen hohe Korrelation mit dem benachbarten Bestand ($R^2=0,888$) und eine sehr hohe Korrelation mit Blüten ($R^2= 0,938$). Sie erlauben einen fundierten Rückschluss auf die Belastung im benachbarten Bestand und in Raps- und Senfblüten.

Tab. 11 Analyse der Bestimmtheitskoeffizienten (R^2) zwischen Beizqualität und Rückständen in Nichtzielflächen: n=7, (keine Daten für Bestand 2014/1; n=6)

Variablen	HBG	HBWG	HBAS	PS, 1-5 m	BBB, 1-5 m	BL, 1-5 m
	[g/ha]	[% a.s]	[g as/ha]	[g as/ha]	[g as/ha]	[μ g as/kg]
AWM [g as/ha]	0,767	0,090	0,366	0,262	0,539	0,102
HBG [g/ha]	1	0,026	0,546	0,427	0,685	0,204
HBWG [% as]		1	0,161	0,004	0,005	0,031
HBAS [g as/ha]			1	0,716	0,886	0,619
PS, 1-5 m [g as/ha]				1	0,888	0,938
BBB 1-5 m [g as/ha]					1	0,717

AWM: Aufwandmenge Wirkstoff am Saatgut in g as/ha; HBG: Heubach Staubmenge; HBWG: Wirkstoffgehalt im Abriebstaub, HBAS: Heubach g as/ha; PS: Petrischalen; BBB: benachbarter, blühender Bestand in g as/ha; BLÜ: Blüten in μ g/kg. Für PS, BBB, BL wurden Mittelwerte der Messung in 1, 3 und 5 m Abstand zur Feldkante für die Berechnung verwendet.

Feldrandbereiche sind somit die nach Beizstaubabdrift am höchsten kontaminierten Bereiche, die Deposition nimmt kontinuierlich mit der Entfernung ab. Auch in knapp 30 m Entfernung waren noch Rückstände in Petrischalen nachweisbar. Der HBAS-Wert zeigt eine deutlich höhere Korrelation mit den Rückständen in Petrischalen, Blüten und den benachbarten Bestand als die AWM, den HBG und HBWG.

4.3.2 Mortalität

Die vergleichende Betrachtung der Summen der Mortalität in Totenfallen im Expositionszeitraum nach der Aussaat (0 bis 6 bzw. 7 Tage nach Aussaat) zeigt den Einfluss der Saatgutabriebqualität und Staubexposition auf die Höhe der akute Mortalität (Abb. 18). Der Einfluss der Staubexposition ist im *Worst Case*, der Exposition in Halbfreilandbedingungen, deutlicher erkennbar als in Freilandbedingungen, obwohl dort die Völker auch direkter Staubabdrift exponiert waren.

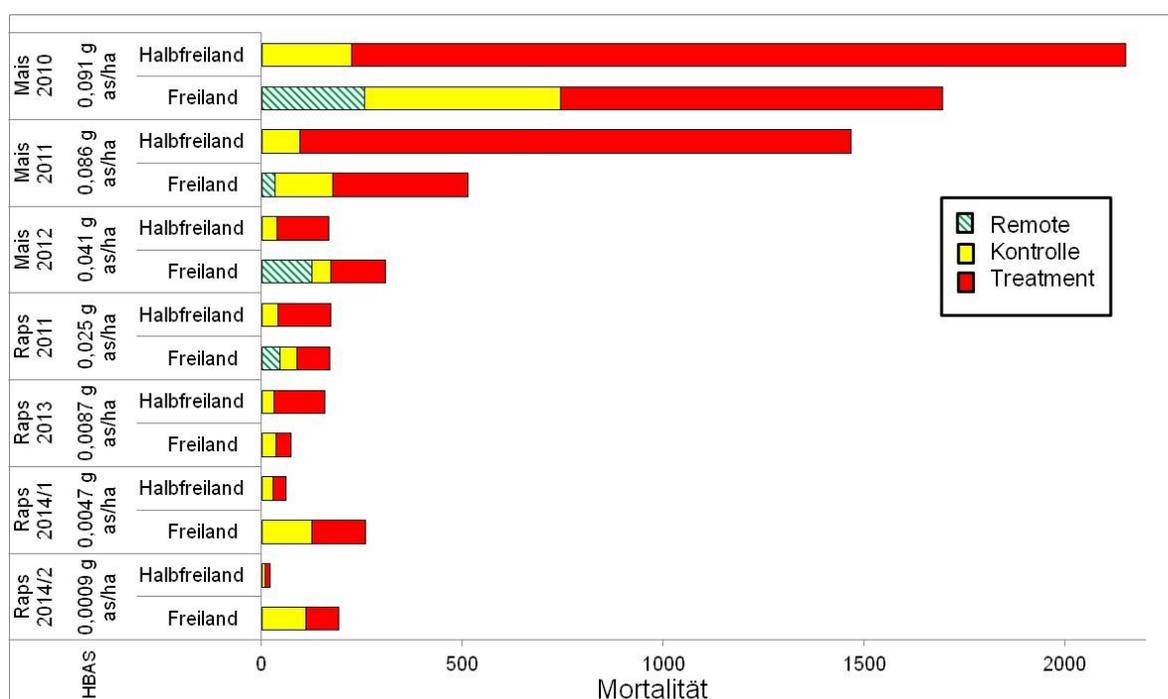


Abb. 18 Summe toter Bienen in Totenfallen je Volk und Behandlungsvariante, im Zeitraum null bis 7 Tage nach Aussaat in Halbfreiland- und Freilandversuchen mit Maisaussaat 2010, 2011 und 2012 sowie Rapsaussaat 2011, 2013, 2014/1 und 2014/2. Statistische Auswertung der Daten siehe Tab. 8; Tab. 10 sowie im Anhang.

Insgesamt erwies sich die Versuchsanstellung der Abdriftversuche als gut geeignet für die Erfassung von Effekten auf Bienen. Bei einer Beizqualität von < 5 mg Clothianidin HBAS im *Worst-Case-Expositionsszenario* in Halbfreilandbedingungen und < 10 mg HBAS im Freiland zeigten sich keine Auswirkungen auf die akute Mortalität.

Über die in den Kapiteln 4.1.3 und 4.2.3 beschriebene statistische Auswertung mit Vergleich des Einflusses der Zeit, der Behandlung und der Interaktionen einschließlich tagweisem Vergleich des Totenfalls der Einzelversuche (Tab. 8, Tab. 10) hinaus können zusätzliche Informationen zu Effekten auf Bienen über den Mortalitätsquotienten im Vergleich des Zeitraums Vor- zu Nachaussaat (Tab. 7, Tab. 9), aber die aufsummierte Mortalität des Nachaussaatzeitraums (Abb. 18) erlangt werden.

Im Freiland wurde in den Maisaussaatversuchen 2010, 2011 und 2012 in Variante Treatment jeweils die höchste aufsummierte Mortalität festgestellt (Abb. 18). In Variante Treatment starben nach Maisaussaat 2010, 2011 und 2012 wie auch nach Rapsaussaat 2011 mehr Bienen als in den Varianten Kontrolle und Remote. Die Kontrollmortalität lag nach Maisaussaat 2010 und 2011 über der Mortalität in Remote, nach Maisaussaat 2012 sowie Rapsaussaat 2011 leicht niedriger. In Freilandversuchen zeigte sich ein klarer signifikanter Einfluss der Variante auf die Mortalität nur in Versuchen mit Maisaussaat 2010 (Kap. 4.1.3 und Kap. 4.2.3). Anhand der Summe toter Bienen lässt sich aber auch nach Maisaussaat 2011 ein klarer Trend einer erhöhten Mortalität im Treatment in Vergleich zu Varianten Kontrolle und Remote erkennen. Bedingt durch die hohe Variabilität der Daten wurden aber keine signifikanten Unterschiede für den tageweisen Vergleich der Mortalität festgestellt. Dahingegen zeigte sich im Vergleich der aufsummierten Mortalität nach Rapsaussaat 2013, 2014/1 und 2014/2 keine deutlichen Unterschiede zwischen den Varianten, obwohl 2013 im Vergleich der einzelnen Tage ein signifikanter Unterschied in den ersten 24 Stunden nach Aussaat festgestellt wurde.

Im Halbfreiland wurde in Versuch mit Maisaussaat 2010, 2011 und 2012 im Zeitraum bis 7 Tage nach Aussaat höhere Mortalität in der behandelten Variante festgestellt, wie sich sowohl in der Analyse der tageweise Vergleiche, aber auch der aufsummierten Mortalität zeigt (Tab. 7 und Abb. 18). Während sich der tageweise Verlauf der Mortalität unterschiedlich im Halbfreiland nach Maisaussaat 2012, Rapsaussaat 2011 und 2013 zeigt, lag die aufsummierte Mortalität der Versuche im Vergleich miteinander in ähnlicher Größenordnung. Somit wurde nur in den Versuchen mit Rapsaussaat 2014/1 und 2014 kein Anzeichen einer erhöhten Mortalität festgestellt.

Insgesamt blieben die Auswirkungen nach Aussaat von Raps auf Bienenmortalität auf viel niedrigerem Niveau im Vergleich zu Versuchen mit Maisaussaat (Abb. 18). In Halbfreilandversuchen mit Rapsaussaat 2011, 2013, 2014/1 und 2014/2 wurden im Zeitraum bis 7 Tage nach Aussaat eine im Mittel um 71, 97, 1 und 5 Bienen erhöhte Mortalität in der behandelten Variante festgestellt (Tab. 9). Dem gegenüber steht ein Anstieg der Mortalität nach Maisaussaat 2010, 2011 und 2012 um 1705, 1275 und 89 Bienen.

Die Höhe der auftretenden Mortalität wird hauptsächlich durch die Exposition von Bienen im blühenden Bestand beeinflusst, die wiederum von der Beizqualität, dem Heubach-Wert und der Wirkstoffmenge im Heubachstaub und den Witterungsbedingungen während der Aussaat abhängt. Bessere Beizqualität führte zu deutlich geringerer Mortalität nach der Aussaat.

Die Analyse der HBAS-Werte mit den mittleren Mortalitäten im Halbfreiland und Freiland und der Differenz der Mortalität zwischen Treatment und Kontrolle im Nachaussaatzeitraum zeigt hohe Korrelationen (Tab. 12).

Tab. 12 Analyse der Bestimmtheitskoeffizienten (R^2) zwischen HBAS und Bienenmortalität im Halbfreiland und Freiland

Variablen	HBAS [g as/ha]	Halbfreiland Mortalität	Halbfreiland Differenz	Freiland Mortalität	Freiland Differenz
HBAS [g as/ha]	1	0,873	0,876	0,655	0,807
Halbfreiland Mortalität		1	0,999	0,848	0,897
Halbfreiland Differenz			1	0,826	0,878
Freiland Mortalität				1	0,957

In der Korrelationsanalyse zwischen den Heubach-Werten und der über 7 Tage nach Aussaat aufsummierten Mortalität einzelner Völker in Halbfreilandversuchen zeigte sich in den Versuchen mit Raps- und Maisaussaat eine gute Korrelation ($R^2 = 0,7456$) (Abb. 19).

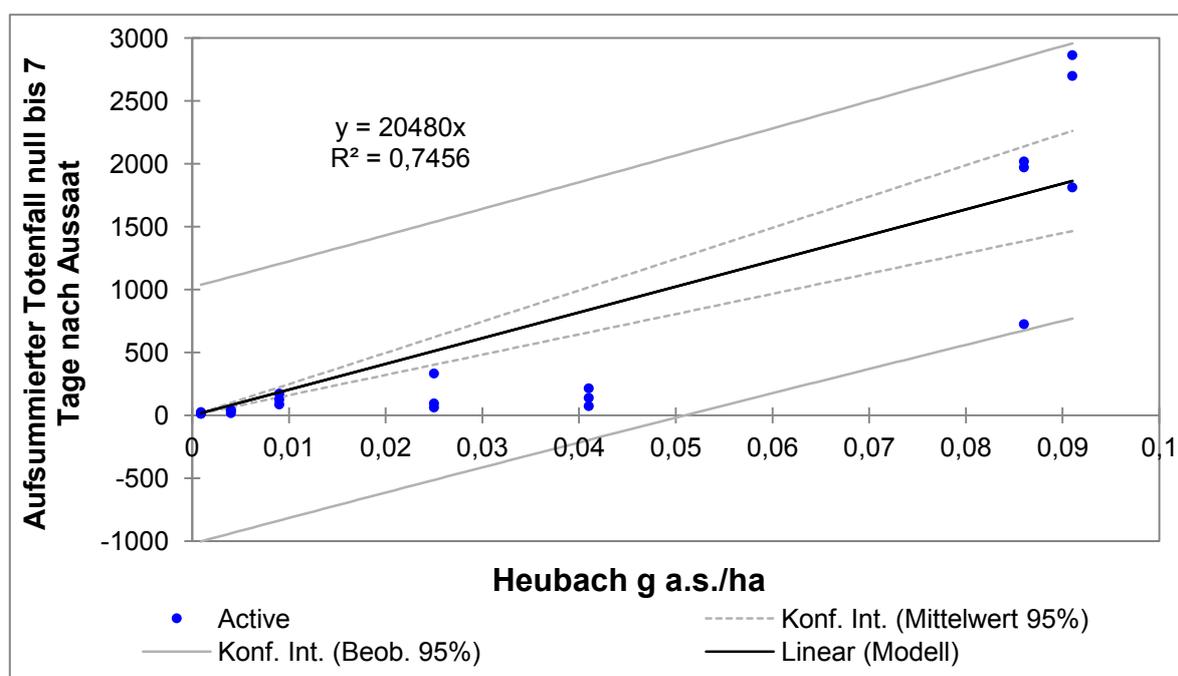


Abb. 19 Lineare Regression der im Zeitraum null bis 7 Tage aufsummierten Mortalität einzelner Völker in Halbfreilandversuchen und des Heubach g as/ha – Werts des Versuchssaatguts.

4.3.3 Rückstände in toten Bienen, Nektar und Pollen

Die höchsten Wirkstoffmengen waren in toten Bienen in den ersten Stunden nach Aussaat detektierbar. Eine rasche Abnahme der Wirkstoffmengen, aber noch über einige Tage nachweisbar, trat in Versuchen mit erhöhter Mortalität auf. In Maisversuchen wurden die höchsten Rückstände im Totenfall 2010 gemessen, gefolgt von 2011 und 2012. In Halbfreilandversuchen waren in der Kontrolle nur in vereinzelten Proben Rückstände messbar. Insgesamt zeigten sich für die Rückstandshöhe und Anzahl positiver Nachweise deutliche Unterschiede zwischen Kontrolle und Treatment. Im Freiland war die Kontamination zwischen Kontrolle und Treatment vergleichbar, in der „echten“ Kontrolle, der Variante Remote aber deutlich niedriger. Der Totenfall bestand fast ausschließlich aus Bienen ohne Pollenhöschen, bei exemplarisch präparierten Bienen aus der Totenfalle wurden auch nur wenige Bienen mit nennenswert gefüllten Nektarblasen gefunden. Sammlerinnen, die zum Volk zurückkehren, haben demnach ihr Sammelgut, Nektar und Pollen, im Stock abgeliefert, bevor sie verendeten. Bienen mit Pollenhöschen im Totenfall wurden für die Analyse der Rückstände entfernt. Die Häufigkeit der positiven Nachweise von Clothianidin war im Totenfall in Versuchen mit Raps deutlich geringer. 2011 wurde Clothianidin nur in vereinzelten Proben bis maximal 12 µg/kg, in 2013 bis 19 µg/kg im Totenfall gemessen. In 2014 wurde im Freiland maximal 3 µg/kg nachgewiesen, in Halbfreiland konnten die Rückstände aufgrund der probenspezifischen Nachweisgrenze nur mit <14 µg/kg beziffert, aber nicht näher quantifiziert werden. Insgesamt zeigt sich die Höhe der Rückstände im Totenfall nicht direkt mit der Höhe des Totenfalls korreliert, die Anzahl positiver Messungen war jedoch in Versuchen mit geringem oder keinem feststellbarem Totenfall deutlich geringer. Dies deutet auf eine hohe Variabilität der Rückstände, mit denen einzelne Bienen konfrontiert sind.

Einige Nachweise belegten äußerst hohe Mengen von Clothianidin in Pollen von Einzelbienen, allerdings mit sehr hoher Variabilität zwischen Proben. Auch zeigen die Analysen von Pollen und Bienenbrot insgesamt eine hohe Heterogenität, wider Erwartung wurden einerseits in einigen Proben gar keine Rückstände nachgewiesen, andererseits extrem hohe Werte in anderen Proben. Die höchste Konzentration in einer Einzelprobe 2013 lag mit 14600 µg/ Wirkstoff/kg, noch höher als Maximalwerte von 2010 bei Maisaussaat mit bis zu 1200 µg/kg. Auch nach Rapsaussaat im Herbst 2014 Rückstände im Pollen bis zu 21 µg/kg nachgewiesen.

In Nektarproben wurden nur in einigen Proben vergleichsweise geringe Mengen Wirkstoff bis maximal 7 µg/kg in 2010 nachgewiesen. In den meisten Proben waren Rückstände jedoch nicht nachweisbar.

4.4 Manuelle und maschinelle Ausbringung definierter Wirkstoffmengen und Vergleich der Auswirkungen auf Bienen in Halbfreiland- und Freilandversuchen

Für Zwecke der Risikobewertung sind Kenntnisse zu Wirkungsschwellen und Dosis-Wirkungsbeziehungen von Bedeutung, um eine produkt- und kulturbezogene Risikoabschätzung für die Stauabdrift durchführen zu können. Hierfür sind neue methodische Ansätze zur Ausbringung von Stäuben nötig; bislang sind jedoch keine Richtlinien für die Durchführung von Staubabdriftversuchen vorhanden. Im Rahmen der Dissertationsarbeit wurden daher Methoden zur Ausbringung gezielter Wirkstoffmengen und die Auswirkungen auf Bienen und Rückstände im Totenfall untersucht. Dafür wurden Methoden mit manueller Ausbringung, Ausstreuen der Stäube per Hand in Halbfreilandversuchen und maschineller Applikation in Freilandversuchen geprüft.

4.4.1 Manuelle Staubausbringung definierter Wirkstoffmengen und Auswirkungen auf Bienen im Halbfreiland

Der Versuch wurde auf der Versuchsfläche mit Maisaussaat im angrenzenden Rapsbestand ausgeführt, die Staubapplikation am selben Tag wie der Abdriftversuch durchgeführt. Die Witterungsdaten sind im Anhang dargestellt.

Flug- und Verhaltensbeobachtungen

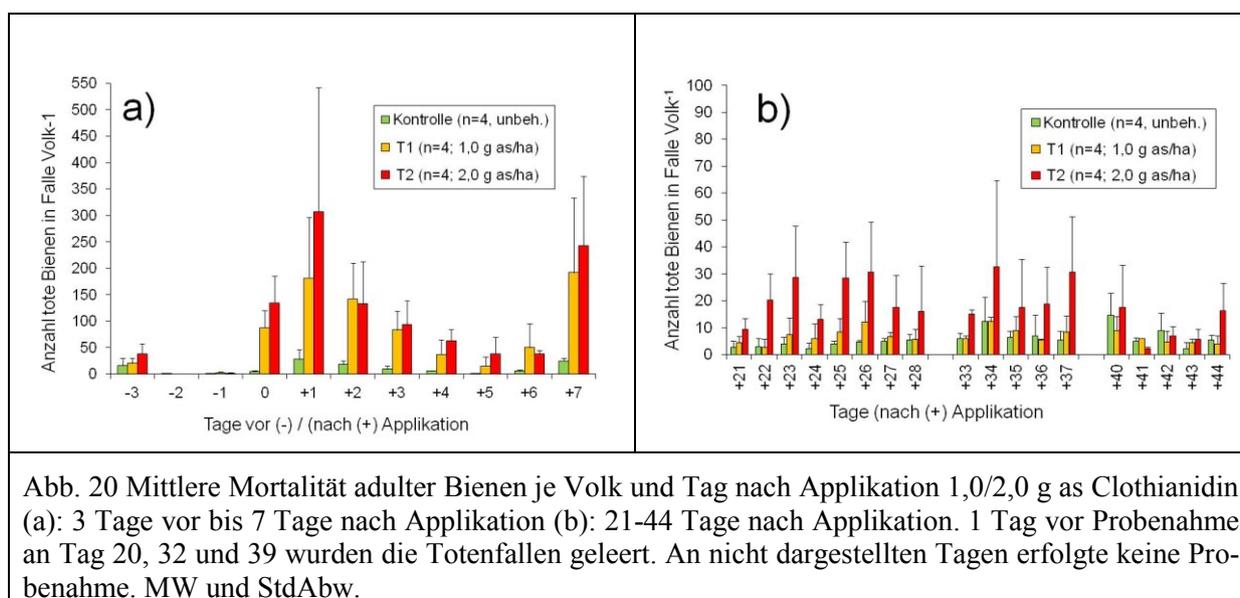
Die Flugbeobachtungen im Bestand zeigten während der Versuchsphase stark witterungsabhängige Schwankungen in der Anzahl der sammelnden Bienen pro m² (Anhang III). In den beiden Behandlungen mit Applikation von 1,0 g as/Clothianidin in T1 und 2,0 g as/ha in T2 war bei den Bienen zwei Stunden nach der Applikation eine leicht reduzierte Flugaktivität gegenüber der Kontrolle zu erkennen. Im Mittel der Tage vor Applikation (-3 bis -1) wurden in den Kontrollvarianten 5,9 und in den Behandlungen im Mittel 4,3 bis 8,0 sammelnde Bienen je m² beobachtet. Nach der Applikation (0 bis +7) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten feststellbar (K: 6,9; T1: 4,9; T2: 6,9 Bienen m²).

Mortalität

Sowohl in T1 und T2 war bereits am Tag 0 nach Applikation ein deutlicher Anstieg des Totenfalls (Abb. 20a) zu erkennen, mit Maximum an Tag +1 mit 181,7 (T1) und 306,7 toten Bienen (T2). Im weiteren Verlauf nahm der tägliche Totenfall bis Tag +6 ab. 7 Tage nach Applikation, am letzten Tag der akuten Staubexpositionsphase in Zelten war in beiden Behandlungsvarianten nochmals ein Anstieg des Totenfalls auf über 200 tote Bienen zu verzeichnen. Der durchschnittliche Totenfall der Bienen/Volk/Tag betrug vor der Applikation (-3 bis -1) 5,6 in der Kontrolle, 7,7 in der Behandlung T1 und 13,1 in der Behandlung T2. Da die Daten nicht normalverteilt vorlagen (Shapiro-Wilks, $p < 0,0001$), wurden die statistischen Auswertungen mit dem nicht-parametrischen Kruskal-Wallis Test durchgeführt. Nach der Applikation (0 bis +7) war der mittlere tägliche Totenfall in der Kontrolle leicht erhöht (12,2 Bienen/Volk) und deutlich höher in der Behandlung T1 und T2 (98,8/131,2) und damit hoch

signifikant (T1: $p=0,003$) und höchst signifikant (T2: $p<0,001$) verschieden zur Kontrolle. Im 4 Stunden nach Applikation gesammelten Totenfall wurden $3,9 \mu\text{g}/\text{kg}$ in der Kontrolle detektiert, die Ursache der Kontamination jedoch nicht weiter geklärt werden. In den Behandlungsgruppen wurden $18,6 \mu\text{g}/\text{kg}$ in T1 und $43 \mu\text{g}/\text{kg}$ in T2 gemessen. Damit lagen Rückstände in T2 um Faktor 2,3 höher als in T1.

Um auch längerfristige Auswirkungen auf die Mortalität zu untersuchen, wurde die Erfassung der Mortalität der Völker am Nachbeobachtungsstandort 3 Wochen nach Applikation wieder aufgenommen. Von Tag +21 bis +28 lag die mittlere tägliche Mortalität insgesamt deutlich niedriger (K:3,9; T1: 6,6; T2: 20,5 tote Bienen/Volk) aber immer noch signifikant erhöht in T1 ($p=0,047$) und T2 ($p=0,002$) im Vergleich zu C. Von Tag 33 bis Tag 37 war bei Mittelwerten von 7,4 Bienen in Kontrolle, 8,2 in T1 und 22,9 in T2 nur noch T2 signifikant erhöht gegenüber C ($p=0,024$), T1 jedoch nicht mehr ($p=0,907$). Im Zeitraum Tag 40 bis 44 waren keine signifikanten Unterschiede der Varianten T1 ($p=0,804$) und T2 ($p=0,679$) mehr feststellbar, die Mittelwerte betragen 7,3 in Kontrolle, 5,6 in T1 und 9,8 in T2 (Abb. 20b).



Volksstärke und Brutentwicklung

Die Versuchsvölker waren bei der ersten Populationsschätzung von ähnlicher Volksgröße in Kontrolle und T2, die Völker in T1 waren etwas kleiner als die Kontrollvölker (K: 7802; T1: 6688; T2: 8094 Bienen). Acht Tage nach der Applikation wurde ein Wachstum aller Völker festgestellt (K: 10448; T1: 8719; T2: 10656 Bienen), am 3. Schätztermin 21 Tage nach Applikation wurde eine leichte Abnahme der Bienenzahl und weiteres Wachstum in Varianten T1 und T2 beobachtet (K: 9125; T1: 9385; T2: 13708 Bienen). Die Völker zeigten in der Kontrolle sowie in der Behandlung T1 im direkten Anschluss an die Zeltphase (Tag +8) eine leichte Reduktion der Bruttätigkeit in der Kontrolle (-9: 17166; Tag +8: 14100 Zellen) und T1

(-9: 16600; Tag +8: 15566 Zellen). In der Behandlung T2 war für die Brutfläche kaum Veränderung zur ersten Populationsschätzung festzustellen (-9: 19000; +8: 19366 Zellen). Zum Zeitpunkt der dritten Populationsschätzung hatten alle drei Varianten etwas mehr offene und verdeckelte Brut (C: 15800; T1: 16330; T2: 21733 Zellen) als zu Beginn des Versuchs. Weder für Brut noch für adulte Bienen wurden signifikante Interaktionen zwischen der Variante und Zeit festgestellt, obwohl starke Effekte auf die adulte Mortalität festgestellt wurden.

Im Versuch wurde somit in beiden behandelten Varianten dosisabhängig erhöhte Mortalität festgestellt, die in den ersten 7 Tagen zeigte geringere Unterschiede zwischen den Varianten als erwartet, aber über mehrere Wochen erhöht.

4.4.2 Vergleich der Auswirkungen auf Bienen nach manueller Staubaubbringung und Spritzmittelapplikation im Halbfreiland

Für die Untersuchung der Auswirkungen von Spritzungen und Stäuben wurde im Versuch eine Variante mit Spritzung von Leitungswasser (CS), eine Variante mit Spritzung von Dantop[®] mit Aufwandmenge 1,0 g as Clothianidin (TS) mit einer Variante mit manueller Applikation von unbelastetem Erdstaub (Lufa 2.2.) (CD) sowie einer Variante mit manueller Staubaubbringung von 1,0 g as Clothianidin/ha (TD) und in Halbfreilandbedingungen während des Bienenflugs verglichen. Die Flugaktivität in den Versuchszelten war vor und nach Applikation konstant hoch, nur an Tag 2 wurde in allen Varianten witterungsbedingt geringere Flugaktivität nachgewiesen.

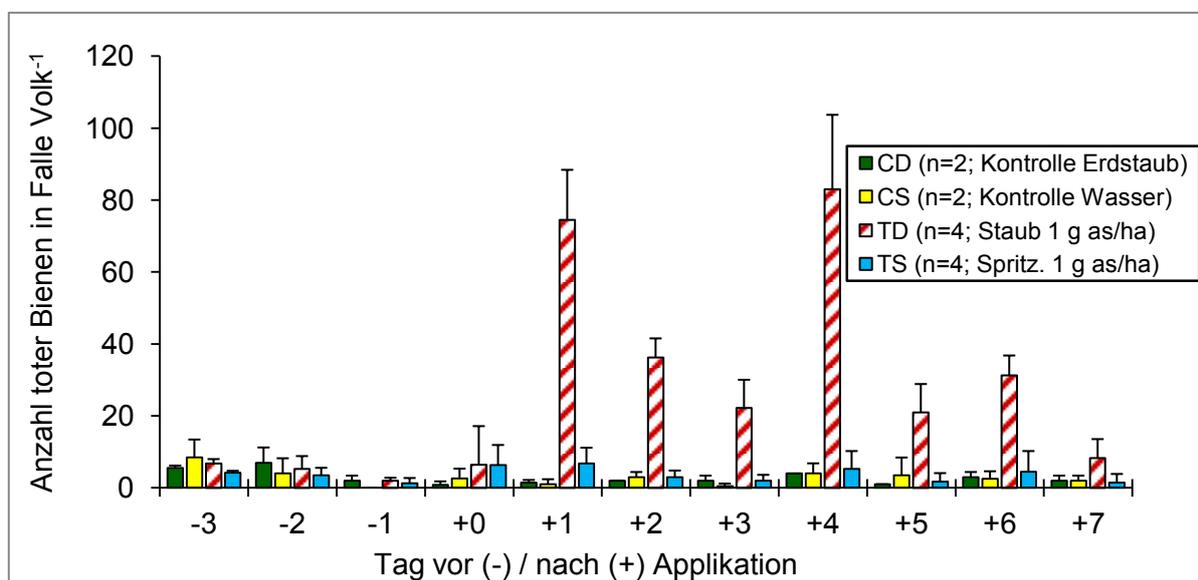


Abb. 21 Anzahl toter Bienen je Volk 3 Tage vor bis 7 Tage nach Applikation Spritzung (TS), Staubaubbringung (TD), Aufwandmenge je 1,0 g as Clothianidin/ha. Kontrolle Wasser (CS), Erdstaub (CD), MW und StdAbw.

Mortalität

In den Varianten CS, CD und TS war keine erhöhte Mortalität im Vergleich zur Vorapplikationsmortalität sowie zu den Kontrollvarianten feststellbar (

Abb. 21). In der Variante mit manueller Staubapplikation von 1,0 g as Clothianidin/ha (TD) wurde ein deutlicher und signifikanter Anstieg der Mortalität beobachtet. Signifikante Unterschiede wurden für die Interaktion Zeit*Gruppe festgestellt ($F_{21,64} = 16,87$; $p < 0,0001$). Die Mortalität der Variante TD war signifikant erhöht gegenüber Varianten CD, CS und TS. Zwischen CD, CS und TS wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Stäube stellen somit bei gleicher Wirkstoffmenge je Hektar ein deutlich höheres Risiko für Bienen dar.

Volksstärke und Brutentwicklung

Im Versuch wurden vergleichsweise kleine Bienenvölker eingesetzt; 3 Tage vor Applikation wurde die Volksstärke auf 3938 Bienen in CD (n=2), 3828 in TD (n=4), 2531 in CS (n=2) und TS (n=4) 2703 geschätzt. 10 Tage nach Applikation nahm die Volksstärke in allen Varianten zu; der geringste Zuwachs wurde jedoch in Variante TS festgestellt (CD: 4219, TD 4203, CS: 4375, TS: 3438 Bienen). Signifikante Unterschiede der Varianten oder zwischen Schätzterminen waren nicht festzustellen. Die im Totenfall erfasste Puppenmortalität war bei Honigbienen gering, in CD wurden im Zeitraum null bis 7 Tage nach Applikation 2 Puppen, in Variante CS 10 gegenüber 1 Puppe in TD und 7 Puppen in TS erfasst. Die Brutfläche 3 Tage vor Applikation war einheitlich zwischen den verschiedenen Varianten CD (9375), TD (9471), CS (9125), aber leicht geringer in TS (7875). Zehn Tage nach Applikation wurde eine deutlich geringere Brutfläche in CD (5250) beobachtet und eine geringere Reduktion in Varianten TD, CD, TS (TD: 7312, CS: 6562; TS: 6406). Signifikante Unterschiede der Varianten oder der Schätztermine konnten jedoch nicht festgestellt werden.

Nach Ausbringung von wirkstoffhaltigen Stäuben und einer Spritzung wurde somit ein deutlicher Anstieg des Totenfalls in der Variante mit wirkstoffhaltigem Beizstaub-Erdgemisch festgestellt. Keine erhöhte Mortalität wurde nach Spritzung des Wirkstoffs festgestellt. Stäube bewirkten demnach bei gleicher Aufwandmenge höhere Mortalität. In der Variante mit Ausbringung von unbelastetem Erdstaub wurde ebenfalls kein Anstieg der Mortalität festgestellt. Die manuelle Ausbringung von Stäuben in Halbfreilandzelten mit Erdstaub als Trägermaterial stellt somit eine gut geeignete Versuchsmethode als zweite Prüfstufe im dreistufigen Prüfverfahren dar.

4.4.3 Maschinelle Ausbringung definierter Wirkstoffmengen und Auswirkungen auf Bienen im Freiland

In diesem Freilandversuch wurden die Auswirkungen der gezielten Ausbringungen von 0,25 und 1,0 g as/ha Stäube auf Phacelia untersucht. Daten dieses Unterkapitels wurden im Bulletin of Insectology publiziert (Pistorius *et al.*, 2015).

Witterungsbedingungen

Die Witterungsbedingungen für die Versuchsdurchführung waren im gesamten Versuchszeitraum optimal. In den Tagen vor Applikation wurden leichte Niederschläge festgestellt, die jedoch nur am 3. Tag vor Applikation (3 DBA) tagsüber fielen und somit keine Flugaktivität auf der Versuchsfläche festgestellt wurde. Am Tag der Applikation (0DAA) bis DAA 6 wurden keine Niederschläge festgestellt, an Tag 7 regnete es zeitweilig (Anhang II).

Flugaktivität

Aufgrund des Zeitbedarfs für die Applikation und den Transport des Staubapplikators wurde die Applikation in T1 etwa 2 Stunden vor der Applikation in T2 durchgeführt. Daher wurde zu den entsprechenden Zeiten für T1 und T2 am Tag der Applikation und am Folgetag auch die Flugaktivität in der Kontrolle gemessen und als Kontrolle 1 und Kontrolle 2 dargestellt. An Tag 3 DBA wurde keine bzw. nur eine sehr geringe Flugaktivität in allen Behandlungsgruppen aufgrund Regens während des Tages festgestellt. An den übrigen Versuchstagen vor und nach der Applikation war Niederschlag hauptsächlich abends und nachts zu verzeichnen, so dass am Tag gute Flugaktivität messbar war. Die Flugaktivität im Vorapplikationszeitraum (4DBA bis 0DBA) war hoch und nicht signifikant unterschiedlich zwischen Kontrolle und T1 (Kontrolle: 15,3 Bienen; T1: 14,0 Bienen; $p=0.083$) und Kontrolle und T2 (Kontrolle: 16,6 Bienen; T2: 15,4 Bienen; $p=0.313$).

Die mittlere Flugaktivität nahm in T1 im Vergleich zur Kontrolle im Nachapplikationszeitraum (0DAA bis 7DAA) signifikant ab (Kontrolle 25,9 Bienen, T1:12,1; $p<0.001$); keine signifikanten Unterschiede wurden zwischen Kontrolle und T2 festgestellt (Kontrolle: 25,6 Bienen; T2: 22,4, $p=0.115$). Im Vergleich der Vor- zur Nachapplikationsflugaktivitat innerhalb einer Behandlungsgruppe wurden signifikante Unterschiede in Kontrolle1 ($p<0.001$) und der Kontrolle2 ($p=0.001$) sowie T2 ($p=0.001$) ermittelt. In T1 wurden keine signifikanten Unterschiede ($p=0.094$) zwischen Vor- und Nachapplikationszeitraum beobachtet. Während der Beobachtungen wurden keine Verhaltensauffälligkeiten bei der Sammel- und Flugaktivität festgestellt.

Mortalität

In der Vorapplikationsphase von 4DBA bis 0DBA war die mittlere Mortalität adulter Bienen (Abb. 22) auf niedrigem Niveau und nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Behandlungsgruppen (C:11,35 tote Bienen; T1: 18,9; T2: 11,8; $p(T1)=0.224$; $p(T2)=0.999$; zweiseitig).

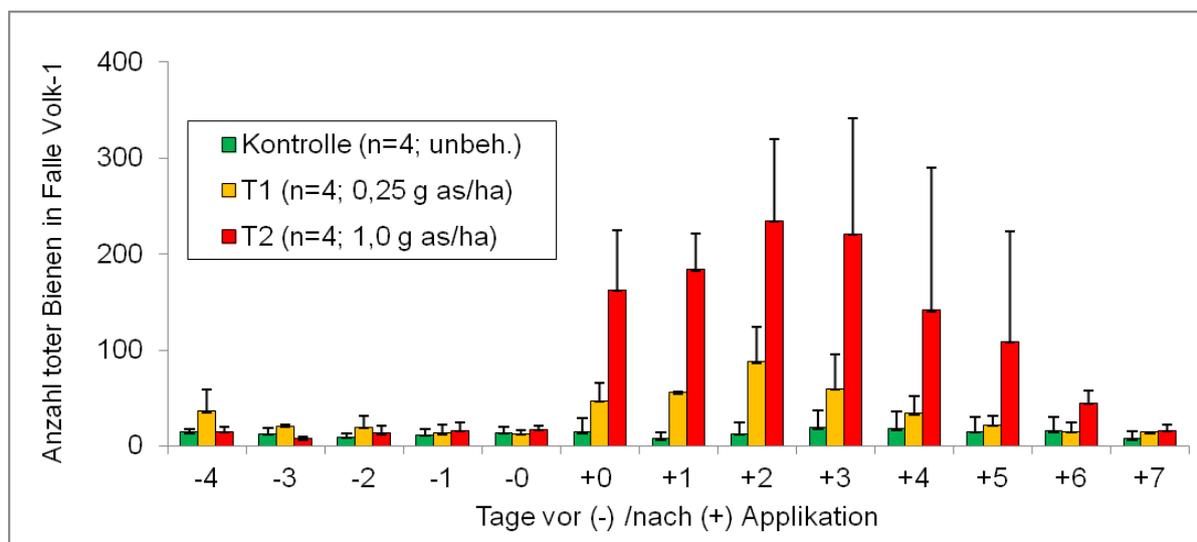


Abb. 22 Mittlere Anzahl tote Bienen je Volk in Totenfallen nach maschineller Staubapplikation von 0,25 und 1,0 g as/ha im Freiland.

In der Nachapplikationsphase wurden als häufigste Verhaltensabnormitäten krampfende Bienen und Bienen mit Störungen des Bewegungsapparats festgestellt, insgesamt 83 Bienen in T1 und 242 Bienen in T2. Es wurden 87% (T1) bzw. 95% (T2) dieser Effekte im Zeitraum 0DAA bis 2DAA festgestellt.

Signifikante Unterschiede in der Mortalität wurden in der Nachapplikationsphase von 0DAA bis 7DAA für T1 festgestellt (C: 13,53 Bienen; T1: $p=0.007$) und hochsignifikante Unterschiede für T2 (T2: 131.73 Bienen; $p<0.001$). Die Mortalität kehrte auf die Höhe der Kontrollmortalität an 5DAA in T1 und 7DAA in T2 zurück (Abb. 22). Signifikante Unterschiede wurden auch für den Vergleich der mittleren Mortalität im Vor- im Vergleich zum Nachapplikationszeitraum in T2 ($p=0.002$) festgestellt, keine statistischen Unterschiede für Kontrolle ($p=0.518$) und T1 ($p=0.055$). Durch das gewählte zweiseitige Testverfahren liegt der Unterschied bei T1 knapp unter dem Signifikanzniveau; bei einseitigem Testverfahren wäre jedoch ein signifikanter Unterschied für T1 feststellbar.

Volksstärke und Brutentwicklung

Die mittlere Stärke der Bienen betrug an 7DBA 19001, 22766 und 23766 Bienen in Kontrolle, T1 und T2. Die Anzahl adulter Bienen im Volk nahm in allen Varianten von der ersten Populationsschätzung an 7DBA bis zur zweiten Populationsschätzung an 7DAA (13516 Bienen in C; T1: 14235; T2: 15547) ab; in T1 und T2 war ein stärkerer Rückgang der Bienenzahl im Vergleich zur Kontrolle messbar.

In Behandlungsgruppen T1 und T2 nahm die Volksstärke von der 2. bis zur 5. Populationsschätzung an 28DAA ab (C: 12360; T1: 10938; T2: 9641). Die Volksstärke in T1 und T2 war jedoch von vergleichbarer Größenordnung wie die der Kontrolle. Auch die Brutentwicklung

in den verschiedenen Varianten zeigte einen nahezu gleichen Verlauf. Vom ersten (C: 19250, T1: 18500, T2: 16850), zweiten (C: 21350, T1: 24000, T2: 20300) bis zum 3. Schätztermin (C: 20000; T1: 19700; T2: 18750) blieb die mittlere Brutfläche (Summe aus Eiern, Larven und Puppen) auf ähnlichem Niveau in der Kontrolle, T1 und T2. Bei der 4. Populationsschätzung wurde in allen Varianten ein Rückgang der Brutfläche beobachtet (C: 12400; T1: 10550; T2: 10950), in je einem Volk in C und T2 waren keine Larven vorhanden. Am letzten Schätztermin waren in allen Völkern der Varianten wieder alle Brutstadien vorhanden. Es zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Varianten (Abb. 23).

In der Summe des Bienenverlusts zeigte sich am Versuchsende insgesamt ein Bienenabgang um 6641 Bienen in C, 11828 Bienen in T1 und 14125 Bienen in T2. Trotz des hohen Totenfalls in Varianten T1 und T2 wurde in der statistischen Auswertung im Vergleich der Daten des Bienenabgangs bei der zweiten, dritten und vierten Populationsschätzung im Vergleich zur Vorapplikationsschätzung kein signifikanter Unterschied zwischen C, T1 und T2 festgestellt. Nur am letzten Schätztermin 28 Tage nach Applikation wurde eine zur Kontrolle signifikant unterschiedliche Anzahl an adulten Bienen in Variante T2 ($p=0.0219$; einseitig), nicht aber in T1 festgestellt. Die Brutleistung war zu keinem Zeitpunkt im Vergleich zum Vorapplikationszeitraum signifikant unterschiedlich und somit kein Einfluss der Behandlung auf die Bienenbrut feststellbar. Während der gesamten Versuchsdauer wurden keine Anzeichen von Krankheitsbedingten Symptomen sichtbar, der Gesundheitszustand der Völker wurde als „gut“ beurteilt.

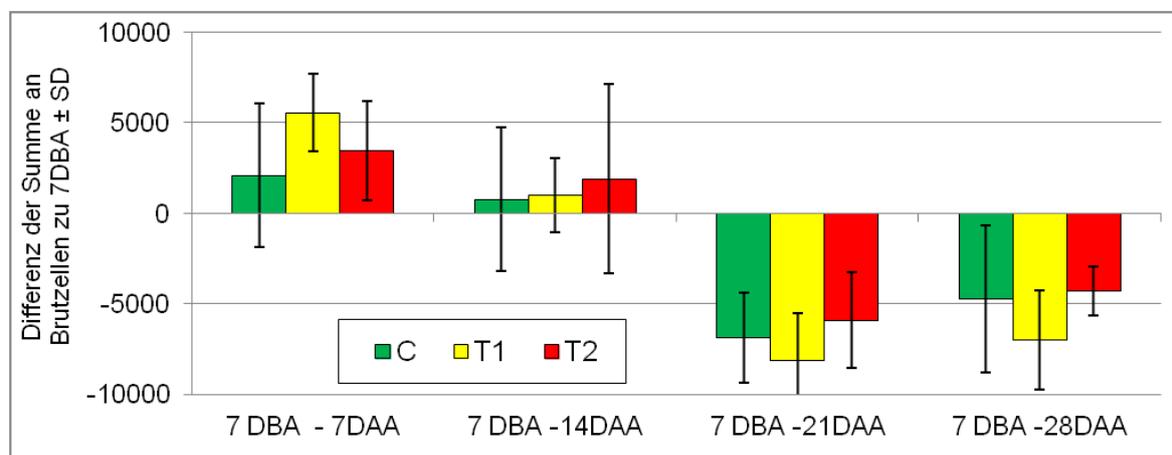


Abb. 23 Brutentwicklung im Beobachtungszeitraum: Brutzellen (Σ Eier, Larven, verdeckelte Brut) in je 4 Völkern der Kontrolle, T1 und T2 von der ersten Populationsschätzung 7 Tage vor Applikation (7DBA) mit den Folgeschätzungen der 2. (7 DAA), 3. (14 DAA), 4. (21 DAA), MW und StdAbw.

Rückstandsanalysen

Vor der Applikation wurden in keiner Probe Clothianidin-Rückstände nachgewiesen, nach der Applikation wurden in der Kontrolle keine Rückstände nachgewiesen. Flugbienen in den Behandlungsgruppen T1 und T2 waren Staubpartikeln in der Luft während der Applikation und

folgend auch Staubpartikeln, die auf Blüten- und Blattoberflächen, auf Nektarien, möglicherweise im Nektar und auf den Antheren und Pollen nach der Applikation ausgesetzt. Da die verwendete Staubfraktion $<160 \mu\text{m}$ Partikel von der Größe von Blütenpollen enthält, können Bienen die Partikel zufällig oder mit Blütenpollen verwechseln und gezielt von Blüten- und Pflanzenoberflächen sammeln.

Die höchsten Rückstände in toten Bienen wurden bis 24 Stunden nach Applikation gemessen, in T1 ähnlich hohe Werte wie in T2. Nach dem ersten Tag blieben die Rückstände auf gleichem Niveau im Vergleich zum Applikationstag während in T2 deutlich geringere Werte messbar waren. An DAA3 wurden aber wieder deutlich höhere Rückstände als am Tag nach Applikation in T1 gefunden. Tendenziell nahmen die Rückstände an Folgetagen nach der Applikation deutlich ab. Interessanterweise waren trotz der höheren täglichen Mortalität in T2 höhere Rückstände im Vergleich zu T1 nur an DAA1, DAA4, DAA5, DAA6, DAA7 im Totenfall nachweisbar (Abb. 24). Vergleichbare Rückstände wurden in T1 und T2 am Tag der Applikation gemessen, maximal $33,0 \mu\text{g/kg}$ in T1 und $30,9 \mu\text{g/kg}$ in T2 eine Stunde nach der Applikation. Im Zeitraum DAA 0 bis DAA7 wurde in allen Proben Clothianidin bei einem Median von $6,5 \mu\text{g/kg}$ in T1 und $9,2 \mu\text{g/kg}$ in T2 detektiert.

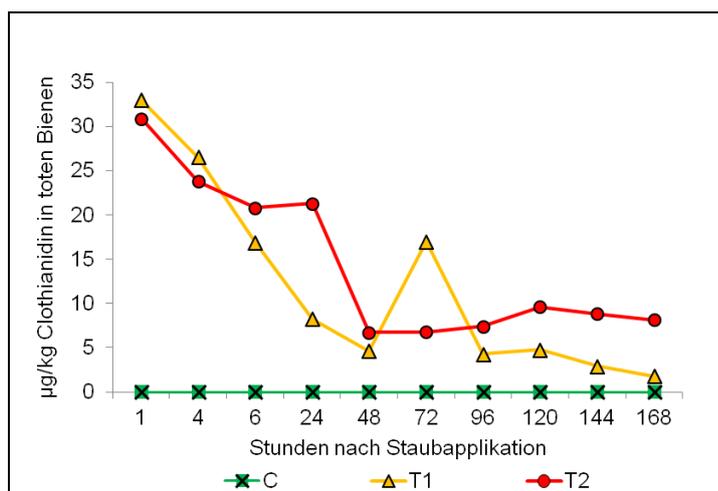


Abb. 24 Rückstände in toten Bienen in Totenfallen nach maschinellen Staubapplikation Freiland. Proben für Analysen von 4 Völkern pro Variante und Tag gepoolt; 1 Probe je Termin und Variante (Kontrolle C, Behandlungen T1 (0,25 g as/ha) und T2 (1,0 g as/ha).

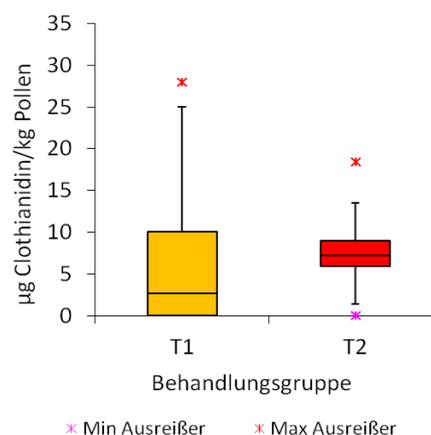


Abb. 25 Box-Whisker Plot. Rückstände in eingelagertem Pollen (Bienenbrot) an Tag+7 nach Staubapplikation T1 (0,25 g as/ha) und T2 (1,0 g as/ha) im Freilandversuch.

In 7 Tage nach Applikation entnommenem in Waben eingelagertem Pollen wurden maximale Rückstände von $27,9 \mu\text{g/kg}$ in T1 bei 62,5% rückstandshaltigen Proben mit Median von $2,6 \mu\text{g/kg}$ im Vergleich zu 87,5% positiven Proben in T2 mit einem Maximum von $18,4 \mu\text{g/kg}$ und Median von $7,2 \mu\text{g/kg}$ nachgewiesen (Abb. 25).

Insgesamt wurde ein dosisabhängig über mehrere Tage deutlich erhöhter Totenfall nach Applikation festgestellt. Im Totenfall beider Varianten waren die höchsten Rückstände bis 24 Stunden nach Ausbringung nachweisbar. Im gesamten Expositionszeitraum bis 7 Tage nach Ausbringung wurden erhöhte Wirkstoffmengen detektiert. Ein Trend zum erhöhten Bienenabgang und reduzierter Bienenanzahl war auch in den Populationsschätzungen erkennbar. In der Nachbeobachtung der Volks- und Brutentwicklung über mehrere Wochen wurden zwar keine signifikanten Unterschiede festgestellt, bis auf einen signifikanten Unterschied der Volksstärke in T2 28 Tage nach Applikation. Im als Bienenbrot eingelagerten Pollen wurden 7 Tage nach Staubausbringung hohe Rückstände in beiden behandelten Varianten nachgewiesen. Die Versuchsmethode mit maschineller Applikation erwies sich für Freilandprüfungen, die höchste Prüfstufe, als praktikabel und gut geeignet um gezielte Wirkstoffmengen auch auf größeren Flächen auszubringen.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit werden erstmalig und umfassend verschiedene Methoden zur Untersuchung der Beizstaabdrift nach der Aussaat von insektizid-gebeiztem Raps und Mais und nach gezielter manueller oder maschiner Ausbringung von Beizstäuben auf bienenattraktive Pflanzen und der Auswirkung der Beizstaabexposition auf Bienen beschrieben. Die Methodik und die Ergebnisse zu den resultierenden Rückständen in Nichtzielflächen, die Auswirkungen insbesondere auf die Mortalität von Honigbienen, Rückständen in Nektar, Pollen, toten Bienen werden im Folgenden diskutiert.

5.1 Bewertung der Prüfverfahren mit feldrealistischer Abdrift und gezielter Applikation wirkstoffhaltigen Beizstaubs in Halbfreiland- und Freilandversuchen

Als Prüfverfahren für die Untersuchung der Auswirkung von Staabexposition auf Bienen wurden zum einen in den Abdriftversuchen Verfahren unter möglichst realitätsnahen Bedingungen mit der Aussaat verschiedener Kulturen durchgeführt und damit neue methodische Ansätze zur Prüfung der Auswirkung einer Staabkontamination entwickelt (Kap. 4.1 bis 4.3). Zum anderen wurden unterschiedliche Versuchsansätze geprüft, die eine gezielte Ausbringung von vorher festgelegten Wirkstoffmengen ermöglichen, um sowohl unter Halbfreiland- als auch unter Freilandbedingungen Effektschwellen definieren zu können (Kap 4.4 bis 4.5).

Methodik der Erfassung von Auswirkungen auf Bienen

Die grundsätzliche Erfassung der Auswirkung auf Bienen erfolgte auf Grundlage langjährig erprobter Verfahren und international gültiger Richtlinien, die auch für Zulassungsprüfungen vorgeschrieben sind (EPPO, 2010). Einige Modifikationen dieser Verfahren waren notwendig, um die spezielle Fragestellung zur Auswirkung von Stäuben untersuchen zu können. Dabei stand die akute Mortalität adulter Bienen im Fokus der Untersuchungen; zusätzlich wurden im Rahmen der Erfassung der Mortalität auch die Auswirkungen auf Bienenlarven und Bienenbrut, die Auswirkungen auf Flugaktivität und über Populationsschätzungen zudem Auswirkungen auf die Bienenvolksstärke und Brutentwicklung näher betrachtet.

Mortalität: In Abwesenheit von Pathogenen oder anderen akut schädigenden Faktoren ist die Grundmortalität von adulten Bienen im Unterboden und vor den Fluglöchern gering (Harbo 1993b). Im Zeitraum März bis Oktober schlüpfen täglich etwa 1000 bis 2000 Bienen pro Tag, ähnlich viele sterben täglich (Harbo, 1993 a,b). Diese sterbenden Bienen zeigen ein altruistisches Verhalten und versuchen, wenn möglich, abzufliegen, und weit entfernt vom Volk zu sterben (Rueppel *et al.*, 2010). Wenn Bienen mit Pflanzenschutzmitteln in Kontakt kommen

oder diese aufnehmen, führt die Störung der Erregungsleitung, der Wirkmechanismus vieler Insektizide, dazu, dass die Bienen nicht mehr flugfähig sind, Krämpfe bekommen und anschließend sterben. Die Zeitdauer von Kontamination bis zu Effekten hängt von wirkstoffspezifischen Eigenschaften, dem Expositionspfad und der Expositionshöhe ab. Da die individuelle Exposition und Resilienz der Bienen variabel ist, lässt sich ableiten, dass im Vergiftungsfall ein Teil der Bienen, insbesondere nach äußerlichem Kontakt, so stark geschädigt werden kann, dass ein Teil der Flugbienen im Feld stirbt (Johanson, 1979; Rueppel *et al.*, 2010). Zudem kann das Orientierungs- und Heimfindevermögen von Bienen gestört werden, wie für die Neonikotinoide nachgewiesen wurde (Schneider *et al.*, 2012; Henry *et al.*, 2012; Fischer *et al.*, 2014). Es ist aber davon auszugehen, dass die Exposition einzelner Bienen sehr unterschiedlich ist und dass es viele Bienen noch bis zum Stock zurückschaffen, um ihr Sammelgut abzuladen und dort sterben (Waller *et al.*, 1979). Dies wird untermauert durch das alljährliche Auftreten von Vergiftungsschäden und deckt sich mit Erkenntnissen aus Zulassungsversuchen (Pistorius, unveröffentlicht). Auch in den vorliegenden Versuchen ist nicht vollständig auszuschließen, dass Sammler im Feld gestorben sind und einige Bienen nicht in Totenfallen erfasst werden konnten. In Halbfreilandversuchen kann dies weitestgehend ausgeschlossen werden. Dieser Umstand kann einen Teil des zwischen Halbfreiland und Freilandversuchen unterschiedlichen Totenfalls erklären.

Einige der direkt kontaminierten Bienen, und die mutmaßlich viel größere Anzahl an Bienen, die nachfolgend auf der behandelten Fläche sammelt, können kontaminierte Partikel einsammeln. Während des Flugs verzehren Bienen allenfalls geringe Mengen an Nektar. Pollen wird jedoch nur gesammelt und anschließend im Volk verzehrt. Aller Wahrscheinlichkeit nach versuchen Sammelbienen ihr Sammelgut im Volk auch dann noch abzugeben, wenn sie schon erste, noch subletale Effekte spüren, wie es in Spritzversuchen in eigenen Beobachtungen festgestellt wurde. Nach relevanter Kontamination von Bienen und deren Nahrungsquellen mit Insektiziden ist bekannt, dass zahlreiche Bienen zunächst heimkehren, um ihre gesammelten Vorräte einzulagern oder an andere Stockbienen weiterzugeben, es ihnen dann aber nicht mehr gelingt, das Volk zu verlassen, um außerhalb zu sterben. Bienen, bei denen nach direktem Kontakt die Schadwirkung erst im Volk eintritt sowie die Bienen, die schädigende Wirkstoffmengen im Volk aufnehmen, sterben im Unterboden oder vor den Fluglöchern, in Versuchen in Totenfallen, die die sterbenden Bienen zurückhalten. So wurde auch in den Versuchen beobachtet, dass die überwiegende Mehrzahl der Bienen mit Vergiftungssymptomen aus dem Flugloch heraus krabbelte, während heimkehrende Flugbienen nur selten Auffälligkeiten zeigten. Durch einen akut schädigenden Faktor, wie der Aufnahme kontaminierter Partikel mit Nektar und Pollen, kommt es bei den relativ schnell wirksamen Neonikotinoiden (Iwasa *et al.*, 2004) zu einem raschen Anstieg der Mortalität. Mit Totenfallen kann eine akute Schädigung von Bienen sensitiv erfasst werden (Gary 1960; Illies *et al.*, 2002; Porrini *et al.*, 2003). Sterbenden Bienen gelingt es in der Regel nicht, die Totenfälle zu überwinden. Auch ein nur

leichter Anstieg des Totenfalls kann anhand der Fallen erkannt und für weitergehende Analysen gesammelt werden. Die Mortalität von Bienen kann unter Versuchsbedingungen somit wesentlich präziser erfasst werden, als dies einem Imker möglich ist.

In den Versuchen mit Aussaat (Kap 4.1, Kap 4.2) und Applikation (Kap 4.4, Kap 4.2) war die Grundmortalität, die über Totenfallen erfasst wurde, vor Aussaat bzw. Applikation relativ gering. Nach Staubexposition konnten in den Versuchen deutliche sowohl subletale und letal geschädigte Bienen sowie hohe Mortalität in Totenfallen sowohl im Halbfreiland als auch im Freiland belegt werden. Die Höhe der erfassten Mortalität zeigt eine hohe Korrelation mit der ausgesäten Beizqualität respektive der im Versuch manuell oder maschinell applizierten Wirkstoffdosierung. In Versuchen mit erhöhter Mortalität wurden immer auch zahlreiche subletal geschädigte Bienen beobachtet, aber in den Totenfallen belassen und erst später als tote Bienen gesammelt und gezählt. Allerdings zeigt der Versuch mit Maisaussaat 2011, dass stark geschädigte Völker nicht mehr alle toten Bienen aus dem Unterboden in die Falle abtransportieren können. Daher sollte bei hohem Totenfall künftig in der Versuchsroutine auch immer der Unterboden zusätzlich kontrolliert werden, um den Totenfall möglichst präzise zu quantifizieren, selbst wenn es unwahrscheinlich ist, dass die höhere Präzision in diesem Fall zu einer grundsätzlich unterschiedlichen Einschätzung und Bewertung führen würde.

Flugaktivität: Die Erfassung der Flugaktivität in den Flugarealen im blühenden Bestand soll belegen, dass eine Exposition von Bienen bei Sammelaktivität auf Blüten stattfindet. Es kann auch erkannt werden, ob, wie bei anderen Insektiziden nachgewiesen (Thompson, 2003), die Flugaktivität durch das Pflanzenschutzmittel reduziert wird und ob subletale Effekte wie Störungen und Verringerung der Sammelaktivität oder andere Verhaltensauffälligkeiten erkennbar sind. In den Versuchen mit Staubexposition über Abdrift und auch in Versuchen mit gezielter Staubaubringung wurden keine ausgeprägte Repellent-Wirkung, Einschränkung der Flugaktivität oder Verhaltensauffälligkeiten auf Blüten festgestellt. Die Bienen erkannten wirkstoffhaltige Partikel nicht und sammelten weiter intensiv auf der Fläche, selbst wenn hohe Mortalität am Volk auftrat. Damit unterscheidet sich die Reaktion von Bienen auf die Staubexposition deutlich von Zeltversuchen mit Spritzapplikationen mit der für Zulassungsprüfungen eingesetzten toxischen Referenzsubstanz, Dimethoat. Für diese ist bekannt, dass Bienen den Beflug der Fläche nach einigen Stunden, in denen bereits sehr stark erhöhte Mortalität ausgelöst wird, nahezu vollständig einstellen (Waller *et al.*, 1979).

Populationsschätzungen: Aus den Daten der Populationsentwicklung lässt sich die Sterberate und der Bienenumsatz über größere Zeiträume berechnen (Bühlmann, 1985; Liebig, 2002). Für die Erfassung des Brutzustandes ist kein Einfluss durch Witterung und Tageszeit auf die Schätzung gegeben. Bei der Schätzung adulter Bienen ist es fast unvermeidbar, dass sich Änderungen der Flugaktivität der Völker im Zeitraum der Schätzungen ergeben, was dazu führt, dass die Anzahl der Flugbienen, die auf Sammelflug ist, variiert und über die Schätzung nicht

präzise erfasst werden kann. Es ist bekannt, dass Bienenvölker in Halbfreilandversuchen auch in Kontrollvarianten die Brutaktivität häufig verringern oder einstellen, was die Interpretierbarkeit der Daten oft stark einschränkt (Pistorius *et al.*, 2012). In den vorliegenden Versuchen zeigten die Völker in Versuchszelten Anzeichen einer Reduktion an Eiern und Larven und mit zeitlicher Verzögerung auch der verdeckelten Brut, jedoch wurde die Bruttätigkeit in keinem Versuch eingestellt. Für künftige spezifischere Untersuchung der Entwicklung einzelner Bienen von Ei bis zum Schlupf wird die Methode fotografischer Erfassung und digitaler Brutauswertung (Jeker *et al.*, 2012) unter Berücksichtigung des Larvengewichts (EFSA, 2012) empfohlen, um diese Frage möglicher Beeinträchtigungen der Entwicklung einzelner Larven abschließend beantworten zu können. In den Versuchen wurde nach erhöhter Mortalität immer auch eine kurzzeitig verringerte Anzahl adulter Bienen im Volk festgestellt, bei längerer Beobachtungszeit wurden jedoch keine deutlichen negativen Auswirkungen auf die Volksstärke erkannt, auch nicht in Versuchen mit signifikant erhöhter akuter Mortalität. Dies kann zum Teil auf die geringere Erfassungsschärfe von Populationsschätzungen, aber auch den hohen Bienenumsatz und die Kompensationsfähigkeit des Bienenvolks zurückzuführen sein. Daher kann die Mortalität als sensitivster Parameter für die Beurteilung der Auswirkung auf Bienen von akut toxisch wirkenden Insektiziden mit schneller Wirkung angesehen werden.

Methodik der Abdriftversuche mit realistischer Aussaat von gebeizten Kulturen

In bisher zur Staubexposition beziehungsweise zur Deposition von Rückständen veröffentlichten Versuchen (Apenet, 2009; 2012; 2011, Krupke *et al.*, 2012) wurde die Beizqualität bislang nicht auf den Wirkstoffgehalt der Stäube untersucht, so dass kein direkter Vergleich mit anderen Literaturdaten möglich ist. Für die Betrachtung der potentiellen Wirkstoffexposition durch Staubabrieb und Abdrift ist jedoch auch die Wirkstoffmenge im Staubanteil eine wichtige Größe, die für die Angabe der Beizqualität entscheidend ist, da sich durch verschiedene Beizrezepturen und Beizprozesse auch der Wirkstoffgehalt in Stäuben verändern kann.

Die Versuchsergebnisse – sehr starke Effekte auf Bienen nach Maisaussaat 2010 und 2011 sowie keine nachweisbare Effekten nach Rapsaussaat im Frühjahr und Herbst 2014 – zeigen, dass das gewählte Versuchsdesign der Abdriftversuche grundsätzlich sehr gut geeignet ist, um die Auswirkungen von Staubabdrift auf Bienen zu erfassen. Im Freiland war eine echte Kontrolle durch den gewählten Versuchsaufbau nicht gegeben, da die Bienen auch auf der behandelten Fläche sammeln konnten und ebenso Bienen der Variante Treatment auf Kontrollflächen. Es ist zwar anzunehmen, dass mehr Bienen der Kontrollvölker auch auf der Kontrollseite gesammelt haben. Belegt werden kann dies allerdings nicht, da eine Quantifizierung der Anzahl an Sammlern, die die jeweiligen Varianten befliegen und die Zuordnung zu den jeweiligen Völkern und Behandlungsgruppen eine speziellere aufwendigere Untersuchungsmetho-

dik erfordert hätte. Dass dennoch eine unterschiedliche Exposition hergestellt wurde (Kap 4.1.1; Kap. 4.2.1), wird durch die Rückstände in Petrischalen und im Bestand (Kap 4.1.1; Kap 4.1.2) ebenso wie durch die deutlich erhöhte Mortalität (Kap 4.1.2; Kap 4.2.2) in Treatment im Vergleich zur Kontrolle belegt. Für Bienen der Kontrolle war auch die direkte Exposition in der Staubwolke beim Drillvorgang geringer. Die Mortalität in der Kontrolle war zudem leicht erhöht gegenüber der Variante Remote in mehr als 500 m Entfernung, bei der keine direkte Exposition durch Staub in der Luft oder durch Verwehung auf die Völker auftrat. Allenfalls konnten auch einzelne Bienen der Remotevölker auf der Versuchsfläche sammeln. Dass dies in geringem Umfang so stattgefunden hat, zeigt sich anhand der meist geringen aber nachweisbaren Rückstände in einigen Proben der Freilandvarianten Remote und Kontrolle.

Grundsätzlich sehen die Richtlinien zur Prüfung der Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Bienen (EPPO; 2010; EFSA 2013d) vor, dass die Versuchsflächen von anderen für Bienen attraktiven Pflanzen isoliert liegen, damit die Sammelaktivität vorwiegend auf der Versuchsfläche stattfindet. In den hier vorgestellten Abdriftversuchen konnten diese Anforderungen an Trachtfreiheit der Umgebung, mindestens 2 km nach EPPO (EPPO, 2010) bzw. mindestens 4 km nach EFSA (EFSA, 2013d) auf den vorhandenen Versuchsflächen nicht realisiert werden. Somit entsprechen die hier vorgestellten Freiland-Abdriftversuche zur Maisausaat im Frühjahr nicht vollständig den gültigen Richtlinien, was zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Auswirkungen führen kann. Trotzdem konnte die Tendenz stärkerer Auswirkungen auf die Mortalität der Treatment-Versuchsvarianten wiederholt belegt werden. Aus den Daten der Flugaktivität ist abzuleiten, dass die Ablenkung der Bienen im Freiland auf andere Flächen im Frühjahr deutlich größer war als im Herbst.

Durch die Versuchsanlage der Halbfreilandversuche wird im Vergleich zum Freiland ein *Worst-Case*-Szenario für Kontaktexposition auf den Blüten und kontaminiertem Sammelgut hergestellt (EFSA, 2012). Jedoch waren die Bienen im Halbfreiland nicht der Exposition in der Luft beim Durchfliegen der Staubwolke ausgesetzt. Gleichzeitig waren die Sammelmöglichkeit der Bienen in den Zelten auf die am höchsten mit Stäuben kontaminierten feldrandnahen Bereiche bis in 6 m Entfernung zum Feldrand beschränkt. Durch die limitierte Zeltfläche war die Sammelaktivität pro Flächeneinheit sehr hoch. Gleichzeitig schützt die halbdurchlässige Abdeckungsgaze der Zelttunnel die Bienen vor flugeinschränkenden Einflussfaktoren wie hoher Windgeschwindigkeit sowie leichtem Regen und sorgt für eine sich auf die Flugaktivität oftmals positiv auswirkende leichte Temperaturerhöhung. In In Zelten war jedoch eine geringe Einstäubung der Kontrolle nicht mit Sicherheit auszuschließen; diese Annahme wurde durch einige wenige positive Rückstandsproben bestätigt (Kap 4.1.3; 4.2.3). Allerdings blieb die Kontrollmortalität, auch in Versuchen mit positivem Nachweis, auf dem Vorapplikationsniveau. Es waren keine Effekte erkennbar (Kap 4.1.2; 4.2.2). Auch in einigen Freilandproben

waren in der Kontrolle Rückstände nachweisbar, da die freifliegenden Bienen auch auf der behandelten Fläche sammeln konnten.

Die größte Sicherheit für die Feststellung von potentiellen Effekten kann über die Methodik der Halbfreilandversuche erzielt werden. Da Abdriftversuche mit Aussaat das realitätsnahe Szenario abbilden, und auch Einflüsse wie Änderungen der Staubpartikelgröße und -form durch den Durchlauf der Sämaschine realistisch erfasst werden, ist der Versuchsansatz als höchste Prüfstufe sowohl für Halbfreiland- als auch Freilandversuche geeignet und stellt ein neuartiges Prüfverfahren dar.

Methodik der gezielten Applikation wirkstoffhaltiger Stäube im Halbfreiland

Während in den Versuchen mit Maisaussaat alle Partikelgrößen und -formen in benachbarten Nichtzielflächen und Petrischalen deponiert und als Rückstand erfasst wurden, wurde in Versuchen mit manueller Applikation nur die Partikelgröße $<160 \mu\text{m}$ an wirkstoffhaltigen Stäuben ausgebracht, da vorherige Versuche (Georgiadis *et al.*, 2012c) zeigten, dass bei gleichen Aufwandmengen von 2,0 g as/ha nur bei dieser, jedoch nicht bei größeren Staubfraktionen Auswirkungen auf Mortalität feststellbar waren. Zudem weisen kleinere Wirkstofffraktionen tendenziell höhere Rückstandsgehalte auf (Heimbach pers. com., Pistorius, 2009). In den vorliegenden Versuchen wurde mehrfach belegt, dass der von Bienen gesammelte Pollen nach Abdrift, aber auch nach gezielter Applikation hoch kontaminiert war. Dies deutet darauf hin, dass manuell oder maschinell ausgebrachte Beizstaubpartikel der Partikelgröße $< 160 \mu\text{m}$ aktiv oder passiv gesammelt werden, ähnlich wie in Abdriftversuchen. Dies bestätigt die Eignung der gewählten Größenfraktion der wirkstoffhaltigen Stäube für Versuche mit gezielter Ausbringung von Partikeln.

Erstmalig publizierten Sgolastra *et al.* (2012) Versuche mit gezielter Applikation von wirkstoffhaltigen Beizstäuben einer Größe $<45 \mu\text{m}$ und einem mechanischem Pulverisator. Als Streckmittel für die Beizstäube wurde Talkum verwendet. In den Versuchen in Kap 4.4 und 4.5 konnte gezeigt werden, dass sich auch die Methode der manuellen Applikation mit Erdstäuben als Streckmittel eignet. Da bislang keine offiziellen Vorgaben existieren, ist unklar, welche Staubfraktion für Applikationsversuche idealerweise eingesetzt werden sollte. Bei den gewählten Wirkstoffmengen zeigten Partikel $< 160 \mu\text{m}$ als auch $<45 \mu\text{m}$ Effekte, für einen direkten Vergleich liegen jedoch keine ausreichenden Daten vor. Für die Verwendung feinerer Fraktionen spricht, dass diese möglicherweise stärkere Effekte bei gleicher Aufwandmenge bewirken können. Andererseits ist es nicht zwangsläufig Ziel der Applikationsversuche, größtmögliche Effekte zu generieren. Ziel der Versuche sollte vielmehr sein, die auf die landwirtschaftliche Praxis bestmögliche Übertragbarkeit der Erkenntnisse herzustellen. Für

eine realistische Abbildung der in der Praxis auftretenden Kontamination wäre zu untersuchen, welche Partikelverteilung nach Aussaat verschiedener Kulturen vorliegt.

Da es bisher keine Vorgaben für Applikationsraten der besonders bienentoxischen Neonikotinoide gibt, die ein realistisches *Worst-Case*-Szenario abbilden, wurden Wirkstoffmengen pro Hektar gewählt, die die am höchsten kontaminierten Feldrandbereiche nach Maisaussaat reflektieren können. Für die gezielte Applikation wurden die Wirkstoffmengen auf Basis der Petrischalendaten und Erkenntnisse zur Filterkapazität benachbarter Bestände (Kap 4.1.1 und 4.2.1) gewählt und feine Staubfraktionen <160 µm eingesetzt. Gegenüber den vorher in Petrischalen gemessenen Werten wurde die 10fache Wirkstoffmenge appliziert (0,25 g as bzw. 1 g as). Dies entspricht in etwa der Menge, die im Pflanzenbestand bei den Abdriftversuchen nachgewiesen wurde (Kap.4.1.1). Sgolastra *et al.* (2012) wählten in Ihren Versuchen die Applikationsrate auf Basis der Petrischalen-Messwerte in 5 m Abstand zur Saatfläche, 0,0512 g as/ha. Die Daten der vorliegenden Arbeit belegen, dass die feldrandnahen Bereiche am stärksten kontaminiert waren, der in 5 m gemessene Wert aufgrund der Entfernung zur Aussaatfläche und die fehlende Berücksichtigung der Filterkapazität zu einer Unterschätzung des *Worst-Case*-Szenarios führen kann; was in den Versuchen sowohl von Sgolastra *et al.* (2012) und Georgiadis *et al.* (2012c & 2014) andererseits möglicherweise durch die Wahl noch kleinerer Staubfraktionen kompensiert wurde.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Methodik mit manueller Applikation in Halbfreilandbedingungen kann somit als zweite Stufe in einem dreistufigen Prüfprozess dienen, in dem in kontrollierten *Worst-Case*-Halbfreilandbedingungen die Auswirkungen wirkstoffhaltiger Partikel auf Bienen bei gleichzeitigem Ausschluss von Auswirkungen auf andere Organismen, wie Bienenvölker der näheren Umgebung, geprüft werden können.

Methodik der gezielten Applikation wirkstoffhaltiger Stäube im Freiland

Für die dritte Stufe im Prüfprozess, Freilandversuche, kann neben Abdriftversuchen auch eine maschinelle Ausbringung definierter Wirkstoffmengen als geeignete Versuchsmethode angesehen werden. Bislang gab es jedoch keine technische Möglichkeit zur Applikation definierter Staubmengen im Freiland (Sgolastra *et al.*, 2012). Hierzu wurde erstmalig von Pistorius *et al.*, (2015) eine praxistaugliche Methode publiziert (Kap. 3.2.2).

Der grundlegende Versuchsaufbau entsprach den Anforderungen des EPPO Standards und auch den Vorgaben der EFSA (EFSA, 2013d), da die Kontrollfläche mindestens 6 km von beiden Behandlungsvarianten T1 und T2 entfernt lag. Bei dieser Entfernung ist es unwahrscheinlich, dass eine relevante Anzahl der Bienen auf der jeweils anderen Versuchsfläche sammelt (Winston *et al.*, 1987, EFSA, 2012, Couvillon *et al.*, 2015).

Dass keine nennenswerte Anzahl Bienen der Kontrolle in den Behandlungsvarianten gesammelt hat, belegen zum einen die Rückstandsmessungen, zum anderen die Betrachtung der Mortalität. Es wurden keine Rückstände von Clothianidin in der Kontrolle nach Applikation festgestellt, auch war die Mortalität in der Kontrolle nach Applikation der Behandlungsvarianten T1 und T2 nicht erhöht. Während und nach der Applikation wurde eine hohe Sammelaktivität beobachtet, was als Indiz für ein gutes Nektar- und Pollenangebot dient. Das direkte Einstäuben einer hohen Anzahl sammelnder Bienen während der Applikation stellte ein *Worst-Case-Szenario* der Kontaktexposition sicher.

Der Staubapplikator hat sich als geeignete Methode zur Applikation geringer Staubmengen auf größerer Flächen erwiesen; die Abweichung vom Zielwert war mit <10% gering. Wegen einer notwendigen Mindestmenge an Stäuben für die einwandfreie Funktion ist allerdings in der Regel ein Streckmittel wie der in den Versuchen eingesetzte Erdstaub notwendig. Die relativ hohen Dosierungen, die die hohe Kontamination von Feldrandbereichen nach Aussaat simulieren, wurden im Freilandversuch auf der gesamten Fläche gleichmäßig ausgebracht. In künftigen Versuchen könnten mit einer Modifizierung der Applikationsmenge noch realistischere Szenarien geprüft werden, wenn unterschiedliche Staubmengen in verschiedenen Feldbereichen der blühenden Kultur ausgebracht werden. Weitere Versuche sind künftig notwendig, um Effektschwellen für die untersuchten Neonikotinoide zunächst unter Halbfreilandbedingungen zu erarbeiten und unter Freilandbedingungen zu überprüfen.

5.2 Rückstände in Nichtzielflächen nach Mais- und Rapsaussaat

Die Kenntnis der Qualität von Saatgutbeizungen und der nach Aussaat auftretenden Rückstände in Nichtzielflächen stellt eine wesentliche Voraussetzung dar, um Expositionsszenarien abschätzen und die Risiken einer akuten Gefährdung von Nicht-Ziel-Organismen wie z.B. Honigbienen beurteilen zu können.

Bislang sind keine Studien bekannt, die einen direkten Zusammenhang zwischen Heubach-Werten und Rückständen in Nichtzielflächen untersuchen (Nuyttens *et al.*, 2013). Die Rückstandswerte in Petrischalen in den eigenen Versuchen auf den der Aussaatfläche benachbarten nicht bewachsenen Bodenflächen (Kap. 4.1.1 und 4.2.1) wurden hauptsächlich durch unterschiedlichen HBAS der Saatgutchargen beeinflusst, wie die hohen Korrelationen zwischen Heubach- und Petrischalen-Werten belegen (Kap 4.3). Dabei resultierten aus einem hohen HBG der Saatgut-Chargen mit einem hohen Gehalt an Wirkstoff auch höhere Rückstandswerte im benachbarten Bestand. Chargen mit höherem Wirkstoffgehalt und HBG ergaben ähnliche Rückstände wie Saatgutchargen mit entsprechend niedrigerem Wirkstoffgehalt und HBG; Chargen mit niedrigem HBG und geringen Wirkstoffgehalten resultierten erwartungsgemäß in einer geringere Rückstände in benachbarten Nichtzielflächen. Als Instrument zur detaillierten

und korrekten Ermittlung der Beizqualität hat sich somit der HBAS als die am besten geeignete Kenngröße zur Vorhersage von Rückständen in Nichtzielflächen bestätigt.

Die Rückstände von insektizid-haltigem Staub wenige Zentimeter neben der Drillfläche übertrafen die Werte, die in einem Meter Entfernung gemessen wurden deutlich. Im Mittel von 7 Versuchen waren Rückstände knapp doppelt so hoch wie in 1 m Entfernung. Damit ist die Exposition der unmittelbar an die Aussaatfläche angrenzenden Bereiche am höchsten. Der Nachbarbestand filtert im Feldrandbereich deutlich mehr Stäube aus, als in Petrischalen gemessen werden, die in benachbarten Flächen ohne Bestand aufgestellt wurden (Kap 4.1.1; 4.2.1; 4.3).

Greatti *et al.* (2003) stellten erstmalig fest, dass Rückstände von Wirkstoffen aus der Saatgutbeizung in benachbarten Bereichen auftreten können und wiesen Rückstände bis 21 µg as/kg in Gras- und 32 µg as/kg Blütenproben nach einer feldrealistischen Aussaat von Imidacloprid gebeiztem Mais nach. Ein direkter Bezug von den nachgewiesenen Rückständen auf die Menge an verdrifteten Stäuben war jedoch nicht möglich, da keine Angaben zur eingesetzten Beizqualität gemacht wurden. Die gemessenen Rückstände entsprechen ungefähr den eigenen durchgeführten Messungen in Blüten des benachbarten Rapsbestandes nach Maisaussaat 2010 und 2011 in 1-3 m Entfernung (Kap 4.1.1; 4.3). Auch Krupke *et al.* 2012 wiesen Rückstände in Löwenzahnblüten in direkter Nachbarschaft zum Maisfeld mit bis zu 9,4 µg/kg Clothianidin nach.

Im Apenet-Projekt (2009-2011) wurden in Petrischalen Rückstände bis 51,2 mg as/ha in 5 m Abstand zur gesäten Fläche und eine Abnahme der Deposition in weiteren Abständen nach Maisaussaat festgestellt. Die im Apenet detektierten Werte liegen im unteren Bereich der Rückstände, die in eigenen Versuchen mit Maisaussaat 2010 und 2011 in Petrischalen gemessen wurden und bestätigen somit grundsätzlich die vorliegenden Untersuchungserkenntnisse. Allerdings wurde auch in diesen Versuchen nur die Exposition in Nichtzielflächen, nicht jedoch die Saatgutabriebqualität und Wirkstoffgehalte in Abriebstäuben ermittelt, so dass eine weitergehende Interpretation des Zusammenhangs zwischen der Beizqualität und den Rückständen sowie ein Vergleich mit den eigenen Versuchen nicht möglich ist. Tapparo *et al.* (2012) wiesen in Abdriftversuchen mit Mais 2008-2010 eine absolute, an der Abluft von Sämaschinen gemessene Emission von 0,43 bis 1,53 g as/ha und somit eine Freisetzung von 0,52 - 1,84% der am Saatgutkorn angebrachten Wirkstoffmenge nach. In eigenen Versuchen wurde nach Maisaussaat eine Deposition von 0,8 bis 2,31 % im Bestand direkt am Feldrand und in Rapsversuchen 0,025 % bis 0,25 % nachgewiesen. Auch wenn der Ansatz der Emissions- nicht direkt mit Depositionsversuchen vergleichbar ist und keine HBAS-Werte verfügbar, lagen die Messwerte in ähnlicher Größenordnung für die Emission und die Deposition.

Die Driftkurven zeigten, entsprechend der physikalischen Gesetze zur Sinkgeschwindigkeit von Partikeln unterschiedlicher Größe, den zu erwartenden Verlauf (Kap 4.1.1; 4.2.1; 4.3).

Die Driftkurven von Stäuben fallen mit zunehmender Entfernung von der Aussaatfläche nur langsamer ab im Vergleich zu Spritzmittelabdriftdaten (Rautmann, pers.com.). Erklärt werden kann dies mit den Eigenschaften der emittierten Partikel: größere Beizstaubpartikel sedimentieren schneller, weshalb im Nahbereich des Saatfeldes höhere Werte gemessen werden. Auch die Partikelform kann die Abdrift und Verlagerung beeinflussen. Mit zunehmender Entfernung von der Nulllinie werden die sedimentierenden Partikel kleiner und somit die nachgewiesenen Abdriftmengen je Flächeneinheit geringer. Ein Teil der sehr kleinen Partikel (Feinstaub $< 10 \mu\text{m}$) sedimentiert jedoch nicht und verbleibt lange in der Luft. Der Anteil sedimentierender Partikel ist für Spritztropfen höher als für Staubpartikel (Ganzelmeier, 1978). In Untersuchungen zum weiteren Verbleib von Abdriftstäuben stellten Bahmer *et al.* (2014) fest, dass nur ein Teil der in den Nahbereich der Aussaatfläche hinein schwebenden Beizstäube auch dort sedimentiert. Ein wesentlicher Anteil der bei 1 m gemessenen Luftdrift bleibt demnach länger in der Luft. Bei weiteren Messungen zur Luftdrift zeigte sich, dass die Wirkstoffmenge in der Luft am Feldrand auch bis zu einer Entfernung von 30 m zur Aussaatfläche in ähnlicher Konzentration nachweisbar ist (Bahmer *et al.*, 2014).

Die Art und Struktur der benachbarten Fläche beeinflussen die Verwehung und Ablagerung der Stäube. Pflanzenbestände haben eine Filterwirkung. Im blühenden, an die Aussaatfläche angrenzenden Pflanzenbestand werden deutlich höhere Wirkstoffmengen nachgewiesen. Bei den morphologisch relativ ähnlichen Raps- und Senfbeständen wurden Filterfaktoren von 2,95 und 1,7 gegenüber Petrischalen gemessen (Kap 4.1.1; Kap 4.2.1). Mögliche Einflussfaktoren der Filterwirkung sind die Bestandsdichte, Oberflächenbeschaffenheit und Behaarung der Pflanzen. Hecken und Obstbäume, die häufig im Zeitraum der Maisaussaat blühen, bewirken wahrscheinlich eine noch höhere Filterwirkung, so dass noch höhere Rückstände die Folge sein können (Lazzaro *et al.*, 2012). Dies bestätigt auch die Erkenntnisse von Longeley *et al.* (1997), die aus ihren Versuchen folgerten, dass die Struktur und Komplexität der Pflanzen im Feldrandbereich die Quantität und Depositionsmuster der Abdrift beeinflussen und somit auch das Ausmaß der Auswirkungen auf Nichtzielorganismen.

Somit untermauern die in der hier vorliegenden Arbeit durchgeführten Rückstandsmessungen der Deposition auf Nichtzielflächen, dass die Feldränder die am stärksten kontaminierten Bereiche sind; wenn einzelne Bienen dort sammeln, können diese mit schädigenden Wirkstoffmengen konfrontiert werden. In einigen Metern Entfernung zur Saatfläche sind Rückstände bereits deutlich geringer und möglicherweise nur noch in unkritischer Menge vorhanden. Andererseits ist eine Exposition von Bienen noch über deutlich weitere Entfernungen möglich, als bei Spritzungen. Beizstaubabdrift zeigt ein anders Abdriftverhalten als Spritzmittelabdrift und ist kritischer einzustufen. Der vergleichsweise breite wissenschaftliche Kenntnisstand zu Abdriftwerten und die zu Nichtzielflächen einzuhaltenen Abstände, die für Spritzmittel gelten, können nicht direkt auf Staubabdrift übertragen werden.

5.3 Exposition von Bienen über Kontakt und Rückstände in Nektar und Pollen

Bienen können durch einzelne oder kombinierte Expositionspfade mit Wirkstoffen in Kontakt kommen. Für Beizmittelabdrift werden das Durchfliegen der Staubwolke während der Aussaat, die Aufnahme von kontaminiertem Nektar und Pollen und der Kontakt mit Stäuben während der Sammeltätigkeit als die bedeutendsten Expositionspfade für Bienen angesehen (Pistorius *et al.* 2009, Marzaro 2011, Girolami 2012, EFSA 2012, Wisk & Pistorius *et al.*, 2014, 2014). Bislang sind wenige Erkenntnisse veröffentlicht, die eine weitergehende Differenzierung der Exposition, Bedeutung der verschiedenen Expositionspfade und der daraus resultierenden Effekte darstellen. Durch die hier diskutierten Versuche mit Maisaussaat (Kap 4.1) und Rapsaussaat (Kap 4.2) sowie den Daten zu Rückständen in Nektar, Pollen und Bienenbrot kann die Bedeutung der verschiedenen Expositionspfade und deren Anteil an der Schadwirkung auf Bienen differenzierter diskutiert werden.

Die Erkenntnisse von Girolami *et al.* (2012) Marzaro *et al.* (2012) und Bahmer *et al.*, 2014 belegen, dass eine Exposition von Bienen in der Nähe des Sävorgangs durch staubbelastete Luft auftritt. Bienen können Staubpartikel inhalieren. Allerdings besitzen Bienen einen effizienten Filtermechanismus, welcher Partikel größer als 4 μm aus dem eingängigen Luftstrom filtert. Connell and Jones (1953) exponierten Bienen Kohle- und Kupfercyanid-Staubwolken und stellten fest, dass Stäube kleiner 25 μm theoretisch in alle Stigmata (Atemöffnungen) bis auf das zweiten Brust-Stigma eindringen können und dass die Größe der eindringenden Partikel auch durch die Größe der elliptischen Stigmata begrenzt wird. Im trachealen System (das weiterverzweigte Luftröhrensystem) hinter den Stigma-Öffnungen waren keine Partikel zu finden bis auf die Trachee des ersten Bruststigmas, das Kohlepartikel kleiner als 5 μm enthielt. Daher hat das Eindringen von Staub in das Atemsystem wahrscheinlich keinen großen Anteil an der Schadwirkung von Stäuben auf Bienen.

Bienen können Staubpartikel auch über das Haarkleid passiv einsammeln, das Einsammeln von Partikeln wird zudem durch die elektrische Aufladung während des Fluges verstärkt (Prier *et al.*, 2001). In Versuchen nach Maisaussaat zeigten Girolami *et al.* (2012) und Marzaro *et al.* (2012), dass Bienen beim Durchfliegen der beizmittelabrieb- und erdstaubbelasteten Luft Rückstände im Haarkleid sammeln. Bei am Flugloch lebend abgefangenen und im Labor nachbeobachteten Bienen trat bei einer Luftfeuchtigkeit von < 70% keine deutliche Mortalität auf. Bei erhöhter Luftfeuchtigkeit über 95% trat eine stark erhöhte Mortalität auf, die Partikel veränderten und verflüssigten sich. Die Autoren schlussfolgerten daher, dass die Mortalität ausschließlich über den Kontakt beim Durchfliegen der Staubwolke entsteht. Gegen diese These spricht, dass im Brutnest nur eine Luftfeuchtigkeit von 40-60% herrscht (Büdel, 1948; Human *et al.*, 2006; Ellis, 2008), so dass es unwahrscheinlich ist, dass dieses Szenario einen relevanten Beitrag an der Schadwirkung hat.

Bienen können Staubpartikel auch aktiv einsammeln und mit Pollen verwechseln, da Beizstaubpartikel ähnlich groß wie Blütenpollen sind, wie die Rückstandsmessungen in Pollenhörschen von Flugbienen bestätigen. Zudem bestätigen die Rückstandsanalysen, dass die passiv gesammelten und während der Sammeltätigkeit oder nach Heimkehr aus dem Haarkleid ausgebürsteten Partikel mit aktiv gesammelten Pollen für späteren Verzehr in den Waben eingelagert werden.

Der Hypothese von Girolami *et al.*, 2011, der direkte Einstäubung während der Aussaat als ursächlich für Bienenvergiftungen einschätzt und anzweifelt, dass Bienen durch Kontakt und Sammeln von Nektar und Pollen auf kontaminierten Pflanzen und Blüten sowie orale Aufnahme mit tödlichen Dosen in Kontakt kommen können, widersprechen mehrere Erkenntnisse in der vorliegenden Arbeit. Auch bei weitgehendem Ausschluss des Expositionspfads kommt es hauptsächlich durch Sammelaktivität auf kontaminierten Blüten und Sammeln von Nektar und Pollen zu einer relevanten Exposition mit starkem Anstieg der Mortalität, wie in Applikationsversuchen gezeigt wurde. Auch bei Applikation ohne Bienenflug in der Kultur führt das Sammeln auf kontaminierten Flächen zu starker Mortalität. Dies wurde zuvor auch schon in den Abdriftversuchen bestätigt, hier lag die Mortalität bei Zeltvölkern, die während der Aussaat verschlossen blieben um ein Vielfaches höher als bei Freilandvölkern, die beim Ein- und Ausflug der staubkontaminierten Luft während der Aussaat ausgesetzt waren. Während die direkte Einstäubung auch Mortalität bewirken kann, zeigen die Ergebnisse der Abdrift- im Vergleich zu Applikationsversuchen auch, dass Einstäubung der geringere Schadfaktor im Vergleich zum aktiven und passiven Beizpartikelkontakt auf Blüten und bei Sammeln und Verzehr von Partikel-kontaminiertem Pollen ist. Dass auch der Belauf von Blüten und Blättern einen Beitrag an der Mortalität haben kann, wird durch die Beobachtung von Giffard und Dupont (2009) gestützt, die Blätter der Prinzessinnenblume *Tibouchina* im Feld während einer Sonnenblumen-Aussaat mit nicht näher spezifizierter insektizider Beizung auslegten, anschließend Bienen auf die Blätter setzten und bei einer der Varianten erhöhte Mortalität durch den Belauf der Blätter feststellten. So kann letztendlich nicht abschließend beantwortet werden, wie genau die Staubpartikel eingesammelt werden, die Bedeutung der direkten Einstäubung beim Durchfliegen der Staubwolke aber relativiert werden.

Weiterhin lässt sich ableiten, dass die über mehrere Tage erhöhte Mortalität sich nicht allein auf eine respiratorische Aufnahme zurückführen lässt und dass andere Expositionspfade wesentlich bedeutsamer sind. Krupke *et al.* 2012 schlussfolgerten, dass die wichtigsten Expositionspfade Kontakt bei direkter Einstäubung und die orale Exposition über kontaminierten Nektar und Pollen sind. Neben der Exposition über Kontakt belegen die eigenen Daten eine Rückstandsbelastung im Pollen, die deutlich über den über systemische Wirkstoffverlagerung in Nektar und Pollen auftretenden Konzentrationen liegt (EFSA, 2012; Cutler *et al.*, 2013;

Krupke *et al.*, 2012). Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Versuche hat die Belastung im Nektar ebenfalls nur geringe Bedeutung.

Rückstände in Nektar, Pollen und Bienenbrot

In Versuchen wurden nur relativ geringe oder keine Kontaminationen im Nektar nachgewiesen, dahingegen sehr hohe Rückstände in Einzelproben in Pollen. Auch für Spritzungen auf blühende Kulturen zeigt sich meist eine höhere Kontamination des Pollens im Vergleich zu Nektar (EFSA, 2012). Die Unterschiede der Kontamination von Nektar und Pollen sind aber bei Staubpartikeln um ein Vielfaches höher als bei einer Spritzung. Die sehr große Schwankungsbreite der Rückstände in Einzelproben der Versuche kann als Hinweis auf die Kontamination mit einzelnen Partikeln gewertet werden, die in die Pollenpakete gelangen. Folglich haben die Konzentration der Wirkstoffe in Staubpartikeln, die Menge an verwehten Staubpartikeln sowie auch das individuelle Verhalten von einzelnen Bienen einen Einfluss auf die Rückstandsbelastungen im Pollen.

Nach Applikation im Freiland wurden die Auswirkungen auf die akute Mortalität für 7 Tage untersucht. Die an Tag 7 entnommenen von in Waben eingelagerten Pollenproben bzw. Bienenbrot wiesen noch hohe Rückstände auf (Kap 4.4.3). In T1 waren mit Median von 2,6 µg/kg bis maximal 28 µg/kg, in T2 mit Median von 7,2 bis maximal 19 µg/kg Clothianidin nachweisbar. Diese eigenen Versuchsergebnisse liegen in vergleichbarer Höhe wie Rückstandsergebnisse von Pollen- und Bienenproben aus den bisher zur Staubabdrift veröffentlichten Versuchen und den bestätigten Bienenvergiftungsfällen. So wurden auch in diesen Studien zu Auswirkungen von Thiamethoxam-haltigen Stäuben Proben 7 Tage nach Applikation genommen und nach Ausbringung von 1 g Werte zwischen <1 µg bis 1 µg/kg gemessen, 27 Tagen nach Applikation jedoch zwischen 14 und 15 µg/kg. In der zweiten Variante, mit 5 g as Thiamethoxam, wurden nach 7 Tagen 1 bis 16 µg, nach 27 Tagen 12 bis 28 µg/kg nachgewiesen (EFSA, 2013c). In 117 Analysen von Bienenbrotproben 2008 durch Maisausaat geschädigter Völker (Trenkle *et al.*, 2008; MLR, 2008) wurden keine Rückstände in 66 %, in 6 % bis zu 5 µg/kg, in 24 % 5 - 20 µg/kg, in 11 % 20-50 µg/kg und in 4 % mehr als 50 µg/kg nachgewiesen. Krupke *et al.*, (2012) belegten 11 µg/kg Clothianidin und 20 µg/kg Thiamethoxam in Pollen aus als auffällig und „krank“ erscheinenden Völkern.

Auch aus den Vergiftungsfällen nach Maisausaat in Österreich wurde von auffällig vermehrten Meldungen über flugunfähige Bienen berichtet, die in vielen Fällen erst nach der Maisausaat und über einen Zeitraum von einigen Wochen aufgetreten waren (Girsch und Moosbeckhofer, 2012). Während die Versuche mit Maisausaat zeigten (Kap.4.1.2), dass die stärksten Effekte in den ersten Tagen nach Staubexposition auftreten, berichteten Imker mit Staubschäden 2008 jedoch auch leicht erhöhte Mortalität und Funde von geringeren Bienenzahlen mit

Vergiftungserscheinungen bis zu mehreren Wochen nach Erstaufreten der Symptome. Es wurde daher angenommen, dass dies auf den Verzehr von eingelagertem, kontaminiertem Pollen bzw. Bienenbrot zurückgeführt werden kann (Pistorius *et al.*, 2009). Diese Annahme wird durch die Rückstandsfunde in Pollen (Kap 4.1.3, Kap. 4.2.3 und Kap 4.5) und auf mehrere Wochen verlängerte Beobachtung der Mortalität (Kap 4.1.1) in den hier zugrunde gelegten Versuchen bestätigt.

Gesammelter Pollen wird von adulten Bienen in unterschiedlichem Ausmaß konsumiert. Ammenbienen, konsumieren am meisten Pollen mit 6,5 mg pro Tag über 10 Tage etwa 65 mg (Rortais *et al.*, 2005; EFSA 2012). Die Berechnung der Futteraufnahme von Bienen verschiedenen Lebensalters mit verschiedenen Tätigkeiten resultiert bei den in T2 und T1 maximal gemessenen Konzentrationen in einer Wirkstoffaufnahme von bis zu 1,2 ng und 1,8 ng Clothianidin/Biene im Zeitraum von 10 Tagen. Diese Menge beträgt knapp ein Drittel bis die Hälfte der oralen LD₅₀ allein über den Expositionspfad Pollen. Allerdings ist dabei unter Annahme einer homogenen Kontamination des Pollens zu berücksichtigen, dass bei täglicher oraler Aufnahme in adulten Bienen ein Wirkstoffmetabolismus stattfindet (Cresswell *et al.*, 2014).

Für Clothianidin wurde eine *No observed adverse effect concentration* (NOAEC, Konzentration, die keine Effekte auf Bienen bewirkt) von 20 µg/kg ermittelt (Schmuck & Keppler, 2003; EFSA 2013). Diese NOAEC, die mit homogener Kontamination in Zuckerlösung respektive Pollen erarbeitet wurde hat nach Angaben der Autoren keine Auswirkungen auf Mortalität von Adulten, Larven oder Ammenbienen. Es kann dennoch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, dass die zuvor beschriebene Heterogenität der Rückstände in beizstaubkontaminierten Pollenproben zu einer höheren Exposition von Einzelbienen und zu subletalen oder letalen Auswirkungen auf Einzelbienen führen kann und mit der NOAEC somit nicht direkt vergleichbar ist. Pollen kann auch erst mit einigen Tagen bis Wochen nach dem Sammeln verzehrt werden. Dies konnte in Halbfreilandversuchen nachgewiesen werden: nach dem Abklingen der Effekte auf Mortalität von direkt getroffenen Bienen trat auch noch mehrere Wochen erhöhte Mortalität adulter Bienen in den behandelten Varianten auf (Kap 4.4.1).

Die Messwerte in Pollenhörschen einzelner Sammlerinnen lagen aber weit über der NOAEC, und auch anhand der Berechnungen der täglichen Dosis wird offensichtlich, dass ein sehr hohes Risiko für Bienen entsteht, wenn sie diesen Pollen verzehren. Allerdings wäre für eine genauere Einschätzung wichtig, weitere Kenntnisse über die Häufigkeit und Verteilung der Kontaminationen von Pollen als auch den zeitlichen Verlauf der Rückstandsbelastung zu untersuchen, um die Risiken anhand der Expositionsberechnungen detaillierter quantifizieren zu können.

Nach gezielter Applikation und der folgenden Beobachtung der Mortalität wurde eine über mehrere Wochen erhöhte Mortalität festgestellt. Auch zeigen die Daten der Einzelvölker eine

hohe Variabilität innerhalb der Behandlungsgruppen T1 und T2. Je nach Größe, Anzahl und Wirkstoffgehalt an Beizstaubpartikeln, ob mit Pollen gesammelt oder aus dem Haarkleid ausgebürstet und mit dem Pollen in einzelne Zellen eingelagert, können vereinzelt Zellen mit punktuell hohen Kontaminationen auftreten. Dies führt zu einer sehr unterschiedlich hohen Exposition von Einzelbienen, im Gegensatz beispielsweise zu systemisch in Nektar und Pollen verlagerten Rückständen von Saatgutbeizungen, für die eine wesentlich geringere Variabilität und gleichmäßigere Belastung im Vergleich zu Staubkontamination anzunehmen ist. Da eine Mindestmenge von etwa 2 g Pollen für die Analyse verwendet wurde, wird bei einem durchschnittlichen Höschengewicht von etwa 20-40 mg der Mittelwert der Rückstände von etwa 50-100 Pollenpaketen gemessen. Je nach Größe, Anzahl und Wirkstoffgehalt an Beizstaubpartikeln können einzelne Pakete so hochkontaminiert sein, dass der Verzehr zum Tod der Bienen führt. Bei Annahme von 6,5 mg Verzehr an Pollen/Ammenbiene/Tag wäre eine kontaminierte Sammelladung ausreichend, um etwa 3-6 Bienen zu schädigen. Im Allgemeinen ist daher nicht auszuschließen, dass die Expositionsberechnung auf Basis der Mittelwerte der Kontamination in der Bienenbrut die tatsächliche Exposition einzelner Bienen durch Staubpartikel unterschätzt.

In Messungen der Pollenhöschen von am Flugloch abgefangenen Sammlerinnen wurden in Abdriftversuchen noch wesentlich höhere Rückstände in Einzelproben nachgewiesen. Allerdings sind wie bei Bienenbrot auch die Einzelwerte für Pollen folglich nicht repräsentativ für die durchschnittliche Kontamination, sondern eher als punktuelle Messung zu werten. Für repräsentative Aussagen der Gesamtbelastung müsste eine wesentlich höhere Anzahl an Probenanalysen durchgeführt werden, als es im Rahmen dieser Arbeit möglich war. Aufgrund der individuellen Unterschiede kann die Berechnung eines Risikos anhand einzelner Messerwerte leicht zu einer Über- oder Unterschätzung des Risikos führen und sollte daher nicht überbewertet werden. Um die Gefährdung unter praktischen Bedingungen realistisch einschätzen zu können, müssen die Rückstandsdaten daher im Zusammenhang mit den Erkenntnissen zur Mortalität sowie der Brut- und Volksentwicklung bewertet werden.

5.4 Auswirkungen insektizider Stäube auf Bienen

Stäube sind nicht *per se* toxischer, aber bewirken bei gleicher Aufwandmenge deutlich stärkere biologische Effekte auf Bienen. In einer Kalifornischen Studie wurde bereits vor Jahrzehnten gezeigt, dass die Anzahl von Völkerverlusten (!) nach Änderung der Ausbringungsform (1962 auf 1963), von Stäuben mit für Bienen hochtoxischen Organophosphaten in eine Spritzanwendung um 50% gesunken ist. Auch Johanson (1979) kam zu dem Fazit, dass eine Ausbringung formulierter Pflanzenschutzmittel in Staubform grundsätzlich gefährlicher für Bienen ist als eine Spritzung. Es wird vermutet, dass dies auf die unterschiedliche Aufnahme

bzw. Exposition mit toxischen Rückständen in Festpartikelform zurückzuführen ist (Johanson & Kleinschmidt, 1972).

Auch die vorliegenden Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, dass Stäube deutlich kritischer im Vergleich zu Spritzungen hinsichtlich möglicher Gefährdung von Bienen unter feldrealistischen Bedingungen einzuschätzen sind. Nach Ausbringung von 1 g as Clothianidin/ha in Form von Staubpartikeln (Kap. 4.4.2) wurde im Versuch ein signifikanter, deutlicher Effekt auf die akute Mortalität von Honigbienen über mehrere Tage nach Ausbringung beobachtet, jedoch keine erhöhte Mortalität nach Spritzung des Produkts Dantop® mit 1,0 g Clothianidin/ha. In der Variante mit Ausbringung von unkontaminiertem Erdstaub trat keine erhöhte Mortalität auf, die in der wirkstoffhaltigen Variante beobachtete Mortalität somit nur auf die Clothianidin-haltigen Beizstaubpartikel, nicht auf das Trägermaterial Erdstaub zurückzuführen. Die Mortalität nach Staubapplikation lag in den Versuchen somit deutlich über den für Spritzungen bekannten NOEC und LOEC Werten für Clothianidin (EFSA, 2013a). Das bedeutet auch, dass zur Übertragbarkeit von Erkenntnissen aus Spritzmittelversuchen Sicherheitsfaktoren für die Interpretation zu nutzen sind.

Sgolastra *et al.* 2012 zeigten, dass keine signifikanter Unterschied der Toxizität des formulierten Clothianidin-haltigen Mittels Dantop® im Vergleich zu staubförmigen Abrieb von Poncho®-Saatgutbeizung auf Laborebene besteht. Die höhere Mortalität nach Staubausbringung ist durch die Beschaffenheit als Partikel begründet. Bislang wurden nur wenige Daten zu Auswirkungen in Halbfreilandbedingungen publiziert; EFSA (2013a) berichtet eine Halbfreilandstudie mit Ausbringung von Stäuben mit auf Partikelgrößen <200 µm gesiebten Hafer-Schmelzflocken als Streckmittel eine NOER von <0,5 g as Clothianidin/ha, ein genauer Wert wird jedoch nicht angegeben. Für Spritzanwendungen wurde eine NOER/LOER von 2 und 4 g as für die akute Mortalität (EFSA, 2013a) festgestellt. Vergleichbare Daten wurden für den Neonikotinoiden Wirkstoff Thiamethoxam, dessen Metabolit Clothianidin ist, publiziert. Für die Toxizität von Staubabrieb der Beizung Cruiser® wurde ebenso wie für Clothianidin kein signifikanter Unterschied nachgewiesen im Vergleich zum formulierten Spritzmittel Actara®. In einer Halbfreilandstudie wurden die Auswirkungen einer Spritzung mit 5 g as/ha mit den Auswirkungen von Stäuben, 1 g und 5 g as/ha verglichen. Eine vergleichbar hohe Mortalität wurde am Tag der Applikation für Spritzung und Stäube wenige Stunden nach Applikation festgestellt. 24 Stunden nach Applikation trat eine um das doppelte erhöhte Mortalität im Vergleich zum Applikationstag in der Variante mit Staubausbringung auf, in der Spritzvariante geringere Mortalität festgestellt. Gegenüber der Spritzung wurde erhöhte Mortalität in beiden Staubvarianten über die gesamte Expositionsphase von 7 Tagen beobachtet (EFSA, 2013b). Diese Beobachtungen stehen somit im Einklang mit den hier nachgewiesenen höheren Effekten nach Staubexposition, die auf die Beschaffenheit als Partikel begründet ist, die

über längere Zeiträume auf Oberflächen und Blüten verfügbar sind als Spritzmittel, die antrocknen und teilweise in das Blatt einziehen.

Auswirkung der Staubabdrift durch Maisaussaat auf akute Mortalität von Bienen

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Exposition und Aufnahme von wirkstoffhaltigen Staubpartikeln zu stark erhöhter Mortalität führen kann. Das Ausmaß der Effekte steht in direktem Zusammenhang mit der Menge verdriftender Beizmittelstäube und deren Wirkstoffgehalt.

In den Halbfreilandversuchen wurde eine signifikante, sehr stark erhöhte Mortalität nach Maisaussaat 2010 und 2011 festgestellt. Bereits wenige Minuten nach Aussaat wurden erste Vergiftungssymptome sichtbar, gefolgt von einer über mehrere Tage anhaltende stark erhöhten, signifikanten Mortalität. Die stärksten Effekte wurden in den ersten 24 Stunden nach Aussaat festgestellt, wie auch Georgiadis *et al.*, 2014 berichten. Eine nahezu unveränderte oder allenfalls gering erhöhte Mortalität nach Aussaat wurde in den Kontrollen im Halbfreiland festgestellt, zudem war keine relevante Wirkstoffdeposition in Variante Kontrolle feststellbar. Die Mortalität in Zeltversuchen in Halbfreilandbedingungen war in allen 3 Versuchsjahren in behandelten Varianten wesentlich höher als in den parallel durchgeführten Freilandversuchen. Da die Völker im Halbfreilandversuch erst nach Ende des Drillvorgangs geöffnet wurden, war Kontamination beim Durchfliegen einer Staubwolke nicht gegeben. Für die orale Exposition der Sammlerinnen über kontaminierten Nektar und Pollen sowie die Staubpartikel-Aufnahme durch passives Einsammeln oder elektrostatische Anziehung während der Sammelaktivität, z.B. über Kontakt auf Pflanzenoberflächen und Blüten, wird in den Zeltversuchen ein *Worst-Case*-Szenario hergestellt.

Die im Freiland aufgestellten Völker hingegen waren direkt beim Durchfliegen der Staubwolke wirkstoffhaltigen Partikeln ausgesetzt, da die Völker während der Aussaat frei fliegen konnten und zudem eine möglicherweise größere Anzahl an Bienen im durch Abdrift exponierten Blütenbestand sammeln konnte. Im Freiland wurde nach Maisaussaat 2010 eine deutlich höhere Mortalität der Völker auf der exponierten Seite festgestellt. Auch in der Kontrolle wurde ein Anstieg der Mortalität, jedoch wesentlich geringer als in Variante Treatment gemessen. In Versuchen 2010, 2011 und 2012 wurde eine hohe Flugaktivität und zahlreiche ein- und ausfliegende Bienen an den Fluglöchern der Völker zum Aussaatzeitpunkt beobachtet (nicht quantifizierte Beobachtung). Im Gegensatz zu 2010 haben die Bienen 2011 und 2012 auf dem Versuchsbestand fast gar nicht gesammelt, da 2011 und 2012 wesentlich mehr alternative Trachten in der Umgebung zur Verfügung standen, auf denen die Bienen trotz Vollblüte des Versuchsfelds bevorzugt sammelten. Dadurch waren im Freiland 2011 und 2012 nur wenige Bienen beim Sammeln von Nektar und Pollen und durch Kontakt und Belauf von Blü-

ten und Pflanzenoberflächen exponiert. Dahingegen waren die ein- und ausfliegenden Bienen der Kontrolle und Treatment waren den Stäuben in der Luft auch 2011 und 2012 exponiert. Es ist anzunehmen, dass diese Exposition im Treatment höher als in Kontrolle war, bedingt durch die Aufstellung an der windzu- und windabgewandten Feldseite. Auch im Jahr 2011 wurde im Freiland eine etwas höhere Mortalität in Variante Treatment festgestellt, die Interpretation ist allerdings durch die hohe Mortalität vor der Aussaat erschwert. Im Freiland wurden im Totenfall auch in der Kontrolle deutliche Rückstände nachgewiesen, was auf ein direktes Einstäuben der Völker, Fluglöcher und Totenfallen und direktes Einstäuben von ein- und ausfliegenden Sammelbienen schließen lässt, da die Bienen kaum im Bestand gesammelt haben. Durch das gewählte Versuchsdesign und die beschriebenen Limitationen dient nur die entfernt aufgestellte Variante Remote als echte Kontrolle, was auch durch die Rückstandsanalysen belegt wurde. Während ein Durchfliegen der Staubwolke in der Luft allenfalls zu einem geringen Anstieg der Mortalität führte, besteht ein Zusammenhang zwischen der Intensität der Sammelaktivität auf kontaminierten blühenden Pflanzen und der Mortalität. Bei hoher Sammelaktivität, wie in 2010, sammelt eine größere Anzahl an Bienen Wirkstoffe mit Staubpartikel, was die höhere Mortalität im Freiland gegenüber 2011 erklärt.

Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die Bedeutung an der Schadwirkung der direkten Exposition beim Durchfliegen der Staubwolke insgesamt nur gering ist. Dies wird deutlich anhand der wesentlich höheren Mortalität von Bienen im Halbfreiland, die nicht durch Staubwolken geflogen sind und bei denen auch die direkte Einstäubung des Volkes durch den Versuchsaufbau als gering einzuschätzen ist, und auch dem Vergleich der Mortalität im Freiland 2010 und 2011. Die Erkenntnisse belegen den hohen Anteil der Expositionspfade Kontaktexposition auf den Blüten und kontaminierten Sammelguts an der Schadwirkung auf die Bienen. Zusätzlich kann zwar auch das Durchfliegen der Staubwolke zu einem Anstieg der Mortalität beitragen, jedoch nur in deutlich geringerem Ausmaß als die Kontaktexposition.

Ein Trend zu einem Rückgang oder verringertem Wachstum der Volksstärke wurde in den Versuchen mit Maisaussaat festgestellt, was auf die erhöhte Mortalität zurückzuführen ist. Auch in Versuchen mit starken Effekten auf die Mortalität adulter Bienen wurde kein erhöhter Puppentotenfall in Totenfallen festgestellt, auch waren bei Populationsmessungen keine Schädigung von Larven oder Puppen oder ein Fehlen bestimmter Brutstadien erkennbar. Dies ist darauf zurückzuführen, dass primär Sammlerinnen mit Partikeln direkt kontaminiert werden und Nektar und Pollen im Volk weiterverarbeiten und diese an Stockbienen weitergeben zur weiteren Verarbeitung. Larven hingegen werden mit dem durch die Ammenbienen nach Verzehr von viel Pollen produzierten Futtersaft gefüttert (Rortais *et al.*, 2005). Die Exposition sammelnder Bienen und der adulten Stockbienen ist wesentlich höher, auch gibt es Hinweise, dass die Toxizität für Adulte um Größenordnungen über der Toxizität von Larven liegt (EFSA, 2013a). Daher sterben neben direkt exponierten Flugbienen nach Verzehr kontaminierten

Nektars und Pollens primär die Ammenbienen und verhindern somit auch, dass die Larven hohen Wirkstoffmengen ausgesetzt sind. Sammler können jedoch auch kontaminiertes Futter einlagern (Davis *et al.*, 1989). Bei Verzehr von eingelagertem Pollen zu einem späteren Zeitpunkt können somit Vergiftungen einzelner Bienen auch mit zeitlicher Verzögerung auftreten und eine längerfristig erhöhte Mortalität adulter Bienen bewirken.

Auswirkung der Staubabdrift durch Rapsaussaart auf akute Mortalität von Bienen

Insgesamt blieben die Auswirkungen nach Aussaat von Raps auf Bienenmortalität auf viel niedrigerem Niveau im Vergleich zu Versuchen mit Maisaussaart. Die Ergebnisse belegen, dass auch nach Aussaat von Raps erhöhte Mortalität auftreten kann.

Während im Halbfreiland 2013 deutliche behandlungsinduzierte Effekte nach Aussaat von Raps im mit stark erhöhter Mortalität im Treatment festgestellt wurden, zeigen sich deutliche Unterschiede in der täglichen Mortalität gegenüber 2011. In 2013 war die Mortalität mit eindeutigen Peak 24 Stunden nach der Aussaat und auch 3 Tage danach erhöht, wie der tageweise Vergleich der Mortalität zeigt (Kap.4.1.2). In 2011 zeigt sich ein weniger klares Bild, im Halbfreiland eine leicht höhere, tendenziell ansteigende Mortalität in der exponierten Variante im 7-tägigen Nachbeobachtungszeitraum. Ein Peak nach der Aussaat wie in anderen Versuchen mit klaren Effekten wurde nicht beobachtet. Im Vergleich lag die aufsummierten Mortalität in ähnlicher Höhe wie nach Rapsaussaart 2011 und 2013 (Kap.4.3.). Es kann nicht abschließend geklärt werden, inwiefern die 2011 im Halbfreilandversuch beobachtete Mortalität eher auf die natürliche Variabilität oder Effekte durch Staubabdrift zurückzuführen ist. Nach Rapsaussaart 2013 wurden trotz niedrigerem HBAS sowohl in den Petrischalen, im Nachbarbestand und Blütenbereich höhere Kontaminationen gemessen als in Versuchen mit Maisaussaart 2012 und Rapsaussaart 2011. Dies erklärt auch die stärkeren Effekte im Halbfreilandversuch 2013. In Versuchen mit Rapsaussaart 2014/1 und 2014/2 wurde weder im Halbfreiland noch Freiland erhöhte Mortalität gemessen. In beiden Varianten blieb die Mortalität insgesamt auf sehr niedrigem Niveau.

In den Freilandversuchen mit Rapsaussaart 2011, 2013 und zwei Versuchen in 2014 wurde keine erhöhte Mortalität festgestellt. Die Mortalität blieb insgesamt auf sehr niedrigem Niveau, wie der Vergleich der Einzeldaten und der über 7 Tage aufsummierten Mortalität des Nachaussaatzeitraums zeigt. Einem positiven Rückstandsnachweis in einzelnen Totenfallproben steht nur eine geringe Mortalität und somit geringe biologische Relevanz für ein Bienenvolk gegenüber. Auch in Versuchen mit Rapsaussaart zeigte sich im Vergleich der Mortalität in Halbfreiland- und Freiland, dass die negativen Auswirkungen bei Abdriftversuchen deutlich sensitiver in den Halbfreilandversuchen erfasst werden können. Trotz leichter Schwankungen ließ sich kein negativer Einfluss auf die Volksstärke und Brutentwicklung feststellen, ebenfalls wurde keine erhöhte Larven- oder Puppenmortalität festgestellt. Es lässt sich schlussfolgern, dass im Falle schlechterer Beizqualitäten auch Bienenvergiftungen auftreten

können. Es ist anzunehmen, dass in den Jahren vor Etablierung von Maßnahmen zur Verbesserung der Beizqualität durchaus auch schlechtere Saatgutchargen auf dem freien Markt im Umlauf gewesen sein dürften. Inwiefern daraus resultierend tatsächlich Vergiftungen aufgetreten sind, kann nicht abschließend geklärt werden. Wenngleich aus dem Kenntnisstand der Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen keine Hinweise auf Bienenvergiftungen nach Rapsaussaat bekannt sind, unterstreichen die Ergebnisse der Arbeit die Notwendigkeit, Grenzwerte festzulegen, bei denen mit hoher Wahrscheinlichkeit keine Bienenschäden auftreten.

Mortalität nach Aussaat gebeizter Kulturen- zusammenfassende Betrachtung

In Versuchen mit realistischer Aussaat von gebeizten Kulturen konnten also deutliche Unterschiede in den Auswirkungen auf Bienen und ein Zusammenhang mit der eingesetzten Beizqualität festgestellt werden. Bei hohen Heubach-Wirkstoffmengen je ha traten Effekte auf, die eine akute Mortalität von Bienen bewirkten, wohingegen in Versuchen mit sehr niedrigen Heubach-Wirkstoffmengen und mit vergleichsweise guter Beizqualität keine Effekte nachweisbar waren. Allerdings trat auch in Versuchen mit Rapsaussaat, insbesondere 2013 klar, 2011 weniger eindeutig, signifikant erhöhte Mortalität in Halbfreilandbedingungen auf.

Die *Worst-Case-Exposition* im Halbfreiland bedeutet eine deutliche Steigerung der potentiellen Exposition unter realistischen Bedingungen. Solche Expositionsbedingungen dürften im Zeitraum der Rapsaussaat kaum in der Realität vorkommen, auch, da die Häufigkeit blühender, für Bienen attraktiver Pflanzen im Herbst wesentlich geringer ist als im Frühjahr. Daher kann einerseits zwar angenommen werden, dass auch die Beizqualität von 2013 in der Praxis nach Rapsaussaat in den meisten Umständen nicht zu nennenswerten Bienenschäden führen würde; andererseits können auch in der Praxis ungünstige Umstände so zusammenkommen, dass Bienenschäden anhand der Versuchsergebnisse nicht mit vollständiger Sicherheit ausgeschlossen werden können. Allerdings ist auch aus zurückliegenden Jahren, in denen die Beizqualität deutlich schlechter war als im Versuch mit Rapsaussaat 2013, kein Schadfall bekannt geworden, der einen Zusammenhang mit der Aussaat von gebeiztem Raps vermuten lassen könnte. Obwohl die Qualität der Saatgutbeizung nachweislich deutlich verbessert werden konnte, ist die Einführung und Einhaltung von Qualitätskriterien in Verbindung mit geprüfter Sätechnik der wichtigste Baustein zur Vermeidung von relevanter Staubabdrift.

Wenn Werte bis 5 mg HBAS eingehalten werden, ist es nach vorliegenden Versuchsergebnissen mit *Worst-Case-Exposition* daher als unwahrscheinlich einzuschätzen, dass in Halbfreilandbedingungen erhöhte Mortalität durch Staubabdrift für Bienen bei der Aussaat auftritt. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass auch in praxisnahen Freilandbedingungen eine Schädigung von Bienen und erhöhte Mortalität mit erhöhter Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Mortalität nach gezielter Ausbringung von definierten Wirkstoffmengen

Obwohl der Expositionspfad über Staubpartikel in der Luft durch die Applikation vor Bienenflug zumindest sehr stark reduziert wurde, da die Applikation vor dem täglichen Bienenflug (Kap 4.4.1) durchgeführt wurde, waren deutliche Auswirkungen nach Beizstaubapplikation der Varianten T1 (1,0 g Clothianidin/ha) und T2 (2,0 g Clothianidin/ha) auf die akute Bienenmortalität nach Applikation bis zum Versuchsende erkennbar, mit höherem Totenfall in T2.. Die Flugaktivität der Varianten war vergleichbar, insgesamt etwas höher im Vergleich zum zeitgleich durchgeführten Halbfreilandversuch mit Maisaussaat 2012 und vergleichbar starken Bienenvölkern. In den Tagen bis +5 ging der Totenfall täglich, analog zu den Versuchen mit Effekten Staubabdrift nach Maisaussaat zurück, blieb jedoch über der Kontrollmortalität. Direkt nach Applikation und auch an Folgetagen waren keine bedeutsamen Unterschiede der Sammelaktivität in den Behandlungsvarianten zu erkennen. Wie auch in den Abdriftversuchen wurden keine Hinweise auf einen Repellent-Effekt festgestellt. Trotz starker Auswirkungen auf die Mortalität erkennen Bienen kontaminierte Partikel nicht.

Maximaler Totenfall wurde in Versuchen mit klaren Effekten in den ersten 24 Stunden, sowohl in Versuchen mit Aussaat und Abdrift, und hier nach Applikation des Beizstaubs festgestellt, ein Effekt, der auch in den Versuchen von Sgolastra *et al.* 2012 mit Applikation während dem Bienenflug beobachtet wurde. Da hier die Applikation vor dem täglichen Bienenflug durchgeführt wurde, belegt die hohe Mortalität, dass das Einsammeln von Stäuben sowie Kontakt und Verzehr von staubkontaminiertem Pollen und Nektar den bedeutendsten Anteil an einer akuten Schadwirkung hat. Interessanterweise wurde in diesem Versuch im Gegensatz zu anderen ungewöhnlich hoher Totenfall am letzten Versuchstag 7 Tage nach Applikation in beiden Behandlungsvarianten, mit mehr als 200 toten Bienen in der Falle beobachtet. Ein witterungsbedingter Einfluss kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden da die Mortalität der Kontrollvariante kaum Auffälligkeiten zeigte.

Stäube, die in das Volk mit Nektar, Pollen und Partikeln eingetragen werden, bewirkten eine über längere Zeit anhaltende Mortalität. Nach hoher Initialschädigung im akuten Expositionszeitraum, null bis 7 Tage nach Applikation, wurde 3 Wochen nach Applikation zwar sehr viel geringere Mortalität als in der Woche mit akuter Exposition, aber immer noch signifikante Unterschiede der Mortalität von T1 und T2 im Vergleich zur Kontrolle beobachtet. Erst 6 Wochen nach Applikation waren keine Unterschiede der Mortalität zwischen Varianten mehr feststellbar. Dies bestätigt erneut, dass die Ursache für die über längere Zeiträume erhöhte Mortalität mit hoher Wahrscheinlichkeit der Verzehr von eingelagertem kontaminierten Pollen ist, insbesondere durch Ammenbienen (Rortais *et al.*, 2005). Dies deckt sich mit den Berichten von Schadfällen zu Bienenvergiftungen nach Staubabdrift, in denen in manchen Fällen

erhöhter Totenfall über mehrere Wochen nach Aussaat festgestellt wurde (Pistorius *et al.*, 2009).

Die über einen längeren Zeitraum erhöhte Mortalität bestätigt erneut die hohe Bedeutung des Expositionspfades über Pollen. Aus den Erkenntnissen kann die Notwendigkeit geschlussfolgert werden, in künftigen Studien auch die Beobachtungen zur akuten Mortalität auf zwei Brutzyklen nach Applikation zu verlängern. Andererseits ist bislang ungeklärt, ob die auf adulte Bienen schnell akut toxisch wirkenden Neonikotinoide durch Staubabdrift ausschließlich verzögerte Mortalität bewirken können, ohne dass durch die Initialexposition adulte Sammlerinnen messbar zu Schaden kommen. Für Wirkstoffe, die ausschließlich auf Bienenbrut, aber nicht auf adulte Bienen toxisch sind, wäre dies wohl ein zu berücksichtigendes Szenario. Für die Auswirkungen der für adulte Bienen hochtoxischen Neonikotinoide ist dann aber fraglich, ob durch die Verlängerung des Expositionszeitraums ein Mehrgehalt an Erkenntnissen gewonnen werden kann, die die Entscheidung einer Risikobewertung maßgeblich ändern würde.

Im Vergleich zur Mortalität der Halbfreiland-Abdriftversuche 2010 und 2011, in denen eine Deposition von etwa 1,16 bis 1,28 g as/ha für den direkten Feldrand festgestellt wurde, lag die Mortalität nach gezielter Applikation mit Aufwandmenge 1 g Clothianidin/ha in beiden Varianten niedriger. Dies kann zum Teil auf die leicht stärkeren Völker in Abdriftversuchen zurückzuführen sein, hauptsächlich aber auf die deutlich kleinere Bestandsfläche in Versuchszelten, etwa 36 m² Applikationsversuchen gegenüber etwa 90 m² in den Abdriftversuchen. Allerdings waren die Versuchszelte in den Abdriftversuchen auch 2 m breiter, und die Rückstände im Bestand nehmen mit zunehmender Entfernung von der Aussaatfläche weiter ab, wohingegen die applizierten Mengen gleichmäßig über der Fläche verteilt wurden.

Sgolastra *et al.*, 2012 wählten für den Halbfreilandversuch die Dosis 51,2 mg/ha für die eine Staubapplikation mit Handstäubegerät mit Fraktionen >45 µm und Talkum als Streckmittel. Diese Dosis, abgeleitet von Petrischalen-Messwerten in 5 m Entfernung (Apenet, 2010), vergleichbar mit den Messwerten von in Petrischalen (53,6 mg as/ha) 5 m und Pflanzenbestand 48,6 mg as/ha) bei Rapsaussaat 2013. Allerdings stellten die Autoren ebenfalls einen signifikanten Anstieg der Mortalität, aber eine absolut deutlich geringere Mortalität, maximal 24 Bienen am Tag nach Applikation fest. Diese Daten stehen nur scheinbar im Widerspruch zu Georgiadis *et al.* (2012c), der bei manueller Applikation von 0,1 g as/ha keinen Anstieg der Mortalität fand, allerdings nur Partikel <160 µm einsetzte. In Versuchen mit verschiedenen Partikelgrößen wurden zuvor nur bei Ausbringung von Staubfraktionen >160 µm Effekte beobachtet (Georgiadis *et al.*, 2012b). In Schlussfolgerung bedeutet dies, dass nicht nur die Aufwandmenge, sondern auch die Partikelgröße eine wichtige Rolle spielen kann. Ein solcher Einflussfaktor sollte für künftige Versuche daher zwingend standardisiert werden, um optimale Vergleichbarkeit von Ergebnissen zu gewährleisten. Eine Verteilung der Partikelgrößen

konnte in den Abdriftversuchen nicht ermittelt werden, und bislang sind auch keine entsprechenden Daten veröffentlicht. Selbst wenn sich Partikelgrößen und Formen bei Abdrift während der Aussaat von den bei gezielter Applikation ausgebrachten Stäuben unterscheiden, sind die beobachteten Auswirkungen in den Abdrift- und Applikationsversuchen als ähnlich einzuschätzen. Die gewählte Methode der Ausbringung von Partikeln $<160\ \mu\text{m}$ scheint geeignet, eine ähnliche Exposition wie Beizstaubabdrift während Aussaat zu generieren, wie durch die Effekte auf Bienen und Rückstände im Pollen belegt wird. Eine besondere Stärke der Methoden mit Applikation definierter Wirkstoffmengen ist die Möglichkeit der Untersuchung von Dosis-Wirkungsbeziehungen und Prüfung von Effektschwellen als zweite Prüfstufe.

Auswirkung der maschinellen Ausbringung gezielter Wirkstoffmengen in Form von feinen Staubpartikeln auf Honigbienen im Freiland

Signifikante behandlungsbedingte Effekte nach Exposition wurde in beiden Behandlungsvarianten T1 mit Applikation von $0,25\ \text{g as Clothianidin/ha}$ und T2 mit $1,0\ \text{g as/ha}$ im Freiland während des Bienenflugs (Kap 4.4.3) festgestellt, die Kontrollmortalität blieb im gesamten Versuchszeitraum auf geringem Mortalitätsniveau und unverändert im Vergleich zum Vorapplikationsniveau. Die Sammelaktivität war hoch und nur in Variante T1 leicht niedriger; in T2 wurde dahingegen kein Rückgang der Sammelaktivität nach Applikation festgestellt, so dass wiederholt bestätigt werden konnte, dass Staubexposition keinen Einfluss auf die Sammelaktivität hat und keinen Repellent-Effekt bewirkt.

Der Anstieg der Mortalität in den Versuchen war vergleichbar mit einem Versuch mit manueller Applikation von Stäuben in Halbfreilandversuchen auf deutlich geringerer Fläche, in denen bei Anwendung von $0,25\ \text{g as/ha}$ ebenfalls bereits erhöhte Mortalität festgestellt wurde (Georgiadis, 2012c). Die absolut höhere Mortalität im hier vorgestellten Freilandversuch kann durch die größere Volksstärke, die damit einhergehende höhere Anzahl an sammelnden Bienen auf der Fläche und somit größeren Anzahl an Staubpartikel-exponierten Bienen, die auf der Versuchsfläche sammelten erklärt werden. Neben den toten Bienen in der Totenfalls wurden deutliche subletale Effekte und sterbende Bienen in den Totenfallen der Varianten T1 und T2 beobachtet; es ist davon auszugehen, dass die hier als geschädigt eingestuft Bienen in die Mortalitätserhebungen des Folgetages als tote Bienen Eingang in die Auswertung gefunden haben. Nachdem die Mortalität auf das Vorapplikations- bzw. Kontrollvariantenniveau zurückging, wurden auch keine weiteren subletalen Effekte beobachtet. Die Mortalität auf den Stoffbahnen im Feld war nur sehr geringfügig erhöht. Während der Sammelaktivität wurden keine Verhaltensauffälligkeiten festgestellt.

Im Vergleich mit den Zeltversuchen war die über 7 Tage nach Applikation bzw. Aussaat summierte Mortalität in Varianten mit Ausbringung von $1,0\ \text{g Clothianidin}$ von vergleichbarer

Höhe, bei wesentlich größerer Fläche und größeren Versuchsvölkern. Im Freiland könnte ein höherer Anteil an Bienen das Volk verlassen; während in den Zeltversuchen ein Entkommen unmöglich ist, könnten sich Bienen beim Einsetzen von ersten Symptomen aus den Völkern entfernen, und somit ein Teil der Bienen nicht in Totenfallen erfasst werden.

Während in Applikationsversuchen trotz erhöhter Mortalität- allerdings in der Phase des Volkswachstums im Frühjahr- eine Zunahme der Anzahl adulter Bienen beobachtet wurde mit nur geringen Unterschieden, wurde im Freilandapplikationsversuch eine deutliche stärker Abnahme der Anzahl Bienen im Volk in Behandlungsvarianten im Vergleich zur Kontrolle festgestellt. Während ein natürlicher Rückgang der Volksstärke im Herbst in Deutschland normal ist, erschwert dieser Umstand auch die Interpretation der Daten. Unter Berücksichtigung dieser Einflussfaktoren sind auch in diesem Versuch der Verlauf der Mortalität und die Größenordnung der Effekte vergleichbar mit den Daten der Abdriftversuche 2010 und 2011, selbst wenn die Mortalität im Vergleich bei gezielter Applikation von 1,0 g Clothianidin etwas geringer war. Bei Applikation von 0,25 g Clothianidin lag die über 7 Tage nach Applikation bzw. Aussaat summierte Mortalität wiederum etwa doppelt so hoch wie in Halbfreilandversuchen mit Maisaussaat 2012 und Rapsaussaat 2013, in denen eine Bestandskontamination von 0,13 und 0,2 g as/ha direkt am Feldrand gemessen wurden.

Sowohl die manuelle als auch maschinelle Applikation haben sich als geeignete Prüfmethoden herausgestellt, mit denen die Auswirkungen einer Staubexposition auf Bienen untersucht werden können.

Auswirkungen wirkstoffhaltiger Stäube auf Brutmortalität, Volks- und Brutentwicklung

Aus den verschiedenen Experimenten mit Applikation von Beizstäuben ergaben sich keine konkreten Anhaltspunkte für negative Auswirkungen auf die Brut- und Volksentwicklung. Die Brutentwicklung zeigte in den Versuchen keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und Treatment, auch wurde kein erhöhter Puppentotenfall oder ein Fehlen bestimmter Brutstadien festgestellt, selbst wenn erhöhte Mortalität auftrat. Auswirkungen der Staubexposition auf die Bienenbrut und Brutentwicklung konnten somit nicht belegt werden. Dies bestätigt auch die Ergebnisse von Matsumoto (2013), der nach einer Spritzapplikation deutlich erhöhten Totenfall, allerdings nur bis etwa 100 tote adulte Bienen am Tag nach Applikation, aber in den folgenden 2 Monaten keine Auswirkungen auf Larven und Brut feststellte.

Nach Rapsaussaat 2011 zeigte die Schätzung der Volksstärke und der Brutentwicklung in Halbfreiland und Freiland 12 Tage nach Aussaat eine leicht geringere Bienenzahl im Halbfreiland, nicht aber im Freiland für den Vergleich Treatment gegenüber der Kontrolle. Bei der letzten Populationsschätzung waren in Halbfreiland und Freiland aber keine Unterschiede zur

Kontrolle mehr nachzuweisen, im Freiland waren Völker im Treatment leicht stärker. Falls die beobachteten Effekte behandlungsbedingte Ursache haben, wäre plausibel, dass diese sich insbesondere in Populationsschätzungen nach der Aussaat zeigen. Auch in allen Populationsschätzungen im Anschluss an die Exposition in Maisabdriftversuchen konnte ein leichter Rückgang der Anzahl adulter Bienen gezeigt, aber aufgrund der hohen Variabilität der Völker, die auch in natürlichen Bedingungen auftritt (Harbo *et al.*, 1993; Liebig, 2002) nicht statistisch belegt werden. Je mehr Zeit zwischen Aussaat und Populationsschätzungen liegt, desto ist größer die Wahrscheinlichkeit, dass die Bienen Verluste wieder kompensiert haben. Ein behandlungsbedingter Effekt ist dann kaum noch zu erkennen. Im Jahr 2013 wurde bis 14 Tage nach Aussaat eine Zunahme der Anzahl adulter Bienen in beiden Varianten im Freiland festgestellt, im Halbfreiland stagnierte die Anzahl in der Kontrolle und zeigten leichten Rückgang in Variante Treatment, ein Trend, der mit dem erhöhten Totenfall erklärt werden kann. Im Jahr 2014 wurde im Freilandversuch im Herbst keine Veränderung der Anzahl adulter Bienen zum Voraussaatzeitraum und im Vergleich der Varianten festgestellt, ebenso in der Kontrolle im Halbfreiland, im Treatment eine geringfügige Abnahme. Da in diesen Versuchen keine Effekte auf die akute Mortalität auftreten, zeigt sich hier die hohe natürliche Variabilität der Brutentwicklung sowie der Volksstärke. Während die Brutleistung zu verschiedenen Zeitpunkten sehr variabel war, trat in einigen Zeltversuchen sowohl in Kontrolle und Treatment bei Bonituren nach Applikation ein zeitweiser Brutrückgang auf, was häufiger in Zeltversuchen zu beobachten ist (Pistorius *et al.*, 2012), das Erkennen einen behandlungsbedingten Effekts erschwert.

Auch in den mehrfachen Populationsschätzungen nach maschineller Applikation im Freiland (Kap 4.4.3) wurde zwar eine Tendenz zu einem Rückgang der Bienenzahl bei der ersten Populationsschätzung nach Aussaat in beiden Varianten entsprechend dem hohen Totenfall sichtbar, die jedoch an keinem Schätztermin im Vergleich der Gruppen miteinander statistisch signifikante Unterschiede zeigte. Nur in Variante T2 wurde bei Betrachtung des kumulativen Bienenabgangs im Zeitraum 7 Tage vor bis 28 Tage nach Aussaat signifikante Unterschiede festgestellt. Da vorher keine signifikanten Unterschiede messbar waren, kann dies entweder als Indiz für verzögerte Effekte gewertet werden, oder auch durch saisonale, zufällige Einflüsse bedingt sein, kann aber nicht abschließend geklärt werden. Keine signifikanten Unterschiede wurden in den Schätzungen über 4 Wochen nach der Aussaat festgestellt, ebenso war keine erhöhte Brutmortalität feststellbar. Dies bestätigt wiederum die Erkenntnisse aus Abdriftversuchen, in denen ebenfalls starke Effekte auf die akute Mortalität adulter Bienen, nicht aber auf Bienenbrut feststellbar waren.

Bislang sind nur wenige Daten zur Volksentwicklung von Bienenvölkern und zur Wiederholung von Bienenvölkern nach einem Schadereignis wie einer akuten Vergiftung durch Staubabdrift veröffentlicht. In einer Untersuchung von Liebig *et al.*, 2008 wurde die Entwick-

lung von je 6 Wirtschaftsvölkern zweier stark durch Staubabdrift während Maisaussaat geschädigter Bienenstände im Zeitraum vom 15. Mai bis zum 9. Oktober durch Populations-schätzungen alle 21 Tage untersucht. Bei den stärker geschädigten Völkern traten lediglich bei der ersten Schätzung noch Brutschäden (4 von 6 Völkern) und bis Mitte Juni ein erhöhter Bienenabgang auf, am zweiten Standort jedoch nicht. Mitte Mai entnommene Pollenwaben zeigten Rückstände von 7 bis 35 µg/kg Clothianidin. Mit diesen kontaminierten Pollenwaben wurden 6 Jungvölker versorgt und die Entwicklung von Juni bis beobachtet und mit einer Kontrollgruppe verglichen, jedoch keine Unterschiede festgestellt. Die Autoren folgerten, dass wahrscheinlich ein Verdünnungseffekt durch fortlaufend eingetragenen Pollen eine Rolle spielte (Liebig *et al.*, 2008). Diese Erkenntnisse bestätigen die Schlussfolgerungen von Tasei (2002) und Russel *et al.*, 2013, dass Bienenvölker ein akutes Schadensereignis kompensieren können und in der Lage sind, sich ohne weitere schädigende Ereignisse zu erholen.

Auch hier lässt sich wiederum ableiten, dass der Parameter akute Mortalität wesentlich sensibler Unterschiede nach einem akuten Schadensereignis erfasst. Die Interpretierbarkeit von Daten zur Brut- und Volksentwicklung ist im Spätsommer und Herbst grundsätzlich etwas erschwert, da sich die Bienenvölker auf den Winter vorbereiten. Das Brutverhalten, und auch die Stärke, mit der Bienenvölker in den Winter gehen, schwankt oft stark (Free & Racey, 1968). Auch ist die Variabilität der Volksentwicklung relativ hoch. So beobachteten bereits Wille (1985), Imdorf *et al.* (1987) und Harbo (1993a) dass es auch unter gleichen Ausgangsbedingungen am gleichen Standort zu unterschiedlichen Volksentwicklungen kommen kann. Um diese Variabilität sicherer abzudecken, wären Versuche mit höheren Replikatzahlen wünschenswert.

5.5 Bewertung der Rückstände im Totenfall

Tendenziell waren in Versuchen mit höheren HBAS, die in höheren Rückständen in Nichtzielflächen resultierten, auch höhere Rückstände im Totenfall nachweisbar. In Versuchen mit Maisaussaat wurden Rückstände im Vergleich zu Rapsversuchen im Totenfall häufiger und über längere Zeiträume nachgewiesen. Maximale Rückstände wurden in den meisten Versuchen am Aussaatag, in allen Versuchen in beiden Varianten bis maximal drei Tage nach Aussaat gemessen. Die Höhe der Rückstände war vergleichbar für Halbfreiland- und Freilandversuche, mit Tendenz zu leicht höheren Werten im Halbfreiland. In Versuchen mit Rapsaussaat zeigten sich insgesamt trotz wesentlich geringeren Totenfalls zwar geringere Kontaminationen, die Unterschiede zwischen den Versuchen mit Raps- und Maisaussaat waren aber nicht so deutlich wie erwartet. Interessanterweise wurden aber auch an Tagen oder Versuchen mit insgesamt nur sehr geringer Mortalität erhöhte Rückstände in toten Bienen gefunden (Kap. 4.1.3, Kap 4.2.3). Die Anzahl positiver Rückstandsmessungen in toten Bienen war nach Rapsaussaat jedoch wesentlich geringer. Auch im Applikationsversuch im Freiland

zeigte sich keine direkte Beziehung zwischen der ausgebrachten Dosis und der Rückstandshöhe in toten Bienen, obwohl die Mortalität in Variante T2 deutlich höher war als in Variante T1. Somit ist ein Rückschluss aus der Höhe der Rückstände auf das Schadensausmaß bei den Bienenvölkern beziehungsweise auf die Höhe des Totenfalls nicht möglich. Die geringere Belastung mit kontaminierten Partikeln bei verbesserter Saatgutabriebqualität führt dazu, dass eine geringere Anzahl an Bienen mit kontaminierten Partikeln konfrontiert wird. Wenn eine Biene mit einem Partikel in Kontakt kommt, kann dies zum Tod der Biene führen. Ist die Mortalität durch Staubexposition ausgelöst, sind nachweisbare Rückstände zu erwarten, selbst wenn nur einzelne Bienen gestorben sind. Zwischen den nachgewiesenen Rückständen im Totenfall und der Höhe des Totenfalls besteht daher im Vergleich der Raps- und Maisversuche keine direkte Beziehung.

Die in den Abdrift- und Applikationsversuchen gemessenen Rückstände der behandelten Varianten lagen in vergleichbarer Größenordnung wie bei Vergiftungsschäden durch Staubabdrift: In Bienenschäden 2008 in Deutschland wurden in 71 von 77 Bienenproben aus der Region mit Staubschäden Rückstände über der Nachweisgrenze gefunden, etwa 4 % der Proben waren mit bis zu 5 µg/kg, 64 % bis zur 15 µg/kg und 25 % mehr als 15 µg/kg mit einem Maximum von 212 µg Clothianidin/kg kontaminiert (Pistorius *et al.*, 2009). Krupke *et al.* (2012) fanden 4-13 µg/kg, PMRA (2013) bis zu 72 µg/kg Clothianidin und 168 µg/kg Thiamethoxam in einzelnen Proben. Bortolotti *et al.* (2009) fanden Rückstände in italienischen Schadfällen nach Maisaussaat 2008 von 4-39 µg Clothianidin/kg, von 1-241 µg Imidacloprid/kg und 25-138 µg/kg Thiamethoxam. Die hier gemessenen Rückstände (Kap.4.1.3, Kap. 4.2.3., Kap. 4.4.2) können somit Annahmen über die ursächliche Vergiftung im Rahmen von Schadfällenuntersuchungen experimentell stützen.

In den meisten offiziell bestätigten Bienenvergiftungs-Schadfällen werden immer wieder nur in einem Bruchteil der Bienenproben Rückstände über der $LD_{50 \text{ Oral}}$ oder $LD_{50 \text{ Kontakt}}$ nachgewiesen, wie in den bekannten Vergiftungen durch Staubabdrift immer wieder festzustellen war (PMRA, 2013; van der Geest 2012; MLR, 2008). Auch in den Totenfallproben der Abdrift- und Applikationsversuche (Kap. 4) lagen die Rückstände deutlich unter der $LD_{50 \text{ oral}}$, 38 µg/kg Bienen und der $LD_{50 \text{ Kontakt}}$ mit 440 µg/kg Bienen, auch in Versuchen mit eindeutig behandlungsinduziertem Anstieg der Mortalität. Die in den toten Bienen ermittelten Messwerte sind aus toxikologischer Sicht nur schwer mit den in Laborversuchen ermittelten Toxizitäts-Werten (LD_{50} , LC_{50}) vergleichbar. Obwohl ein Vergleich mit der LD_{50} immer wieder angeführt wird (Kasiotis *et al.*, 2014), hat ein direkter Vergleich der Rückstände im Totenfall mit den Daten der Labortoxizität Schwächen. Die LD_{50} ist ein nach Exposition unter Laborbedingungen mit verschiedenen, meist 5 Dosierungen errechneter Wert, bei dem 50% der Bienen sterben (OECD, 1998a,b, Eppo 2010). Eine signifikante Anzahl an exponierten Bienen stirbt jedoch bereits bei geringeren Dosierungen.

Die Wirkstoffmengen, die in toten Bienen nachgewiesen werden (SLR-Werte, Subsequent Residue Levels), sind jedoch deutlich geringer als die Initialexposition; auch muss von einem Metabolismus der Wirkstoffe ausgegangen werden. Nur für eine begrenzte Anzahl an Wirkstoffen sind SLR- Werte veröffentlicht (Greig-Smith, 1994), nicht jedoch für Neonikotinoide. Laurino *et al.*, (2012) untersuchten den Wirkstoffabbau und Metabolismus nach oraler Exposition von Bienen mit Clothianidin und anderen Neonikotinoiden. Die Daten belegen, dass die an Bienen verfütterten Wirkstoffmengen sehr viel höher waren als die in gestorbenen Bienen nachweisbaren Rückstände. Nur 1 % der verabreichten höchsten Dosis von 2625 ng/Biene waren im Totenfall nachweisbar, gegenüber 24 % Wiederfindung in der niedrigsten Dosis von 3,3 ng/Biene. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass von einem Rückstandsnachweis in toten Bienen nicht auf die ursprünglich oral oder über Kontakt aufgenommene Wirkstoffmenge geschlossen werden kann.

Daraus lässt sich ableiten, dass auch Bienen mit auf den ersten Blick gering scheinenden Rückständen unterhalb der auf das Körpergewicht von Bienen umgerechneten LD_{50} durchaus letalen Konzentrationen ausgesetzt gewesen sein können. Es ist jedoch unklar, inwiefern diese Schlussfolgerungen ebenso wie die Erkenntnisse zur Metabolisierung von Wirkstoffen in Bienen nach Cresswell *et al.*, 2014 auch für insektizidhaltige Staubpartikel im Haarkleid der Bienen gilt, da hier keine Metabolisierung durch die Bienen anzunehmen ist. Da schon durch die Aufnahme geringerer Wirkstoffdosen als der LD_{50} eine große Anzahl Bienen sterben kann, dient der direkte Vergleich mit der LD_{50} als eher grober Anhaltspunkt. Für die Bewertung ist es daher gerechtfertigt, bei Werten deutlich unterhalb der LD_{50} einen ursächlichen Zusammenhang zwischen dem Wirkstoff und Vergiftung anzunehmen. Zusätzlich sind Faktoren wie Metabolismus (Laurino *et al.*, 2012) und andere Schadfallspezifische Faktoren, wie Lagerung und Transport der Bienenproben, sowie die Zeitdauer zwischen Schadensauftreten bis zur weiteren Ursachenanalyse zu berücksichtigen (Kasiotis *et al.*, 2014).

Da für die hochtoxischen Neonikotinoide jedoch keinerlei äußerlicher Kontakt oder Kontakt über orale Aufnahme der Wirkstoffe auftreten sollte, und im Vergleich zur ursprünglichen Exposition der Bienen nur noch deutlich geringere Rückstände in toten Bienen nachweisbar sind, ist aufgrund der beschriebenen Unsicherheiten bereits von einem ursächlichen Zusammenhang auszugehen, wenn die hochtoxischen Wirkstoffe auch nur in geringsten Spuren nachweisbar sind. In den Auswertungen der eingesandten Schadfälle in Deutschland ist daher jeder Schadfall mit Nachweis von Neonikotinoiden als ursächliche Vergiftung zu werten. Ausnahme sind einige wenige Schadfälle, in denen andere, ebenfalls toxische Insektizide in wesentlich höherer Menge nachgewiesen wurden.

5.6 Einschätzung des Risikos einer Bienenvergiftung während Raps- und Maisaussaat

Die Versuchsergebnisse der Abdriftversuche (Kap 4.1, Kap 4.2 und Kap 4.3) belegen, dass sowohl nach Aussaat von Mais, und je nach Beizqualität auch nach Aussaat von Raps Bienen Schäden in unterschiedlichem Ausmaß auftreten können. Ein solcher Schaden kann mehr oder weniger stark sein und einzelne bis tausende tote Bienen umfassen. Eine Bienenvergiftung muss sich also nicht unbedingt in einer starken Schädigung ausdrücken, sondern kann im Fall des Todes nur weniger Einzelbienen gar unerkannt bleiben.

In Versuchen mit Staubabdrift während der Aussaat von Mais wurden deutliche Effekte auf die Mortalität festgestellt. Auch die großflächigen Bienenvergiftungen 2008 wurden durch Staubabdrift während der Aussaat von Mais verursacht. Selbst die qualitativ hochwertigste Saatgutcharge in den Versuchen verursachte noch eine signifikant erhöhte Mortalität im Halbfreilandversuch. Trotz Regelungen der Beizqualität über den Heubach-Staub (HBG) traten in manchen Ländern mit entsprechenden Zulassungen Bienenvergiftungen nach Maisaussaat auf (Kap 2.1.6). Wie in den eigenen Analysen aber gezeigt wurde, kann der Wirkstoffgehalt im Heubach-Staub (HBWG) mit 7-42 % sehr stark schwanken. In eigenen Versuchen lag der HBG im Versuch mit Maisaussaat 2011 (0,45 g/100.000 Korn) und starken Effekten und auch 2012 (0,71 g/100.000 Korn) mit deutlich sichtbaren Effekten in Halbfreilandversuchen (Kap 4.1.2) unter dem Grenzwert in Österreich und Kanada von 0,75 g Staub/100.000 Korn. Eine Regulierung nur anhand des HBG ist demzufolge nicht ausreichend, um Bienenvergiftungen während der Aussaat mit Sicherheit zu verhindern. Unerlässlich ist demnach die Berücksichtigung des Wirkstoffgehalts in Stäuben und die Einführung schärferer Grenzwerte für Abriebstäube zur Vermeidung von Bienenvergiftungen beim Einsatz von Neonikotinoide. Auch andere für Bienen toxische Wirkstoffe und auch für andere Kulturen sollte die Notwendigkeit der Einführung von Grenzwerten der Beizqualität künftig überprüft werden.

Die Daten der Abdriftversuche belegen (Kap. 4.1.2), dass auch bei Aussaat von Raps mit früher üblichen Beizqualitäten ein Risiko bestanden hat. Dass Bienenvergiftungen nach Aussaat von Raps vergleichsweise schlechter Qualität unter feldrealistischen Bedingungen auftreten könnten, zeigen die eigenen Versuchsergebnisse im Halbfreilandversuch nach Rapsaussaat 2013 mit kurzzeitig und moderater, aber klar behandlungsbedingter erhöhter Mortalität. Im parallel durchgeführten Freilandversuch wurden zwar signifikante Unterschiede zur Kontrolle, jedoch keine deutlich sichtbaren Effekte festgestellt. Während es bislang eher seltener der Fall gewesen sein dürfte, dass im Herbst bei Rapsaussaat in direkter Nachbarschaft zur Saatfläche größere Flächen an blühenden bienenattraktiven Pflanzen wachsen, ist die Wahrscheinlichkeit im Frühjahr zum Zeitpunkt der Maisaussaat sehr hoch, sowohl für Kulturen wie Raps und Obst, wie auch für Wildpflanzen. Durch den vermehrten Anbau von Blühstreifen in der Landwirtschaft dank neuer Förderprogramme steigt auch das Risiko des Auftretens von im

Spätsommer blühenden Kulturen in der Nachbarschaft zur Saatfläche. Bienen können dadurch über weitere Entfernungen zu durch Beizmittelabdrift kontaminierten Blühstreifen angelockt werden. Das *Worst-Case*-Szenario der Halbfreiland-Abdriftversuche wurde angelegt, um möglichst sensitiv Effekte erfassen zu können, die Vielfältigkeit der möglichen Szenarien an Trachtsituation abzudecken und um ein Risiko eher zu über- als zu unterschätzen. Die *Worst-Case*-Situation im Halbfreiland ist folglich die geeignetere Interpretationsbasis für eine Risikoabschätzung sowie Grundlage für weiterführende Regularien, wie anhand des HBAS.

Die Erkenntnisse der Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen (Kap. 2.1.5) belegen ein tatsächlich aufgetretenes Schadensereignis. Durch die langjährigen Untersuchungen und Zusammenführung der Daten aus der gesamten Bundesrepublik können die Erkenntnisse, dass immer wieder Schäden mit Mais nachweisbar waren, keine jedoch für Raps, als Indiz in die Gesamtbetrachtung der Risiken mit einbezogen werden, selbst wenn keine verlässlichen Angaben über die genaue Repräsentativität der eingesandten Schadfälle für das gesamte Bundesgebiet beziffert werden können. Über die Jahre wurde die Mehrzahl der Schadfälle mit Nachweisen von Neonikotinoiden in Frühjahrs- und Sommermonaten festgestellt, nur sehr vereinzelt traten Schadfälle auch im Herbst auf (vgl. Kap 2.1.5). Im Zeitraum 2009-2014 trat kein Schadfall auf, bei dem ein Zusammenhang mit der Aussaat von Raps anzunehmen war. Ähnlich wie in Deutschland wurden auch in Österreich kaum Schäden im Sommer bis Spätsommer festgestellt. In 48 Bienenproben aus den Frühjahrsmonaten April bis Mai waren in 21 Proben Clothianidin, in 8 Thiamethoxam, in 6 Imidacloprid nachweisbar, in 21 Proben des Zeitraums von Juni bis September in einer Probe Clothianidin und in einer Thiamethoxam; Imidacloprid wurde in keiner Probe nachgewiesen (Girsch & Moosbeckhofer, 2012). Da auch bei Raps die Beizqualität maßgeblicher expositionsbestimmender Faktor ist, ist es wichtig, dass bei Nutzung dieser, und auch anderer für Bienen toxischer Wirkstoffe Grenzwerte und ein Schema einer Risikoabschätzung eingeführt werden sollten, um das potentielle Risiko akuter Bienenschäden mit erhöhter Mortalität zu minimieren.

Schutzziele, Risikoabschätzung und Ableitung eines Risikoprüfschemas

Durch das hohe Potential eines Bienenvolkes zur Kompensation von Verlusten einzelner Bienen und den hohen Bienenumsatz von etwa 1000-2000 Bienen pro Tag im Zeitraum von Frühjahr bis Herbst (Harbo, 1993 a,b) führt der Verlust einzelner Bienen für ein Bienenvolk zu keiner nachhaltigen Schädigung. Auch wenn Bienenvölker einzelne Schadensereignisse mit erhöhtem Totenfall verkraften können, sollte als Schutzziel nicht nur die Volksentwicklung, sondern auch die akute Mortalität in angemessenem Maß Berücksichtigung finden. In der Praxis kann eine Exposition wiederholt durch Aussaaten an verschiedenen Terminen auf verschiedenen Flächen im Flugkreis der Bienen auftreten und eine wiederholte Schädigung so zu nachhaltiger Schwächung der Bienenvölker führen. Bei höherer Mortalität über längere

Zeiträume können jedoch auch Effekte auf die Volkentwicklung auftreten und die Völker nachhaltig geschwächt werden. Bei sehr stark erhöhter Mortalität kann ein Bienenvolk auch durch ein einzelnes Schadereignis so stark geschädigt werden, dass dem Imker ein wirtschaftlicher Totalschaden entsteht (Johansen, 1979; Pistorius, 2014).

Zum Schutz von Bienen ist durch die Risikobewertung, das Risikomanagement und die Nutzen-Risiko-Abwägung im Zulassungsverfahren zu gewährleisten, dass bei Pflanzenschutzmitelanwendungen auch ein kurzzeitiger, deutlicher Anstieg der Mortalität sowie Effekte auf die Volks- und Brutentwicklung durch die Zulassungs- und Anwendungsbestimmungen verhindert werden. Andererseits kann ein nur sehr geringer Anstieg der Mortalität durch das Bienenvolk rasch kompensiert werden, so dass eine genaue Abwägung der Vertretbarkeit von Effekten stattfinden muss. Es ist davon auszugehen, dass insbesondere die hier durchgeführten Halbfreilandversuche einen Anstieg der Mortalität von Bienen sensibel erfassen. Wenn sich in den *Worst-Case*-Halbfreilandbedingungen keine Effekte zeigen, ist anzunehmen, dass auch unter Feldbedingungen keine erhöhte Mortalität von Bienen auftritt.

Die in dieser Arbeit erarbeiteten Daten können als Beitrag für eine verbesserte Risikoabschätzung für Beizungen mit Clothianidin dienen, aber auch für eine generische Betrachtung der Risiken nach Aussaat von weiteren Kulturen bzw. anderer Wirkstoffe mit berücksichtigt werden. Im EFSA *Guidance Dokument* (2013d) wird zur Abschätzung der *Worst-Case*-Exposition eine Depositionsrates in Nichtzielflächen von 5,6 % der am Saatgut je Hektar angebeizten Wirkstoffmenge für Maisaussaat ohne Deflektoren an der Sämaschine angenommen, mit diesen eine Deposition von 0,56. Daraus errechnet sich aus den hier vorliegenden Maisversuchen mit 50 und 125 g Wirkstoff Clothianidin je Hektar eine Deposition von 1,12 g bis 2,8 g as/ha, bei Verwendung von Deflektoren 0,11 bis 0,28 g as/ha.

Die eigenen Versuche haben gezeigt, dass die Werte in Petrischalen und Bestand auch bei Verwendung von Deflektoren deutlich höher lagen und Werte über 1 g as/ha erreicht wurden. Daher kann der Ansatz der EFSA die *Worst-Case*-Exposition unterschätzen. In der vorliegenden Arbeit wurde auch eine höhere Korrelation zwischen Deposition und der Kombination aus Heubach Staubmenge (HBG) und Wirkstoffgehalt (HBWG) als zur Feldaufwandmenge am Saatgut (AMW) geschlussfolgert. Eine Umstellung des Rechenansatzes scheint daher empfehlenswert. Die Umstellung auf Beizqualität analog zum *Draft Seed treatment SANCO Guidance Document* (EC, 2012) würde neue Rechenansätze bzw. eine Umarbeitung der Trigger-Werte im EFSA GD erforderlich machen. Eine Neuberechnung des bisherigen Ansatzes scheint zielführend, da neue Erkenntnisse über die Expositionsabschätzung vorliegen.

Im *Draft Seed treatment Guidance Document* (EC, 2012) wird vorgeschlagen, die potentielle Exposition in 3-D-Strukturen in Nichtzielflächen für 3 Fälle zu berechnen: wenn keine Daten vorhanden sind, Referenzwerte oder produktspezifische Werte. Für verschiedene Kulturen werden unterschiedliche Faktoren angewandt, so dass geringere oder höhere Kultur- und bei-

zungsspezifische Eigenschaften mit eingerechnet werden. Im Fall von Raps und Mais wird der HBAS mit Faktor 1,6 multipliziert, um die Deposition in Petrischalen abzuschätzen, für die Filterwirkung benachbarter Pflanzen wird nochmals der Faktor 13 angenommen. Der HBAS wird so mit dem daraus resultierenden Faktor 20,8 multipliziert, um die 3 D-PEC (Predicted Environmental Concentration), die Kontamination von benachbarten blühenden Pflanzen zu berechnen.

Auf dieser Basis kann folglich als Risikoabschätzung im ersten Schritt, eine Berechnung des Gefährdungsquotienten HQ für Stäube als *Worst Case*, analog zum HQ für Spritzungen, gesondert für die orale Toxizität und die Kontakttoxizität berechnet werden:

$$HQ_{Worst\ Case} = \text{Aufwandmenge des Wirkstoffs AWM [g as/ha]} \times LD_{50} [\mu\text{g as/Biene}]^{-1}$$

Nur für Spritzanwendungen ist der HQ mit Trigger 50 validiert: bei einer Überschreitung kann ein Risiko nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daher sind weitere, höherstufige Prüfungen für die Risikobewertung erforderlich (Thompson & Thorbahn, 2009). Im Falle von Staubabdrift von Saatgutbeizungen wird ja nur ein Teil der Beizung am Saatgutkorn abgerieben und kann verdriften. Die Berechnung des HQ *Worst Case* für Staubabdrift basiert darauf, dass die gesamte Wirkstoffmenge, die eigentlich mit dem Saatgutkorn in den Boden eingesät werden soll, nicht in den Boden gelangt, sondern wie eine Spritzung auf einer blühenden Fläche ausgebracht wird. Daher ist der HQ *Worst Case* trotz der bislang fehlenden wissenschaftlichen Absicherung als hochkonservativ einzuschätzen. Ziel einer solchen Risikoabschätzung mittels HQ *Worst Case* ist potentiell kritische von unkritischen Anwendungen zu unterscheiden. So wird für untoxische Substanzen kein überflüssiger Prüfbedarf generiert. Es wird hingegen sichergestellt, dass potentiell kritische Substanzen einer verfeinerten Betrachtung unterzogen werden und dass in höherwertigen Studien, wie den hier vorgestellten Prüfmethode, die Auswirkungen auf Bienen untersucht werden. Allerdings ist es aufgrund der höheren Effekte nach Staubpartikel- im Vergleich zu einer Spritzmittelexposition notwendig, den Trigger-Wert HQ von 50 zusätzlich mit einem Sicherheitsfaktor zu belegen und beispielsweise den Trigger-Wert HQ 10 als Schwellenwert festzusetzen, bei dessen Überschreitung eine verfeinerte Berechnung der Exposition und gegebenenfalls höherstufige Halbfreiland- und/oder Freilandprüfungen notwendig sind.

Für eine verfeinerte Risikoabschätzung könnte unter Einbeziehung der 3 D-PEC, der zur Zulassung beantragten Aufwandmenge und der tatsächlich angewandten Saatgutmenge für referenz- oder produktspezifische Werte der HQ ermittelt werden:

$$HQ_{\text{referenz/produktspezifisch}} = 3D\ PEC [g\ as/ha] \times LD_{50} [\mu\text{g as/ Biene}]^{-1} * [\text{Zur Zulassung beantragte Aussaatmenge} * \text{Referenzaussaatmenge}]^{-1}$$

In der Rechnung wird berücksichtigt, dass sich die Staubemission ändert, wenn unterschiedliche Saatgutmengen pro Fläche ausgebracht werden sollen, indem die zur Zulassung beantragte Aufwandmenge durch eine Referenzaussaatmenge dividiert wird. Im Anwendungsbeispiel bedeutet dies, dass in die Berechnung einbezogen wird, dass eine Reduktion der anzunehmenden Beizstaubexposition zu erwarten ist, wenn Heubach-Werte z.B. für 700.000 Korn/ha vorliegen, aber nur eine geringere Aussaatmenge von z.B. 500.000 Korn/ha bei hochwertigerem Saatgut ausgesät werden soll.

Anhand der berechneten 3D-PEC Wirkstoffmengen können gezielt höherstufige Prüfungen durchgeführt werden, um die Auswirkung auf Bienen experimentell zu untersuchen. Am Beispiel der eigenen Abdriftversuche bedeutet dies, dass die in Tab. 13 dargestellte 3 D-PEC Expositionen auf Basis der HBAS abgeleitet werden. Die 3-D PEC in g /as ha entspricht der Wirkstoffmenge, die mit maschineller oder manueller Applikation in Zelten oder Freilandversuchen ausgebracht werden sollte. Die in Applikationsversuchen geprüften Aufwandmengen von 0,25 g bis 1 g as/ha führten zu deutlich erhöhter Mortalität und waren ähnlich der Mortalität in den Abdriftversuchen mit Maisausaat 2012 und Rapsausaat 2011 und 2013.

Während Sgolastra et al., 2012 bei 0,05 g Clothianidin/ha mit Partikeln der Größe < 45 µm eine nur geringe, aber signifikant erhöhte Mortalität feststellte, zeigten die Versuche mit einer anderen Größenfraktion, <160 bzw. <200 µm keine Effekte bei Aufwandmenge von 0,1 g as/ha (Georgiadis *et al.*, 2012c; EFSA, 2013a&c). Somit stimmen die vorliegenden Erkenntnisse zur 3 D-PEC aus den Abdriftversuchen mit Rapsausaat 2014 und 2014/2 eher mit den Daten von Georgiadis *et al.* (2012c) überein.

Tab. 13 Berechnung der 3-D PEC in Nichtzielflächen als Basis für Versuche mit gezielter Ausbringung definierter Wirkstoffmengen

Versuch	Mais 2010	Mais 2011	Mais 2012	Raps 2011	Raps 2013	Raps 2014	Raps 2014/2
HBAS [g as/ha]	0,091	0,086	0,041	0,025	0,009	0,004	0,0009
3 D-PEC [g as/ha]	1,89	1,79	0,86	0,52	0,2	0,083	0,019

Dieser aus den Daten der eigenen Arbeit erstmalig abgeleitete Ansatz zur Validierung und zur Abschätzung von zu prüfenden Aufwandmengen muss letztendlich durch weitere Daten der Risikobewertung erweitert und gesichert werden, erörtert aber erstmalig einen Vorschlag für die Etablierung eines Prüfschemas sowie schlägt konkrete Prüfmethode zur Untersuchung der Auswirkungen von insektizider Beizstaubabdrift vor, die es in den kommenden Jahren weiterzuentwickeln gilt.

5.7 Weiterer Forschungsbedarf

Als Ausgangsbasis für die Bewertung der Verwehung von Stäuben in benachbarte Nichtzielflächen wäre es wichtig, die bisherige Datenlage zur möglichen Filterwirkung benachbarter unterschiedlicher Kultur- und Wildpflanzen, Deposition auf blühenden Pflanzen, zur Exposition und zur Wirkung und Transportkette der toxischen Beizstäube im Bienenvolk deutlich zu verbreitern. Weitere Versuche sollten die Staubabdrift bei Aussaat wichtiger weiterer Kulturpflanzen neben Mais und Raps, wie beispielsweise Getreide und Hülsenfrüchte untersuchen, da auch bei diesen Kulturen Abrieb auftritt und die Ergebnisse der eigenen Versuche nur zum Teil extrapolierbar sind. Durch die Verbesserung der Saatgutbeizqualität könnte sich die Bewertungsgrundlage auch für zurzeit aufgrund der fehlenden Datenlage kritisch eingeschätzter Kulturen ändern. Wichtig wäre eine Ausweitung der Untersuchungen zur Beizqualität und potentieller Abdrift für alle mit Neonikotinoiden saatgutbehandelten Kulturen. Für Mais derzeitiger Beizqualität konnte anhand der bisherigen Versuche keine Entlastung gezeigt werden; die bisherige Datenlage lässt keine Schlüsse zu, ob, und ab welchen Werten genau eine bienensichere Anwendung möglich ist. Dies gilt neben Mais auch für andere Kulturen wie beispielsweise Getreide, eine Kultur, für die hohe Staubabriebwerte und Staubmengen im Saatgutsack nachgewiesen wurden und für die in Deutschland daher bislang auch keine Zulassungen erteilt wurde. Neben den im öffentlichen Fokus stehenden für Bienen hochtoxischen Neonikotinoiden werden zur Saatgutbeizung auch andere, zum Teil auch für Bienen toxische Wirkstoffe eingesetzt, so dass auch für diese dringender Forschungsbedarf zu Auswirkungen und Effektschwellen besteht. Auch über andere Applikationsarten wie die Wirkstoffausbringung in Granulat-Form ist die Staubentwicklung bislang wenig erforscht und sollte ebenfalls hinsichtlich möglicher Abdrift geprüft werden.

Die in Applikationsversuchen eingesetzte Partikelfraktion kann einen erheblichen Einfluss auf die Effekte haben. Daher müsste eine genauere Differenzierung des Auftretens verschiedener Staubfraktionen und Partikelformen unter praktischen Bedingungen, mit Vergleich verschiedener Kulturen und aus Sämaschinen emittierten Stäuben erfolgen, um auch die Verwendung der optimalen Partikelgrößen für repräsentative Applikationsversuche zu klären. Auch für Abdriftversuche sind weitere Kenntnisse zu wichtigen Einflussfaktoren, wie der Bodenbeschaffenheit und Bodenfeuchtigkeit sowie dem Einfluss verschiedener Umweltbedingungen, wie verschiedenen Windbedingungen, notwendig.

Neben letalen Auswirkungen und akuter Mortalität können Bienen aber auch subletal geschädigt werden, ohne dass erhöhter Totenfall auftritt. Neben den akuten Effekten auf Mortalität von Bienen gibt es zahlreiche weitere Parameter, über die bislang wenig, insbesondere für die Exposition mit Stäuben, bekannt ist. Aufgrund der saisonalen verschiedenen Zusammensetzung von Bienenvölkern fehlt es an Daten, um die Schädigung zu verschiedenen Jahreszeiten genau beurteilen zu können. Eine Schädigung von Bienenvölkern im Herbst könnte durch

eine letale und subletale Schädigung von Winterbienen zu einer Verminderung der Überwinterungsfähigkeit und der Auswinterungsstärke führen, darüber hinaus könnten die abgearbeiteten Winterbienen im Frühjahr sensitiver reagieren. Sowohl die Ein- als auch die Auswinterungsphasen sind besonders sensible Phasen und die bestimmend für die weitere Volksentwicklung zu einem leistungsfähigen Volk im Frühjahr und somit besonders kritisch zu prüfen. Auch sollte das Kompensationspotential bei Bienenvölkern zu verschiedenen Zeitpunkten im Jahr nach einer Schädigung durch Pflanzenschutzmittel weiter untersucht werden, um möglicherweise kritischere Anwendungszeiträume von Pflanzenschutzmitteln zu identifizieren und die Prüfungen daraufhin gezielt auszurichten.

Die vorliegende Arbeit fokussiert hauptsächlich die Auswirkungen auf die Mortalität von Honigbienen. Auch die Volksentwicklung, die in den vorliegenden Versuchen mit erfasst wurde, ist ein wichtiger Parameter, da hierüber auch ein Teil der Auswirkungen sublethaler Schäden mit untersucht wird. Letztendlich konnte in den hier durchgeführten, sehr komplexen und umfangreichen Studien nur ein Teil der für Bienen potentiell relevanter Effekte untersucht werden. Dennoch sollten in künftigen Studien zu Auswirkungen einer Staubexposition auch weitere subletale Parameter, für die ein Einfluss durch Neonikotinoide bekannt ist, wie die Auswirkung auf die Orientierungsfähigkeit und Heimfindevermögen (Henry *et al.*, 2012, Fischer *et al.*, 2014) spezifisch untersucht werden.

Über die Honigbiene hinaus sind auch vergleichende Untersuchungen mit anderen kommerziell genutzten Bestäubern wie Mauerbienen oder Hummeln wünschenswert, um anhand einer verlässlicheren Datenbasis abschätzen zu können, ob, und inwiefern die Bewertung der Erkenntnisse zu den Auswirkungen auf Honigbienen auch potentiell schädigende Effekte auf andere Bienenarten abdeckt. Obwohl eine Reihe von Methoden für Laborstudien publiziert wurde (van der Steen, 2001) sind bislang keine etablierten Richtlinien für Halbfreiland- und Freilandprüfungen mit Hummelvölkern vorhanden. Mit einer Anpassung der Untersuchungsmethodik auf die für Hummeln relevanten Parameter kann die Staubexposition wie in den hier beschriebenen Abdrift- und Applikationsversuchen erfolgen. Verschiedene subletale und auch letale Effekte durch Neonikotinoide sind auch beispielsweise für die Volksentwicklung Hummeln (Rundlöff *et al.*, 2015) und Reproduktion, einschließlich der Produktion von Hummelköniginnen (Whitehorn *et al.*, 2012) und -drohnen bekannt, jedoch wurden bisher keine Studien zu den Auswirkungen von Stäuben auf Hummeln veröffentlicht. In künftigen Studien zu Auswirkungen einer Staubexposition sollten mögliche Effekte mit einer spezifischen Anpassung der Methodik auf die Biologie von Hummeln geprüft werden.

Eine breite Datenbasis zu Rückständen, mit denen Bienen in Nektar, Pollen und Kontakt auf Blüten aber auch während des Durchfliegens von Staubwolken kommen, wäre wichtig, um die Exposition von Bienen modellieren zu können und die Anzahl an aufwändigen Versuchen mit Bienenvölkern auf das notwendige Maß zu reduzieren und Ergebnisse auch auf andere

Wirkstoffe als die im Versuch geprüften extrapolieren zu können. Es fehlt ein breiterer Datensatz zu Effektschwellen und der Frage, inwiefern die Dosierungen in Applikationsversuchen in Hinblick auf eine realistische Abdrift interpretiert werden können. Auch sollte geklärt werden, inwiefern ein unterschiedliches Risiko in stark verschiedenen regional- und standortspezifischen Umwelt- und Landschaftsszenarien besteht. Es ist wichtig, dass auch Daten zu realistischen Expositionen in Gebieten mit kleinräumig verschiedenen, wie in kleinstrukturierten Regionen mit hohem Anteil von Hecken, Streuobst und anderen blühenden Kulturen, im Vergleich zu Regionen mit großen Flächen erarbeitet werden, und Modelle entwickelt werden, die diese Faktoren berücksichtigen. Neben den Auswirkungen in gezielten Versuchen müssten künftig auch Betrachtungen auf Landschaftsebene mit verschiedenen solitären und sozialen Bienenarten insbesondere auf Populationsebene erfolgen, da sich die Biologie, das Vorkommen, Sammelverhalten und die Sammelpräferenzen stark unterscheiden. In solchen Untersuchungen auf Landschaftsebene könnten auch weitere Faktoren mit berücksichtigt werden, die in gezielten Versuchen kaum zu erfassen sind und eine Über- oder Unterschätzung des Risikos der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln insgesamt zur Folge haben könnten.

6 Fazit und Ausblick

Verschiedene Ursachen können dazu führen, dass Bienen geschädigt werden. Die Schäden an Bienen reichen von subletalen Effekten auf Einzelbienen bis zum Tod des gesamten Volks. Eine Ursache für solche Schädigung von Bienen kann eine Pflanzenschutzmittelexposition sein. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass auch die Abdrift wirkstoffhaltiger Beizstäube während der Aussaat von mit Neonikotinoiden gebeiztem Saatgut einen signifikanten Einfluss auf die Mortalität von Bienen bewirken kann, aber auch, dass eine differenzierte Bewertung der Bienengefährlichkeit einzelner Anwendungen erforderlich ist.

Die gewählte Versuchsanstellung verdeutlicht die interdependenten Zusammenhänge zwischen Beizqualität, Abdrift, Rückständen in Nachbarkulturen und den Auswirkungen auf Bienen. In Abhängigkeit von der eingesetzten Beizqualität, die über die Beizmittelabriebfestigkeit sowie den Wirkstoffgehalts in Beizstäuben gemessen wird, wurden nach Maisaussaat und Abdrift teils hohe Rückstände in Nichtzielflächen und starke Auswirkungen auf Bienen, vorwiegend auf die akute Mortalität beobachtet. Allerdings waren die Völker in der Lage, den Schaden zu kompensieren und zeigten keine Effekte auf die Volksebene. Die Effekte sind auf einen Kontakt mit den Stäuben, beim Kontakt auf Pflanzen- und Blüten, und insbesondere einer hohen Rückstandsbelastung des Pollens durch aktiv oder passiv eingesammelte Partikel, aber nur in geringem Anteil auf kontaminierten Nektar zurückzuführen. Bienen können durch Aufnahme oder Kontakt mit Partikeln geschädigt werden, somit ist von Bedeutung für die Höhe der Mortalität und Auswirkungen auf das Volk, wie viele einzelne Bienen so mit Beizstaubpartikeln konfrontiert werden. Deutliche Rückstände waren in den durch Staub geschädigten toten Bienen nachweisbar, selbst in Versuchen mit besserer Beizqualität, in denen nur geringe Mortalität auftrat. Allein eine Driftreduktion bei Sämaschinen reicht für mit Neonikotinoiden gebeizten Mais bei den untersuchten Beizqualitäten nicht aus, Rückstände in Nachbarflächen soweit zu reduzieren, so dass keine Gefährdung mehr für Bienen besteht. Auch bei Aussaat von Raps können Beizmittelrückstände in Nichtzielflächen verwehen und bei höherem Abrieb Bienen schädigen. Nur über eine sehr hohe Saatgutabriebfestigkeit und die flächendeckende Einhaltung von Grenzwerten für die Abriebfestigkeit in Verbindung mit Wirkstoffgehalt der Abriebstäube kann das Risiko von Bienenvergiftungen durch Aussaat von mit biontoxischen Wirkstoffen gebeiztem Saatgut minimiert werden. Zusätzlich sollte die Sämaschinenteknik optimiert werden, so dass abgeriebene Stäube nicht mehr in die Umwelt gelangen können. Da eine vollständige Vermeidung von Abrieb und Abdrift bislang nicht erreicht wird, wurden in der vorliegenden Arbeit neuartige Prüfverfahren mit Bienenvölkern entwickelt, um Risiken und Effektschwellen genau einschätzen zu können, und daraus ein Schema für eine realistische Risikoabschätzung etablieren zu können.

Die hier vorgestellte neue Prüfmethode der Abdriftversuche ist eine praktikable, praxisnahe Lösung, mit der künftig die nach Aussaat verschiedener Beizqualität resultierenden Rückstände und Auswirkungen auf Bienen in Routineprüfungen untersucht werden können. Die *Worst-Case*-Halbfreilandversuche gewährleisten dabei, dass auch Szenarien einer hohen Exposition mit vielen blühenden Pflanzen direkt am Feltrand erfasst werden. Über eine breitere Datenbasis zu Rückständen in benachbarten Nicht-Zielflächen könnte künftig eine generische, wirkstoffunabhängige Modellierung erfolgen und so die Rückstände nach Aussaat verschiedener Kulturen und Beizqualitäten abgeschätzt werden. Mithilfe wirkstoffspezifischer Daten zu Effektschwellen, die mit der hier vorgestellten Prüfmethode mit manueller oder maschineller Applikation geprüft werden können, ließe sich dann das potentielle Risiko beim Anbau verschiedener Kulturen abschätzen, anstatt die Auswirkungen in speziellen Abdriftversuchen für jede Kultur zu untersuchen. Somit können durch die gute Reproduzierbarkeit, vergleichsweise einfachere Versuchsdurchführung und die Möglichkeit der gezielten Untersuchung von Dosis-Wirkungsbeziehungen Erkenntnisse zu letalen und subletalen Effekten generiert werden, die sonst nur unter hohem Aufwand mit einer hohen Anzahl an Abdriftversuchen zu erreichen wären. Hinsichtlich der Übertragbarkeit von Erkenntnissen aus Spritzversuchen auf die Auswirkungen von insektiziden Stäuben konnte gezeigt werden, dass Stäube bei gleicher Wirkstoffmenge je Hektar stärkere Effekte auf Bienen bewirken. Aus diesem Grund können Daten zu Spritzanwendungen nur in begrenztem Umfang direkt, beziehungsweise nur unter Berücksichtigung von Sicherheitsfaktoren für die Beurteilung der Risiken von Staubabdrift dienen. Bis weitere Kenntnisse vorliegen, ist es notwendig, dass Sicherheitsfaktoren erarbeitet und bei der Risikobewertung berücksichtigt werden, wenn keine beizstaubspezifischen Daten vorhanden sind.

Die Diskussionen um die Neonikotinoide haben weitreichende Auswirkungen auf die Prüfung der Risiken für Bienen und haben die Methodenentwicklung für bessere Prüfverfahren für Honigbienen, aber auch Hummeln und Solitärbiene maßgeblich intensiviert und beschleunigt. So wurden durch die OECD in den vergangenen zwei Jahren zwei neue Prüfrichtlinien für die Prüfung der Toxizität für Larven und der chronischen Toxizität für adulte Bienen verabschiedet. In den kommenden Jahren sind zahlreiche weitere neue Labor-, Halbfreiland- und Freiland-Testverfahren für Honigbienen und andere Bestäuber zu erwarten, die Eingang in die offiziellen, international gültigen Richtlinien finden werden. Diese neuen Methoden müssen dann in die Risikobewertungsschemen integriert werden. Dabei muss die Gratwanderung zwischen Machbarkeit und Sinnhaftigkeit von Prüfungen, konservativer Risikoabschätzung und dem Risiko unter realistischen Bedingungen aber auch der Einhaltung des Vorsorgeprinzips gemeistert werden.

In diesem derzeit diskutierten und in Überarbeitung befindlichem Ansatz des EU SANCO *Draft Seed treatment Guidance Document* (EC, 2012) könnte anhand der vorliegenden Daten

eine erste Risikoabschätzung der Auswirkungen der Staubabdrift für Bienen integriert werden. Auch wäre wünschenswert, dass das EFSA *Guidance Document* in diesem Aspekt überarbeitet werden kann und die Verfahren so angepasst werden, dass die Staubabriebmenge, der Wirkstoffgehalt in Stäuben wie auch die Saatgutmenge je Hektar berücksichtigt werden. Selbst wenn zum jetzigen Zeitpunkt nicht alle Fragen zur Staubexposition und zur Auswirkungen auf Bienen abschließend beantwortet werden können, wurden auf Basis der Vielzahl der hier vorgestellten Untersuchungen erstmalig Daten zu Rückständen und Effekten erlangt. Unter Berücksichtigung von Erkenntnissen aus Zulassungsversuchen kann auf dieser Basis eine auf dem wissenschaftlichen Kenntnisstand basierende Risikoabschätzung und Festlegung von vorläufigen Triggerwerten auf Basis der Erkenntnisse zur Mortalität erfolgen, sollte aber in Zukunft durch weitere Versuche abgesichert und durch Erkenntnissen zu subletalen Effekte ergänzt werden. Maßgeblicher Erkenntnisgewinn ist durch die zum Jahresende 2015 bis Mitte 2016 zu erwartende Neubewertung der Risiken von Saatgutbeizungen mit Neonikotinoiden für Bienen durch EFSA und die EU Mitgliedsstaaten zu erhoffen. Die hier erarbeiteten Kenntnisse können dazu beitragen, die Risiken der Abdrift während der Aussaat von Raps und Mais besser einzuschätzen zu können.

Auf Grundlage der bisherigen Erkenntnisse ist für den Expositionspfad Staubabdrift zu schlussfolgern, dass das Risiko für Bienenvergiftungen bei Einhaltung von hohen Qualitäts- und Maschinenstandards unter praktischen Bedingungen auch für Neonikotinoide in Raps gering ist. Da die Freisetzung auch sehr geringer Wirkstoffmengen aufgrund der hohen Toxizität der Wirkstoffe unterbunden werden muss, ist in höchstem Masse erstrebenswert, dass künftig grundsätzlich weniger bienengiftige Wirkstoffe durch die Industrie entwickelt werden, die diese Substanzen ersetzen können. Es ist gleichermaßen Interesse der Landwirtschaft wie der Imkerei, dass im Rapsanbau eine hohe Wirtschaftlichkeit und somit die Konkurrenzfähigkeit für die aus imkerlicher Sicht wichtige Kultur Raps erhalten bleibt. Zum heutigen Zeitpunkt muss jedoch auch bedacht werden, dass der Wegfall der Beizung häufig durch mehrfache Flächenspritzungen kompensiert wird, was mit hoher Wahrscheinlichkeit stärkere Auswirkungen auf andere Nichtzielorganismen haben wird.

Die Minimierung der Risiken von Beizstaubabdrift kann nur über gemeinsame Anstrengungen verschiedener Akteure von Industrie, Behörden und Anwendern gelingen. Die Verbesserung der Saatgutabriebsfestigkeit durch Beizanlagen muss durch eine fortlaufende Überprüfung und Verbesserung der Sämaschineintechnik mit einer Qualitätssicherung kombiniert werden. Behörden sind gefordert, geeignete Regularien zu entwickeln und Risikominimierungsmaßnahmen zu treffen. In Zusammenarbeit mit Wissenschaft und Experten für Bienenprüfungen sollten geeignete Prüfschemata und Prüfmethoden entwickelt, etabliert und validiert werden. Anwender müssen durch Schulung über die Risiken und sachgerechten Umgang mit gebeiztem Saatgut aufgeklärt werden und für die Einhaltung der Anwendungsvorschriften Sorge

tragen. Die Imker selbst können keine wirkungsvollen Gegenmaßnahmen zur Verminderung und Vermeidung einer Bienenvergiftung durch Beizmittelabdrift treffen, sollten sich aber auch nicht zu einer pauschalen und emotionalen Bewertung von Neonikotinoiden und anderen Pflanzenschutzmitteln verleiten lassen, sondern eine sachliche und vernunftbetonte Diskussion fördern. Aus gesamtgesellschaftlicher Sicht ist es wichtig, sowohl Risiken als auch Nutzen des Einsatzes von Pflanzenschutzmitteln mit Sorgfalt abzuwägen. Eine Gesamtbetrachtung muss aber auch die Auswirkungen von alternativen Pflanzenschutzmaßnahmen auf andere Organismen, über die Honigbiene hinaus, berücksichtigen.

Die Diskussion über die Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Bienen, insbesondere um die Neonikotinoide, ist hochkomplex. Abschließend ist festzuhalten, dass nur durch eine Aufklärung der spezifischen Risiken verschiedener Wirkstoffe in verschiedenen Kulturen eine angemessene Beurteilung der Risiken von Neonikotinoiden als Saatgutbeizungen erfolgen und durch Umsetzung geeigneter Maßnahmen der Schutz der Bienen so gewährleistet werden kann, dass die Bestäubung von Wild- und Kulturpflanzen, der Erhalt der Biodiversität und der Schutz aller Bienen, insbesondere aber Honigbienen, als besonders nützlichen und lebenswürdigen Insekten, gesichert bleibt.

7 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung des Risikos des Entstehens von Bienenvergiftungen durch insektizidhaltigen Staubabrieb beim Anbau von Raps und Mais.

Zur Quantifizierung der Beizstaubabdrift nach Mais- und Rapsaussaat wurde analysiert, welche Rückstände in Nichtzielgebiete und blühende Nachbarkulturen gelangen. Parallel dazu wurden die Exposition und Auswirkungen auf Bienen unter realistischen Freiland- aber auch in Halbfreilandbedingungen in einem *Worst-Case*-Szenario experimentell geprüft. Im Rahmen der Arbeit wurden neuartige, praktikable Prüfmethode mit feldrealistischer Beizstaubabdrift, manueller sowie maschineller Applikation von Beizstäuben entwickelt.

Es zeigte sich, dass die abgeriebene Menge in Verbindung mit dem Wirkstoffgehalt des abgeriebenen Beizstaubs maßgeblicher Einflussfaktor für die Exposition und Auswirkung auf Bienen ist. Im Feldrandbereich traten die höchsten Kontaminationen auf, die Deposition nahm kontinuierlich mit der Entfernung zur gesäten Fläche ab. Benachbarte Pflanzen besitzen unterschiedliche Filterwirkung, blühender Raps zeigte höhere Filterwirkung als Senf. Die Mortalität adulter Bienen ist eng korreliert mit der Beizstaubabriebfestigkeit und dem Wirkstoffgehalt der abgeriebenen Stäube. Sehr starke Mortalität adulter Bienen wurde nach Aussaat von Mais, in einzelnen Versuchen und in geringerem Umfang auch nach Rapsaussaat beobachtet. Es wurden jedoch weder Puppenmortalität noch Auswirkungen auf Volks- und Brutentwicklung festgestellt. Nektar hat nur einen geringen Anteil an der Schadwirkung, nur selten traten erhöhte Rückstände auf. Hauptursächlich für die Mortalität ist die Kontamination mit Partikeln über die Körperoberfläche und das Haarkleid sowie durch aktives oder passives Aufsammeln von Partikeln und Vermischung mit Blütenpollen. In gesammelten Pollenhöschchen sowie in Waben eingelagertem Pollen wurden oft sehr hohe Rückstände nachgewiesen. Der Verzehr von eingelagertem kontaminiertem Pollen kann zu einer über mehrere Wochen erhöhter Mortalität führen. Die teils sehr hohe Variabilität der Einzelproben lässt auf einen individuell sehr unterschiedlichen Staubpartikelanteil im Sammelgut schließen. Effekte auf die Mortalität von Bienen können unter Halbfreilandbedingungen wesentlich sensitiver erfasst werden. Bei gleicher Wirkstoffmenge bewirkt Staubexposition stärkere Effekte auf Bienen als Spritzmittelausbringung. Dies wird erklärt durch die Formstabilität und längere Oberflächenverfügbarkeit der Partikel, und begründet die Notwendigkeit einer spezifischen Risikoabschätzung für die Auswirkungen von Beizstäuben auf Bienen. Es ist unumgänglich, realistische Grenzwerte für alle relevanten Kulturen festzulegen und deren Einhaltung in der Praxis engmaschig zu kontrollieren. Die hier vorgestellten neuartigen Prüfmethode und die gewonnene Datenbasis dienen als Grundlage für weiterführende wissenschaftliche Untersuchungen und die Richtlinienentwicklung mit dem übergeordneten Ziel, ausschließlich sichere Anwendungen von Saatutbeizungen zu gewährleisten und Bienen zu schützen.

8 Literatur- und Quellenverzeichnis

Anonymous, 2011. Liste der abdriftmindernden Maissäugeräte (2009). Online in Internet: URL:http://www.jki.bund.de/no_cache/de/startseite/institute/anwendungstechnik/geraetelisten/abdriftmindernde-saegeraete.html. Abrufdatum: 30.11.2011.

Anonymous, 1933. „Anordnung zur Bekämpfung von Obstbaumschädlingen und zum Schutz der Bienen“, Mecklenburg.

Anonymous, 1938. Verordnung über das Verbot der Anwendung arsenhaltiger Pflanzenschutzmittel bei blühenden Kulturpflanzen“. Biologische Reichsanstalt (BRA).

Anonymus, 2008. Nationaler Aktionsplan zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln. BMELV Bonn, 1-32.

Anonymus, 2009. Leitfaden für die Praxis- zum Umgang mit chemisch behandeltem Z-Saatgut. Online in Internet: URL: <http://www.z-saatgut.de/service/infomaterial/fachbroschueren>. Abrufdatum: 30.11.2014.

Anonymus, 2008. Heubach-Methode. Online in Internet: URL: http://www.jki.bund.de/no_cache/de/startseite/fach-informationen/gesetzliche-aufgaben/widerstandsfahigkeit-der-kulturpflanzen/heubach-methode.html. Abrufdatum: 3.11.2009.

Aebi A., Vaissière B. E., vanEngelsdorp D., Keith S. Delaplane K. S., Roubik D. W., Neumann P., 2012. Back to the future: Apis versus non-Apis pollination—a response to Ollerton *et al.*. *Trends in Ecology and Evolution* 27 (3), 142–143.

Allen-Wardell G., Bernhardt P, Bitner R., Burquez A., Buchmann S. et al. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of crop yields. *Conserv. Biol.* 12, 8–17.

APENET, 2009. Effects of coated maize seed on honeybees- Report based on results obtained from the first year of activity of the APENET project. CRA-API, Bologna, Italy. Online in Internet: URL:<http://www.reterurale.it/apenet>. Abrufdatum: 15.6.2010

APENET, 2010. Effects of coated maize seed on honeybees- Report based on results obtained from the second year (2010) activity of the APENET project. CRA-API, Bologna, Italy.). Online in Internet: URL:<http://www.reterurale.it/apenet>. Abrufdatum: 23.5.2011

APENET, 2011. Effects of coated maize seed on honeybees- Report based on results obtained from the third year (2011) activity of the APENET project. CRA-API, Bologna, Italy.). Online in Internet: URL: <http://www.reterurale.it/apenet>. Abrufdatum: 26.1.2012

Bahmer R., Glas M., Schmidt K., 2014. Erarbeitung der fachlichen Grundlagen für ein Prüfverfahren für Sähgeräte mit verminderter Abdrift von Beizstäuben. *Julius-Kühn-Archiv*, 444, 80-89.

Baufeld P., Enzian S., 2005: Maize Growing, maize high-risk areas and potential yield losses due to Western Corn Rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*) damage in selected European

- countries. In: *Western Corn Rootworm: Ecology and Management*. Eds. Vidal S., Kuhlmann U., Edwards C.R., CABI Publishing, 285-303.
- Baufeld P., Unger J. G., Heimbach U., 2006: Ein bedeutender Quarantäneschädling im Mais: Westlicher Maiswurzelbohrer *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. Informationsblatt der BBA.
- BBZ (Badische Bauernzeitung), 2014. Maiswurzelbohrer breitet sich in Baden nicht weiter aus. 5. November 2014.). Online in Internet: URL: <http://www.badische-bauernzeitung.de/der-maiswurzelbohrer-breitet-sich-in-baden-bislang-nicht-weiter-aus>. Abrufdatum: 15.4.2015.
- Biocca M., Pochi D., Fanigliulo R., Gallo P., 2015. Dust Emissions During the Sowing of Maize Dressed Seeds and Drift Reducing Devices. *The Open Agriculture Journal*, 9, 42-47.
- Blacquiere T., Smagghe G., Van Gestel C., Mommaerts V., Neonicotinoids in bees, 2012. A review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* 21:1581.
- Bortolotti L., Montanari R., Marcelino J., Medrzyki 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 (1): 63-67.
- Bortolotti L., Sabatini A. G., Mutinelli F., Astuti M., Lavazza A., Piro R., Tesoriero D., Medrzycki P., Sgolastra F., Porrini C. (2009). Spring bee losses in Italy. *Julius-Kühn-Archiv* 423. 148-152.
- Bommarco R., Lundin O., Smith H., & Rundlöf M., 2012. Drastic historic shifts in bumblebee community composition in Sweden. *Proc. R. Soc. B.* 279, 309–315.
- Borchert, A., 1929. Über die Giftigkeit einiger Pflanzenschutzmittel (Arsenpräparate und Fluornatrium) für die Bienen. *Archiv für Bienenkunde* 10, 1, 1-33.
- Bowker G. E., Crenshaw H. C., 2007. Electrostatic forces in windpollination— Part 2: Simulations of pollen capture. *Atmos Environ*; 41 (8): 1596-603.
- Brasse D., 1999. Overview about the poisoning incidents in honeybee populations and their clarification in Germany 1996-1998. In: *Hazards of Pesticides to Bees* ed. Belzunces, LP, Pelissier, C, and Lewis, GB, Avignon France, *INRA Les Colloques*, 98, 141-147.
- Brasse, 2007. Der Arbeitsbereich Bienenschutz in der Geschichte der BBA. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch.* 410, 14-24.
- Breeze T. D., Vaissière B. E., Bommarco R., Petanidou T., Seraphides N., et al., 2014. Agricultural Policies Exacerbate Honeybee Pollination Service Supply-Demand Mismatches Across Europe. *PLoS ONE* 9(1): e82996.
- Brittain C. A., Potts S. G., 2011. The Potential Impacts of Insecticides on the Life-History Traits of Bees and the Consequences for Pollination. *Basic and Applied Ecology*. doi: 10.1016/j.baae.2010.12.004, 1-11.
- Bromenshenk J. J., Cronn R. C., Nugent J. J., 1996. Monitoring with fluoride with honey bees in the upper Snake River Plain of Idaho. *J. Chem. Ecol.*, 25, 868-877.

- Bommarco R., Marini L., Vaissière B. E. 2012b Insect pollination enhances seed yield, quality, and market value in oilseed rape. *Oecologia* 169, 1025-1032.
- Büdel A., 1948; Der Wasserdampfhaushalt im Bienenstock. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 31: 249-273.
- BVL 2008, Sachstandsbericht zu den Bienenvergiftungen durch insektizide Saatgutbehandlungsmittel in Süddeutschland im Jahr 2008 BVL-Reporte, Band 4, Heft 1.
- BVL, Berichte des Pflanzenschutzmittelkontrollprogramms 2009-2013. Online in Internet: URL:http://www.bvl.bund.de/DE/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/06_Pflanzenschutzmittelkontrollprogramm/psm_Pflanzenschutzmittelkontrollprogramm_node.html. Abrufdatum: 1.12.2014
- Carvalho L. G., Kunin W. E., Keil P., Aguirre-Gutiérrez J, Ellis W. N. *et al.*, 2013. Species richness declines and biotic homogenisation have slowed down for NW-European pollinators and plants. *Ecology Letters* 16: 870–878.
- Celli G., Maccagnani B., 2003. Bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology* 56, 137–139.
- Claudianos C., Ranson H., Johnson R. M., Biswas S, Schuler M. A., Berenbaum M. R., Feyereisen R., Oakeshott J. G., 2006. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honey bee. *Insect Mol Biol* 15:615–636.
- Connell J. U., Glynne Jones G. D., 1953. Observations on the Entry of Dusts into the Respiratory System of the Adult Worker Honey Bee, *Apis mellifera* L. *Bulletin of Entomological Research*, 44, 291-298.
- Couvillion M. J., Ridell Pearce F. C., Accleton C., Fensome K. A., Quah S. K. L, Taylor E.L., Ratnieks F. L. W., 2015. Honey bee foraging distance depends on month and forage type. *Apidologie* 46:61–70.
- Corbet S. A., Fussell M., Ake R., Fraser A., Gunson C., Savage A., Smith K., 1993: Temperature and the pollinating activity of social bees. *Entomological Ecology*, 18, p. 17-30.
- Cresswell J. E., 2011. A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology* 20:149–157.
- Cresswell J. E., Page C., Uygun M., Holmbergh M., Li Y., Wheeler J. *et al.*, 2012. Differential sensitivity of honey bees and bumble bees to a dietary insecticide (imidacloprid). *Zoology* 115:365–371.
- Cresswell J. E., Robert F. X. L., Florance H., Smirnoff N., 2014. Clearance of ingested neonicotinoid pesticide (Imidacloprid) in honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus terrestris*). *Pest Manag Sci*, 70:332 – 337.
- Cutler C. G., Scott-Dupree C. D., Drexler D. M., 2013. Honey bees, neonicotinoids and bee incident reports: the Canadian situation. *Pest Management Science* 70:779-783.
- Davis A. R., 1989. The study of insecticide poisoning of honeybee brood. *Bee World* 70, 163-174.

- Devarrewaere W., Foqué D., Verboven P., Nuyttens D., Nicolai B., 2014. Modelling dust distribution from static pneumatic sowing machines. *Aspects of Applied Biology* 122: 95-101.
- Decourtye A., Devillers J., Cluzeau S., Charreton M., Pham-Delegue M. H., 2004a. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 410-419.
- Decourtye A., Armengaud C., Renou M., Devillers J., Cluzeau S., Gauthier M., Pham-Delegue M. H., 2004b. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 78: 83-92.
- Decourtye A., Devillers J., Genecque E., Le Menach K., Budzinski H., Cluzeau S., Pham-Delegue M. H., 2005. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48: 242-250.
- DMK (Deutsches Maiskomitee), 2014. Maisaussaat. Online in Internet: URL: <http://www.maiskomitee.de/web/public/Produktion.aspx/Saatgut/Aussaat.html> Abrufdatum: 13.2.2014.
- EC (European Commission), 2010. Commission Directive 2010/21/EU of 12 March 2010 amending Annex I to Council Directive 91/414/EEC as regards the specific provisions relating to clothianidin, thiamethoxam, fipronil and Imidacloprid. *Official Journal of the European Union* L 65/27-L65/30.
- EC (European Commission), 2013: Commission implementing regulation (EU) No 485/2013 of 24 May 2013 amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances. *Official Journal of the European Union* 139, 12-26.
- EC, 2012. Draft Authorisation of Plant Protection Products for Seed Treatment, SANCO/10553/2012 Ref. 1. Plantum I-14-1712.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY), 2012a. Scientific opinion on the science behind the development of a risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* 2012, 10 (5): 2668.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY), 2012b. Statement on the assessment of the scientific information from the Italian project “APENET” investigating effects on honeybees of coated maize seeds with some neonicotinoids and fipronil. *EFSA Journal* 2012;10 (6):2792. [26 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2792.
- EFSA, 2013a. Conclusion on peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin.- *EFSA Journal*, 11(1), 3066 pp.
- EFSA, 2013b. Conclusion on peer review of the risk assessment for bees for the active substance imidacloprid.- *EFSA Journal*, 11(1), 3068 pp.
- EFSA, 2013c. Conclusion on the peer review of the risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam.- *EFSA Journal*, 11(1), 3067 pp.

- EFSA, 2013d. EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* 2013;11(7): 3295 pp.
- Elbert A., Haas M., Springer B., Thielert W., Nauen R., 2008. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science* 64: 1099-1105.
- Ellis M. B., 2008: Homeostasis: Humidity and water relations in honey bee colonies (*Apis mellifera*). Dissertation. University of Pretoria. Online in Internet: URL: <http://upetd.up.ac.za/thesis/submitted/etd-10022009-135223/unrestricted/dissertation.pdf>. Abrufdatum: 2.1.2015.
- EPA, 2014. Guidance for Assessing Pesticide Risk to Bees.). Online in Internet: URL: <http://www2.epa.gov/pollinator-protection/pollinator-risk-assessment-guidance>. Abrufdatum: 13.4.2015
- Fent G., 2011. Non-Target Ground Deposition of Dust Resulting from Sowing Pesticide Treated Seeds - Evaluation and Analysis of Current Experimental Datasets to Establish Dust Deposition Tables. RLP AgroScience GmbH; Institute for AgroEcology; 67435 Neustadt; Germany, 75 Seiten, unveröffentlichter Bericht.
- Fischer J., Müller T., Spatz A. K., Greggers U., Grünewald B., et al. (2014) Neonicotinoids Interfere with Specific Components of Navigation in Honeybees. *PLoS ONE* 9(3): e91364. doi:10.1371/journal.pone.0091364.
- Forster R., 2009. Bee poisoning caused by insecticidal seed treatment of maize in Germany in 2008. *Julius- Kühn – Archiv* 423, 126–130.
- Forster R., Giffard H., Heimbach U., Laporte J.-M., Lückmann J., Nikolakis A., Pistorius J., Vergnet, C.: ICPBR-Working Group Risks posed by dusts: overview of the area and recommendations. In Hazards of pesticides to bees, 11th International Symposium (ICPBR), Netherlands 2011, (Omen, P.A.; Thompson, H. eds.) *Julius-Kühn-Archiv* 437, 191 - 198, 2012.
- Foqué D., Devarraewaere W., Verboven P., Nuyttens D., 2014a. Characterisation of different pneumatic sowing machines. *Aspects of Applied Biology* 122, 2014, p. 77-84.
- Foqué D., Devarraewaere W., Verboven P., Nuyttens D., 2014b. Physical and chemical characteristics of abraded seed coating particles. *Aspects of Applied Biology* 122, 2014, p. 85-94.
- Foltin K., 2009: Was tun, wenn er da ist? Ein Erfahrungsbericht aus Österreich. In: *Diabrotica – Biologie – Schadpotential – Bekämpfung, Zeitschrift DMK*, 26-31.
- Free J. B., Spencer-Booth Y. (1959). The longevity of worker honey bees. *Proc. R. Ent. Soc. London (A)* 34: 141-150.
- Free J. B., Racey P. A., 1968. The effect of the size of honeybee colonies on food consumption, brood rearing and the longevity of the bees during winter. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 11 (2), 241–249.
- Gallai N., Salles J., Settele J., Vaissière B., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68, 810-821.
- Garratt M. P. D., Breeze T., Jenner N., Polce C., Biesmeijer J. C., Potts S.G., 2014. Avoiding a bad apple: insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agriculture Ecosystems & Environment* 184, 34-40.

- Garratt M. P. D., Truslove C. L., Coston D. J., Evans R. L., Moss E. D., Dodson C., Jenner N., Biesmeijer J. C., Potts S.G. 2014. Pollination deficits in UK apple orchards. *Journal of Pollination Ecology* 12, 9-14.
- Gary N. E., 1960. A trap to quantitatively recover dead and abnormal bees from the hive, *J. Econ. Entomol.* 53, 782–785.
- Genersch E., von der Ohe W., Kaatz H., Schroeder A., Otten C. et al., 2010. The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie* 41, 332-352.
- Georgiadis P.-Th., Pistorius J., Heimbach U., Stähler M., Schwabe, K., 2012a. Dust drift during sowing of maize - effects on honey bees. *Julius-Kühn-Archiv* 437, 134-139.
- Georgiadis P.-Th., Pistorius J., Heimbach U., Stähler M., Schwabe K., 2012b. Dust drift during sowing of winter oil seed rape - effects on honey bees. *Julius-Kühn-Archiv* 437, 140.
- Georgiadis P.-T., Pistorius J., Heimbach U., Stähler M., 2012c. Manuelle Applikation von insektizidhaltigen Beizstäuben in Halbfreilandversuchen mit Honigbienen. *Julius-Kühn-Archiv*. 438, 465.
- Georgiadis P.-T., Pistorius J., Heimbach U., Stähler M., 2014. Manual application of insecticidal dust in semi-field experiments with honey bees. *Julius-Kühn-Archiv* 444, 102.
- Girsch L., Moosbeckhofer R., 2012. Untersuchungen zum Auftreten von Bienenverlusten in Mais- und Rapsanbaugebieten Österreichs und möglicher Zusammenhänge mit Bienenkrankheiten und dem Einsatz von Pflanzenschutzmitteln. Abschlussbericht (Dafne Proj. Nr. 100472). Online in Internet: URL: https://www.dafne.at/dafne_plus_homepage/download.php?t=ProjectReportAttachment&k=2661. Abrufdatum: 3.2.2013
- Giffard H., Dupont T., 2009. A methodology to assess the impact on bees of dust from coated seeds. *Julius-Kühn-Archiv* 423, 73-75.
- Girolami V., Marzaro M., Vivan L., Giorio C., Marton D. Tapparo A., 2012. Aerial powdering of bees inside mobile cages and the extent of the neonicotinoid cloud surrounding corn drillers. *Journal of Applied Entomology* 137, 35–44.
- Godfray H. C. J., Blacquiere T., Field L. M., Hails R. S., Petrokofsky G., Potts S. G., Raine N. E., Vanbergen A. J., McLean A. R., 2014. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 281, 20140558.
- Götze G., 1929. Inwieweit wird die Bienezucht durch die Verwendung zuckerhaltiger Pflanzenschutzmittel gefährdet? *Anzeiger für Schädlingskunde* 5, 73-75.
- Goulson D., 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology* 50 (4), 977-987.
- Greatti M., Barbattini R., Stravisi A., Sabatini A.G., S. Rossi S., 2006. Presence of the a.s. imidacloprid on vegetation near corn fields sown with Gaucho® dressed seeds. *Bulletin of Insectology* 59 (2): 99-103.

- Greatti M., Sabatini A. G., Barbattini R., Rossi S., Stravisi A., 2003. Risk of environmental contamination by active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing. Preliminary results. *Bulletin of Insectology* 59, 69-72.
- Greig-Smith P. W., Thompson H. M., Hardy A. R., Bew M. H., Findlay E., Stevenson J. H., 1994. Incidents of poisoning of honeybees (*Apis mellifera*) by agricultural pesticides in Great Britain 1981-1991. *Crop Protection* 13: 567-581.
- Harbo J.R. 1993a. Worker-Bee Crowding Affects Brood Production, Honey Production, and Longevity of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 86(6): 1672-1678.
- Harbo J.R. 1993b. Effect of brood rearing on honey consumption and the survival of worker honey bees. *J. apic. Res.* 32(1): 11-17.
- Harmut P., 2008. Pflanzliche Erzeugung, *Landinfo* 2/2008.
- Hartmann P., 2012. Ergebnisse zu Saatgutprüfung, Verwendungshäufigkeit und aktuelle Entwicklung. MELISSA 2009 - 2012: Projektabschlussgespräch 16.03.2012. Online in Internet: URL: http://www.ages.at/fileadmin/migrated/content_uploads/Hartmann_MELISSA_Abruebuntersuchung_Saatgut.pdf. Abrufdatum: 26.11.2012
- Heimbach U., 2008. Heubach Method to Determine the Particulate Matter of Maize Seeds Treated with Insecticides. Online in Internet: URL: <http://www.jki.bund.de/heubachen.html> Abrufdatum 18.12.2011.
- Heimbach U., Stähler M., Schwabe K., Schenke D., Pistorius J., Georgiadis P.-TH., 2014. Emission of pesticides during drilling and deposition in adjacent areas. *Julius-Kühn-Archiv* 444, 68-75.
- Heimbach U., Stähler M., Schwabe K., Schenke D., Rautmann D., Pistorius J., 2010.- Insecticidal Dust drift during sowing – reasons and mitigation strategies.- SETAC Europe. 20th Annual Meeting 23-27 May 2010 Extended Abstracts 2010, 639-640.
- Heimbach U., Stähler M., Schwabe K., Pistorius J., Schenke D., Georgiadis P.-T., 2012. Abdrift von wirkstoffhaltigen Stäuben bei der Saat – Mehrjährige Daten aus Raps- und Maisausaat. *Julius-Kühn-Archiv* 438, 105-106.
- Heimbach U., Brandes M. 2015. Ohne Neonikotinoide klarkommen. *Land & Forst* Nr. 13, 26. März 2015, S.24-26.
- Henry M., Béguin M., Requier F., Rollin O., Odoux J.-F., Aupinel P. et al., 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336, 348–350.
- Hilgendorff G., Borchert A., 1926. Über die Empfindlichkeit der Bienen gegen Arsenstäubemittel. *Anzeiger für Schädlingskunde* 6, 37-38.
- Hoehn P., Tschardt T., Tylianakis J.M., Steffan-Dewenter I., 2008 Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275, 2283-2291.
- Illies I., Mühlen W., Dücker G., 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, 315-326.

- Imdorf A., Buehlmann G., Gerig L., Kilchenmann V., Wille H., 1987. Überprüfung der Schätzmethode zur Ermittlung der Brutfläche und der Anzahl Arbeiterinnen in frei-fliegenden Bienenvölkern. *Apidologie* 18 (2), 137-146.
- Iwasa T., Motoyama N., Ambrose J. T., Roe R. M., 2004. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* 23, 371–378.
- Jeker L., Schmid L., Meschberger T., Candolfi M., Pudenz S., Magyar J.P., 2012. Computer-assisted digital image analysis and evaluation of brood development in honey bee combs. *Journal of Apicultural Research* 51(1), 63-73.
- Jeschke P., Uneme H., Benet-Buchholz J., Stölting J., Sirges W., Beck M. E., Etzel W., 2003. Clothianidin (Ti-435, Poncho®). *Pflanzenschutz-Nachr Bayer* 56: 5-25.
- Jeschke P., Nauen R., 2008. Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Manag Sci* 64(11):1084-1098.
- Jeschke P., Nauen R., Schindeler M., Elbert A., 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 2897-2908.
- Johanson, C. A., 1979. Honey Bee Poisoning by Chemicals: Signs, Contributing Factors, Current Problems and Prevention. *Bee World* 60 (3): 109-127.
- Johnson R. M., Dahlgren L., Siegfried B. D., Ellis M. D., 2013. Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 8(1): e54092 doi:10.1371/journal.pone.0054092.
- Kasiotis K. M., Anagnostopoulos C., Anastasiadou P., Machera K., 2014. Pesticide residues in honeybees, honey and pollen by LC-MS/MS screening: Reported death incidents in honey bees. *Science of the Total Environment* 485-486, 633-642.
- Kevan P. G., 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment; species activity and diversity. *Agricult. Ecosystem Environ.* 77, 373-393.
- Klein O., 2003. Behaviour of Clothianidin (Ti-425) in plants and animals- *Pflanzenschutz-Nachr Bayer* 56: 75-102.
- Klein A. M., Vaissière B. E., Cane J. H., Steffan--Dewenter I., Cunningham S. A., Kremen C., Tscharntke T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274, 303-313.
- Krupke C. H., Hunt G. J., Eitzer B. D., Andino G., Given K., 2012. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLoS ONE* 7, e29268, 1-8.. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0029268>. Abrufdatum: 18 Dec 2012.
- 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.
- Lazzaro L., Otto S. and Zanin G., 2008. Role of hedgerows in intercepting spray drift: evaluation and modelling of the effects. *Agric Ecosyst. Environ* 123, 317–327.

- Leonhardt S. D., Gallai N., Garibaldi L. A., Kuhlmann M., Klein A. M. 2013. Economic gain, stability of pollination and bee diversity decrease from southern to northern Europe. *Basic and Applied Ecology* 14, 461--471 .
- Liebig G., 2002. Über das Lebensalter der Bienen. *Deutsches Bienen Journal*. 2/2002: 4-6.
- Liebig G., Kustermann Th. & de Craigher D., 2008. Bienenmonitoring während und nach der Maisblüte im Rheintal 2008. Unveröffentlichter Bericht.
- Longeley M., Tamer C., Jepson P.C., Sotherton N. W., 1997. Meseasurements of Pesticide Spray Drift Deposition into Field Boundaries and Hedgerows: 1. Summer Applications. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 16, No. 2, pp. 165–172, 1997.
- Mandl und Sukopp 2011. Bestäubungshandbuch. Online in Internet: URL: <http://www.bestaeubungshandbuch.at/Bestaubungshandbuch01.pdf>. Abrufdatum 7.2.2013
- Mantinger H. 1998. Die Biene im Dienste des Obstbaues - volkswirtschaftlicher Nutzen. Vortrag am 80. Kongress deutschsprachiger Imker vom 14. bis 16. August, Luzern.
- Marzaro M., Vivan L., Targa A., Mazzon L., Mori N., Greatti M., Petrucco Toffolo E., Di Bernardo A., Giorio C., Marton D., Tapparo A., Girolami V., 2011. Lethal aerial powdering of honey bees with neonicotinoidi from fragments of maize seed coat. *Bulletin of Insectology* 64, 118-125.
- Matsumoto T., 2013. Short-and long term effects of neonicotinoid application in rice fields, on the mortality and colony collapse of honey bees (*Apis mellifera*). *Journal Apicultural science* 57 (2), 21-35.
- Mullin C. A., Frazier M., Frazier J. L., Ashcraft S., Simonds R., vanEngelsdorp D., Pettis J. S., 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health, PLoS One. Online in Internet: URL: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0009754>. Abrufdatum: 18.11.2010. .
- MLR, 2008. *Abschlussbericht des MLR über Beizung und Bienenschäden.*- Ministerium für Ernährung und Ländlichen Raum Baden-Württemberg, Stuttgart, pp. 22-28. Online in Internet: URL http://www.mlr.baden-wuerttemberg.de/mlr/allgemein/Abschlussbericht_Bienenschaden.pdf. Abrufdatum 13.3.2012.
- Nauen R., Ebbinghaus-Kintscher U., Schmuck R., 2001. Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Pest Manag Sci* 57(7):577-586. DOI:10.1002/ps.331.
- Nikolakis A., Chapple A., Friessleben R., Neumann P., Schad T., Schmuck R., Schnier H.F., Schnorbach H.J., Schöning R., Maus C., 2009. An effective risk management approach to prevent bee damage due to the emission of abraded seed treatment particles during sowing of seeds treated with bee toxic insecticides. *Julius-Kühn-Archiv* 423, 2009, 132-148.
- Nuyttens D., Devarrewaere W., Verboven P., Foque D., 2013. Pesticide-laden dust emission and drift from treated seeds during seed drilling: a review. *Pest Manag Sci*, DOI 10.1002/ps.3485.

- Nguyen B. K., Mignon J., Laget D., De Graaf D. C., Jacobs F. J., VanEngelsdorp D., Brostaux Y., Saegerman C., Haubruge E. 2010. Honey bee colony losses in Belgium during the 2008-9 winter. *Journal of Apicultural Research* 49, 337-339.
- OECD, 2006: Current Approaches in the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data: A Guidance to Application. Guideline 54, ENV/JM/MONO (2006) 18, 1-148.
- OECD, 1998. Guideline for testing of chemicals. Honeybees. Acute oral toxicity test. OECD 213, 1-8.
- OECD, 1998. Guideline for testing of chemicals. Honeybees. Acute contact toxicity test. OECD 214, 1-7.
- Oomen P. A., 1999: Honeybee poisoning incidents over the last ten years, as reported by beekeepers in the Netherlands. In: *Hazards of Pesticides to Bees* ed. Belzunces, LP, Pelissier, C, and Lewis, GB, Avignon France, *INRA Les Colloques*, 98, 129-135.
- Paracelsus T., 1538. *Septem Defensiones* 1538. In: Theophrast Paracelsus: Werke. Bd. 2, Darmstadt 1965, S. 508-513.
- Pernal S. F., Currie R. W., 2002. Discrimination and preferences for pollen-based cues by foraging honeybees *Apis mellifera* L.. *Animal behaviour*, 63, 369-390.
- Pettis J., Tornier I., Clook M., Wallner K., Vassière B. *et al.*, 2014. Assessing Effects through semi-Field And Field toxicity testing. In: *Pesticide Risk Assessment for Pollinators* (eds D. Fischer and T. Moriarty), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9781118852408.ch4.
- Pistorius J., Bischoff G., Heimbach U., Stähler M., 2009. Bee poisoning incidents in Germany in spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize. *Julius-Kühn-Archiv* 423, 118-126.
- Pistorius J., Georgiadis P.-T., Stähler M., Heimbach U., Schwabe K., 2010. Drift von insektizidhaltigen Stäuben auf blühende Bienenweidepflanzen - Expositionsabschätzung und Versuche zu letalen und subletalen Effekten auf Bienen und Bienenvölker. *Julius-Kühn-Archiv* 428, 79.
- Pistorius J., Becker R., Lückmann J., Schur A., Barth M., Jeker L., Schmitzer S., von der Ohe W., 2012. Effectiveness of method improvements to reduce variability of brood termination rate in honey bee brood studies under semi-field conditions. *Hazards of pesticides to bees (ICPBR), Netherlands 2011, Julius-Kühn-Archiv* 437, 115-121.
- Pistorius J., Brobyn T., Campbell P., Forster R., Lorsch J.-A., Marolleau F., Maus C., Lückmann J., Suzuki H., Wallner K., Becker R., 2012. Assessment of risks to honey bees posed by guttation. *Julius-Kühn-Archiv* 437, 199-209.
- Pistorius J., 2014. Bee poisoning incidents. In: *Bee health and veterinarians* (Ed. W. Ritter). OIE [World Organisation for Animal Health]: 181-186.
- Pistorius J., Wehner A., Kriszan M., Bargaen H., Knäbe S., Klein O., Frommberger M., Stähler M., Heimbach U., 2015. Application of predefined doses of neonicotinoid containing dusts in field trials and acute effects on honey bees. *Bulletin of Insectology* 68 (2): 161-172.

- PMRA (Health Canada Pest Management Regulatory Agency), 2013. Evaluation of Canadian Bee Mortalities Coinciding with Corn Planting in Spring 2012. Submission Number 2012-1478 Online in Internet: URL: http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/pest/_decision_s/bee_corn-mort-abeille_mais/index-eng.php. Abrufdatum: 25.10.2013.
- PMRA (Health Canada Pest Management Regulatory Agency), 2014. Online in Internet: URL: http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/pest/_fact-fiche/bee_mortality-mortalite_abeille-eng.php. Abrufdatum: 25.7.2015.
- PMRA (Health Canada Pest Management Regulatory Agency), 2015. Online in Internet: URL: http://www.honeycouncil.ca/images2/pdfs/2015-07-15_PMRA_Incident_Update.pdf. Abrufdatum: 25.7.2015.
- Pochi D., Biocca M., Fanigliulo R., Pulcini P., Conta E., 2012.- Potential exposure of bees, *Apis mellifera* L., to particulate matter and pesticides derived from seed dressing during maize sowing.- *Bulletin Environmental Contamination Toxicology* 89 (2), 354-361.
- Porrini C., Sabatini, A. G., Girotti, S., Fini F., Monaco L., Celli G., Bortolotti L., Ghini S., 2003. The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators. *Bulletin of Insectology* 56 (1): 147-152.
- Prier K. R. S., Lighthard B., Bromenshenk J. J., 2001. Adsorption of Aerolized Spores (*Bacillus subtilis* Variety niger) Onto Free Flying Honey Bees (Hymenoptera: Apidae and its Validation). *Environmental Entomology* 30, 1188-1192..
- Rautmann D., Osteroth, H.-J., Herbst, A., Wehmann, H.-J., Ganzelmeier H., 2009.- Prüfung abdriftmindernder Säegeräte.-*Journal für Kulturpflanzen* 61(5), 153-160.
- Rortais A., Arnold G., Halm M. P., 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* 36, 71–83.
- Rosenkranz P., Wallner K., 2009. The chronology of honey bee losses in the Rhine Valley during spring 2008: an example of worst case scenario. *Proceedings of the Third European Conference of Apidologie*, Dublin, Ireland, 7-11 September 2008, 94-95.
- Rueppell O., Hayworth M. K., Ross N. P., 2010. Altruistic self-removal of health compromised honey bee workers from their hive. *J. Evol. Biol.* 23, 1538-1546.
- Russell S., Barron A.B. Harris D., 2013. Dynamic modelling of honey bee (*Apis mellifera*) colony growth and failure. *Ecological Modelling* 265, 158– 169.
- Riedl H., Johanson E., Brewer L., Barbour J., 2006. How to reduce Bee Poisoning form Pesticides. Oregon State University, Corvallis, OR. PNW 591. Online in Internet: URL: <http://extension.oregonstate.edu/catalog/pdf/pnw/pnw591.pdf>. Abrufdatum: 10.12.2011.
- Roberts R. B., Vallespier S. R., 1978. Specialisation of hairs bearing pollen and oil on the legs of bees (Apoidea:Hymenoptera). *Annals of the Etomlogiocal society of America*, 71, 619-627.
- Sánchez-Bayo F, Goka K., 2014. Pesticide residues and bees – A risk assessment. *PLoS ONE* 9: 4. e94482.

- Schmuck R., Keppler J., 2003. Clothianidin – Ecotoxicological profile and risk assessment. *Pflanzenschutz-Nachr Bayer* 56, 26-5.
- Schneider C. W., 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. doi: 10.1371/journal.pone.0030023.
- Schwabe K., Kunert A., Heimbach U., Zellner M., Baufeld P., Grabenweger G., 2010. Der Westliche Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) – eine Gefahr für den europäischen Maisanbau. *Journal für Kulturpflanzen* 62 (8), 277–286.
- Seefeld F., 2006. Chemical detection of damage to honeybees caused by pesticides. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 58, 59-66.
- Sgolastra F, Renzi T, Draghetti S, Medrzycki P, Lodesani M, Maini S, Porrini C., 2012. Effects of neonicotinoid dust from maize seed dressing on honey bees. *Bulletin of Insectology* 65 (2), 273-280.
- Sprengel C. K., 1793: Das entdeckte Geheimniss der Natur im Bau und in der Befruchtung der Blumen. – Berlin.
- Statistisches Bundesamt, 2014. Zur Ernte 2015: Mehr Weizen und Gerste, weniger Raps. dpa, vom 19.12.2014, 08:04:00, Online in Internet: <http://www.destatis.de/presseaktuell>. Abrufdatum: 21.12.2014.
- Tapparo A., Marton D., Giorio C., Zanella A., Soldà L., Marzaro M., Vivan L., Girolami V., 2012.- Assessment of the environmental exposure of honeybees to particulate matter containing neonicotinoid insecticides coming from corn coated seeds.- *Environmental Science and Technology* 46, 2592-2599.
- Thompson H., 2003. Behavioral effects of pesticides in bees. Their potential use in risk assessment. *Ecotoxicology* 12, 317–330.
- Thompson H.M., Maus C., 2007. The relevance of sublethal effects in honey bee testing for pesticide risk assessment. *Pest Management Science* 63: 1058-1061.
- Thompson H.M., Thorbahn D., 2009. Review of honeybee pesticide poisoning incidents in Europe - evaluation of the hazard quotient approach for risk assessment. *Julius-Kühn-Archiv* 423, 103-108.
- Tomizawa M., Casida J.E., 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual review of Entomology* 48, 339-364.
- Tremolada P., Mazzoleni M., Saliu F., Colombo M, Vighi M., 2010. Field trial for evaluating the effects on honeybees of corn sown using Cruiser ® and Celest xl ® treated seeds. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology* 85, 229–234.
- Trenkle A., 2008. Chemische Untersuchungen auf bienentoxische Substanzen, *Abschlussbericht des MLR über Beizung und Bienenschäden*. Ministerium für Ernährung und Ländlichen Raum Baden-Württemberg, Stuttgart, pp. 22-28. Online in Internet: URL: http://www.mlr.baden-wuerttemberg.de/mlr/allgemein/Abschlussbericht_Bienenschaeden.pdf. Abrufdatum: 13 März 2012.

- van der Steen J.J. M., 2001. Review of the methods to determine the hazard and toxicity of pesticides to bumblebees. *Apidologie* 32, 399-406.
- VanEngelsdorp D., Hayes J. J., Underwood R.M., Caron D., Pettis J., 2011. A survey of managed honey bee colony losses in the USA, fall 2009 to winter 2010. *Journal of Apicultural Research* 50, 1-10.
- VanEngelsdorp D., Caron D., Hayes J., Underwood R., Henson M., Rennich K., Spleen A., Andree M., Snyder R., Lee K., Roccasecca, K., Wilson, M., Wilkes, J., Lengerich, E., Pettis, J., 2012. A national survey of managed honey bee 2010--11 winter colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. *Journal of Apicultural Research* 51, 115-124.
- Vidal S., Petersen H.H. 2011: Prognosemodell für Fraßschäden. *DLG-Mitteilungen* 4, 42-45.
- Vrbka L, Friessleben R, Neubauer KL, Cantoni A, Chapple AC., 2014. Bayer AirWasher® and SweepAir®: technological options for mitigation of dust emissions from vacuum based maize sowing equipment. *Asp Appl Biol*; 122: 113-8.
- Waller G.D., Barker R. J., Martin J.H., 1979. Effects of dimethoate on honey bee foraging. *Chemosphere* 8 (7):461-463.
- Watanabe M. E. 1994. Pollination worries rise as honey bees decline. *Science* 265, Vol. 265 no. 5176, 1170.
- Whitehorn, P. R., O'Connor, S., Wackers, F. L., and Goulson, D., 2012. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 336, 351–352.
- Winfrey R., Aguilar R., Vazquez D. P., LeBuhn G., & Aizen M. A., 2009. A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology* 90, 2068–2076.
- Winston M.L., 1987. The biology of the honey bee. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Wisk J. D., Pistorius J., Beevers M., Bireley R., Browning Z. et al., 2014. Assessing Exposure of Pesticides to Bees. In: *Pesticide Risk Assessment for Pollinators* (eds D. Fischer and T. Moriarty), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9781118852408.ch7
- Wodehouse R.P., 1935. Pollen Grains. New York. McGraw-Hill.
- Yang E. C., Chuang Y. C., Chen Y. L., Chang L. H., 2008. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 101: 1743-1748.

9 Thesen

In der Agrarproduktion werden häufig insektizide Saatgutbeizungen zum Schutz der auflaufenden Kulturpflanze eingesetzt. Durch Abrieb von Beizmittelpartikeln und Abdrift wirkstoffhaltiger Stäube bei der Aussaat sind nach der erstmaligen Anwendung von Neonikotinoiden als Maisbeizung in Deutschland 2008 zahlreiche Bienenvergiftungsfälle aufgetreten.

Die Wirkstoffgruppe der Neonikotinoide hat sich in den vergangenen 15 Jahren zur wichtigsten insektiziden Beizung entwickelt, die seitdem insbesondere in Kulturen wie Raps und Zuckerrüben angewandt wurde, ohne dass bislang Schäden an Bienenvölkern bei der Aussaat bekannt geworden sind.

Um Saatgutbeizungen möglichst effizient und unter Vermeidung schädlicher Auswirkungen auf Bienen einsetzen zu können, müssen sie umfassend hinsichtlich ihrer Risiken und Nebenwirkungen geprüft und bewertet werden. Die Eignung verschiedener Prüfmethode zur Auswirkung von Stäuben wurde bisher jedoch noch nicht ausreichend untersucht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Beizstaubabdrift nach Aussaat von Raps und Mais mit unterschiedlicher Abriebfestigkeit der Beizung, der Exposition von Bienen sowie der Auswirkungen auf die Mortalität von Bienen. Dabei sollten erstmals verschiedene methodische Ansätze zur Prüfung der Auswirkung einer Staubkontamination und neuartige Prüfverfahren entwickelt werden mit denen die Auswirkungen auf Bienen untersucht werden können. In den Abdriftversuchen wurde ein Verfahren zur Exposition von Bienen in möglichst realitätsnahem Szenario im Freiland und einem *Worst-Case*-Expositionsszenario im Halbfreiland mit Aussaat verschiedener Kulturen entwickelt. Darüber hinaus wurden Ansätze geprüft, die eine gezielte manuelle oder maschinelle Ausbringung von vorher festgelegten Wirkstoffmengen ermöglichen, um Effektschwellen sowohl in Halbfreiland- als auch Freilandbedingungen untersuchen zu können.

Forschungsergebnisse

- 1) Bienen werden durch Staubabdrift mit relevanten Wirkstoffmengen konfrontiert. Die Kombination aus Staubabriebmenge je Saatguteinheit pro Hektar und Wirkstoffgehalt des Abriebstaubs (HBAS-Wert in g as/ha) ist maßgeblicher Einflussfaktor auf die Höhe der Rückstände in Nichtzielflächen und die Mortalität von Bienen.
- 2) Feldrandbereiche sind die am höchsten kontaminierten Bereiche, die Wirkstoffdeposition nimmt kontinuierlich mit der Entfernung ab. Der HBAS ist für die Abschätzung

der Deposition in Petrischalen und im benachbarten Bestand besser geeignet als die Aufwandmenge je Hektar.

- 3) Im Vergleich wurden höhere Rückstände auf benachbartem Bestand als auf benachbartem, blankem Boden gemessen. Der benachbarte Bestand besitzt eine Filterwirkung, im blühenden Rapsbestand mit Filterfaktor 2,95 höher im Vergleich zu blühendem Senfbestand mit Filterfaktor 1,70.
- 4) In Versuchen mit deutlichem Anstieg der Mortalität bei adulten Bienen war kein behandlungsbedingter Anstieg der Puppenmortalität feststellbar, weder im Halbfreiland, noch im Freiland. Diese Unterschiede sind zum einen auf die niedrigere Toxizität der Wirkstoffe für Larven im Vergleich zu Adulten und zum anderen auf die verschiedene Exposition von Larven und adulten Bienen zurückzuführen. Während primär Sammlerinnen und adulte Stockbienen wie Ammenbienen mit Rückständen konfrontiert werden, werden Larven hingegen mit Futterdrüsensaft von Ammenbienen gefüttert.
- 5) In Versuchen mit deutlichem Anstieg der Mortalität bei adulten Bienen wurden keine deutlichen Auswirkungen auf Volks- und Brutentwicklung festgestellt. Bienenvölker haben durch den täglichen Brutumsatz ein bei einmaliger Schädigung hohes Kompensationspotential akuter Verluste von Flugbienen.
- 6) Im Vergleich zu Spritzmittelausbringungen bewirkt die Exposition mit wirkstoffhaltigen Staubpartikeln stärkere Effekte auf Bienen. Dies wird erklärt durch die längere Oberflächenverfügbarkeit der Beizpartikel und die unterschiedliche Aufnahme durch Bienen.
- 7) Maßgeblich ist die Kontamination mit Partikeln über die Körperoberfläche und Haarkleid und durch zufälliges oder aktives Aufsammeln von Partikeln und Vermischung mit Blütenpollen, die als Bienenbrot eingelagert werden. Dabei zeigte sich in den Pollen zum Teil sehr hohe Variabilität und hohe Wirkstoffmengen in Einzelproben, die durch Kontamination mit unterschiedlichen Partikelmengen erklärt werden können. Die Rückstände im Nektar haben nur einen geringen Anteil an der Schadwirkung.
- 8) Die Schadwirkung des Expositionspfads Durchfliegen der Staubwolke ist geringer als die der Partikelexposition auf Blüten und Aufnahme über Körperoberfläche und Haarkleid und durch zufälliges oder aktives Aufsammeln, wie sich im Vergleich der Halbfreiland- und Freilandabdriftversuche zeigte.
- 9) Die im Freiland ein- und ausfliegenden Bienen waren Stäuben beim Durchfliegen der Staubwolke exponiert, die Exposition auf Blüten war aufgrund der geringen Sammelaktivität auf der Versuchsfläche nur sehr schwach. Während ein Durchfliegen der Staubwolke in der Luft allenfalls zu einem leichten Anstieg der Mortalität führte, be-

steht dagegen ein hoher direkter Zusammenhang zwischen der Sammelaktivität auf der Fläche und der Mortalität.

- 10) Effekte auf die Mortalität von Bienen können unter Halbfreilandbedingungen wesentlich sensitiver erfasst werden als in Freilandbedingungen.
- 11) Die höchste Mortalität tritt in der Regel in den ersten 24 Stunden nach Staubexposition auf und wird durch eine kombinierte Exposition über orale Aufnahme und Kontakt hervorgerufen. Nach hoher Anfangsmortalität kann die Mortalität nachfolgend über mehrere Tage bis mehrere Wochen erhöht bleiben. Diese ist insbesondere auf orale Aufnahme und Verzehr von eingelagertem, kontaminiertem Pollen zurückzuführen.
- 12) Es war kein direkter Bezug zwischen Rückständen im Totenfall und der Höhe des Totenfalls herstellbar. Auch bei geringem Totenfall können in einzelnen Bienen im Freiland höhere Rückstände gefunden werden, im Halbfreiland auch an Tag 3 nach Applikation.
- 13) Die Methoden der manuellen sowie der maschinellen Applikation von Stäuben haben sich als praktikable Verfahren für die Risikoprüfungen von Effektschwellen und Dosis-Wirkungsbeziehungen erwiesen, die Abdriftversuche zur Untersuchung eines realistischen Szenarios. Die hier erstmalig dargestellten neuartigen Methoden können künftig als Grundlage für weitere Arbeiten dienen.

Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen zeigen, dass je nach ausgesäter Kultur und Saatgutabriebfestigkeit stark erhöhte Mortalität adulter Bienen auftreten kann.

In der landwirtschaftlichen Praxis bedeuten diese Ergebnisse auch, dass durch jeden Saatvorgang im Flugradius der Bienen die experimentell untersuchten Szenarien wiederholt auftreten und dazu führen, dass Bienenvölker durch wiederholte Vergiftungsereignisse stark und nachhaltig geschädigt werden können. Daraus lässt sich ableiten, dass ein konservativer Bewertungsmaßstab notwendig ist, um ein hohes Maß an bienensicherer Anwendung in der Praxis zu gewährleisten.

Die Exposition mit wirkstoffhaltigen Partikeln ist kritischer einzustufen und bewirkt höhere akute Mortalität als eine Spritzmittelexposition. Wenn Daten aus Spritzmittelversuchen für die Interpretation von Staubexposition genutzt werden, ist die Verwendung von Sicherheitsfaktoren ratsam.

Für unterschiedliche Strategien im Rahmen der Risikoprüfungen wurden die Verfahren der Abdrift- und Applikationsversuche für Honigbienen entwickelt, die als Bausteine in ein weitergehendes Prüfkonzept integriert werden können.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Doktorarbeit mit dem Titel:

„Vergiftungen von Honigbienen (*Apis mellifera* L.) durch
insektizidhaltigen Staubabrieb beim Anbau von
Raps und Mais“

selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.

Rostock, den 7.10.2015

Jens Pistorius

Wissenschaftlicher Lebenslauf

Dipl. Agr.-Biol. Jens Pistorius

geboren am 11.06.1976 in Berlin

Ausbildung und Berufstätigkeit

12-2007-heute *Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig.*

Wissenschaftler. Tätigkeitsgebiete: Risikobewertung der Bienengefährlichkeit von Pflanzenschutzmitteln, Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen, Forschung zu Bienenschutz und Pflanzenschutz

3/2006 - 12/2007 *eurofins- GAB GmbH, Niefern-Öschelbronn*

Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Planung, Organisation und praktische Durchführung von Bienen- Freiland- und Halbfreilandversuchen

07/2005 - 12/2005 *GAB Biotechnologie GmbH, Niefern-Öschelbronn*

Versuchstechniker, Mitarbeit im Bereich Ökotoxikologie (Regenwurm-Freilandstudie und Bienenversuche)

Studium

10/1998 – 12/2005 *Diplomstudium Agrarbiologie, Fachrichtung Agrarökologie, Universität Hohenheim, Studienabschluss 12/2005 (Note: 1,3)*

Diplomarbeit: „Pflanzenschutzmitteleintrag in Bienenvölker durch Nektar und Pollen verschiedener Kulturpflanzen und Auswirkungen des kontaminierten Sammelguts auf die Gesundheit von Honigbienen (*Apis mellifera* L.)“ (*Landesanstalt für Bienenkunde, Universität Hohenheim. Note: 1,0*)

10/1997 – 09/1998 Diplomstudium Chemie, Universität Heidelberg

10/1996 – 09/1997 Diplomstudium Soziologie, Universität Heidelberg

Schulische Ausbildung

1986 – 1996 Gymnasium Neckargemünd, Abitur

1993 – 1994 Beenleigh State High School, 1 Jahr Auslandsaufenthalt in Australien

Danksagung

Es gibt eine Vielzahl an Menschen, denen ich mich ausdrückliche und herzlich für die Unterstützung beim Gelingen dieser Arbeit danke. Allem voran meiner Familie, der ich diese Dissertationsschrift widmen möchte. Meinen Eltern, für alles. Meinen Bruder Till, dem besonderer Dank für die zahlreichen strukturhellenden Diskussionen und unermüdliche Hilfsbereitschaft gebührt. Ebenso Luise, für die Liebe, Verständnis, Erdung und Ausgleich, frische Luft, die zahlreichen Diskussionen und kritisches Korrekturlesen.

Ganz besonderer Dank gilt auch meinen Betreuern, insbesondere bei Frau Dr. habil. PD Christine Struck für die Übernahme der Betreuung, die hilfreiche und verlässliche Unterstützung in allen Phasen der Erstellung der Arbeit, die kritische Durchsicht der Arbeit sowie die Übernahme des Erstgutachtens. Dr. habil. Peter Rosenkranz für langjährige verlässliche Unterstützung, die hilfreichen inhaltlichen Diskussionen, Hinweise zur Strukturfindung und Ergebnisdarstellung und Begutachtung dieser Arbeit. Prof. Robert Paxton für die Bereitschaft zur Übernahme der Gutachterstätigkeit. Prof. Dr. Wolfgang Kirchner für die fachliche und organisatorische Unterstützung, ermutigenden Gespräche und den besonderen Anshub in der Entstehungsphase.

Für die stets kollegiale und konstruktive fachliche und persönliche Unterstützung, die vertrauensvolle und motivierende Zusammenarbeit, den Rückhalt und das in mich gesetzte Vertrauen möchte ich außerdem in ganz besonderem Maß Dr. Udo Heimbach und Prof. Dr. Peter Zwerger (Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland im JKI) danken. Dem BMEL und JKI möchte ich für die durch das Forschungsprogramm des Bundes und der Länder Bayern und Baden-Württemberg zur Bekämpfung des Westlichen Maiswurzelbohrers gewährte materielle Unterstützung zur Bearbeitung der Forschungsfragen danken.

Meinen geschätzten, engagierten Bienenkollegen im Team für tatkräftige Unterstützung praktischer Arbeiten bei zahlreichen Themen zum Bienenschutz, für den besonderen Rückhalt und die tägliche Unterstützung, die mir den Spagat zwischen Beruf und Dissertation erleichtert hat. Dr. Matthias Stähler und Kolleginnen danke ich für die zahlreichen Analysen der Versuchsproben und die gute Zusammenarbeit. Manfred Schäfer und Dr. Babsi Matthes für die interessanten Diskussionen, das Interesse an der Arbeit und Korrekturlesen.

Nicht alle Personen, denen ich danken möchte, wie zahlreichen weiteren Kolleginnen und Kollegen der Institute A, ÖPV und des Versuchsfelds können an dieser Stelle namentlich aufgeführt werden. Aufgrund des besonders großen Anteils an der Grundsteinlegung meines Werdegangs sind aus der Zeit an der Landesanstalt für Bienenkunde auch Dr. Klaus Wallner, der das Feuer der Leidenschaft für Bienen und die Thematik Bienenschutz und Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln in mir entfacht hat und Dr. Gerhard Liebig, der mich gelehrt hat, wie man Bienen hält zu nennen.

Meinen Bienenvölkern, die immer für mich da waren, wenn ich Ablenkung brauchte, und mir in Bezug auf die Tätigkeiten rund um den Bienenschutz und auch bei der Entstehung dieser Arbeit immer wieder die Antwort auf die Frage nach dem „Warum“ lieferten.

Anhang

Abbildungsverzeichnis

- Abb. A 1 Versuchsaufbau: Staubabdrift während Maisaussaat 2010. Auf 2 Seiten des blühenden Rapsbestands mit je 3 ausgefrästen Expositionsmessflächen standen 2 benachbarte Flächen zur Aussaat zur Verfügung so dass nach vorherrschender Windrichtung nur auf einer Seite der Fläche ausgesät wurde.....III
- Abb. A 2 Volksstärke (Anzahl adulter Bienen) und Brutentwicklung (prozentualer Anteil belegter Zellen) je Volk und Variante (Remote (R), Kontrolle (C), Treatment (T): jeweils n=3) im Freiland (a, c, e) und (Kontrolle (C), Treatment (T): jeweils n=3) Halbfreiland (b, d, f) an Tagen vor (-) und nach (+) Maisaussaat 2010, 2011 und 2012. MW und StdAbw..... XVI
- Abb. A 3 Mittlere Volksstärke (Anzahl adulter Bienen) und Brutentwicklung (prozentualer Anteil belegter Zellen) je Volk und Variante (Remote (R), Kontrolle (C), Treatment (T): jeweils n=3) im Freiland (a, c, e, g) und (Kontrolle (C), Treatment (T): jeweils n=3) Halbfreiland (b, d, f, h) an Tagen vor (-) und nach (+) Rapsaussaat 2011, 2013 und 2014/2 sowie (e) maschineller (T1: 0,25 g; T2: 1 g as/ha: jeweils n=3) und (f) manueller Applikation (T1: 1 g, T 2: 2 g as/ha: jeweils n=3), MW und StdAbw.....XVIII
- Abb. A 4 Rückstände in toten Bienen aus Totenfallen in Halbfreiland (a,b,c) und Freiland (d,e,f) nach Rapsaussaat 2011 (a, b), 2013 (c, d) und 2014/2 (e, f). Proben für Analysen pro Variante und Tag gepoolt; an Tagen ohne Fehlerbalken wurde 1 Probe je Termin analysiert. Fehlerbalken: Einzelwerte oder MW mit StdAbw. Totenfall siehe Abb. 11..... XXI
- Abb. A 5 Box-Plot: Mittlere Anzahl 2009-2014 durch Neonikotinoide(Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam) geschädigte Völker je Schadfäll..... XXII
- Abb. A 6 Verteilung der Clothianidin- Rückstände in dem JKI eigesandten Bienenproben 2009-2014XXII
- Abb. A 7 Vergleich Rückstände in Bientotenfall nachgewiesener Maisschäden mit Clothianidin in 2008 (n=66; Daten aus Pistorius *et al.*, 2009), Rückstände in Schadfällen mit Clothianidin in Jahren 2009-2014 (n=39) mit Rückständen aus Totenfall des Versuchs mit gezielter Freilandapplikation von 0,25 (T1; n=10) und 1,0 g (T2; n=10) im Mittel von null bis 7 Tage nach Applikation.XXII

Tabellenverzeichnis

- Tab. A 1 Wirkstoffgehalt in Beizstaub verschiedener Partikelgrößen für Versuche mit manueller und maschineller Applikation.....III
- Tab. A 2 Detailinformationen maschinelle Applikation im Freilandversuch..... IV
- Tab. A 3 Windbedingungen während Maisaussaat (2010-2012) IV
- Tab. A 4 Windbedingungen während Rapsaussaat 2011-2014..... V
- Tab. A 5 Witterungsbedingungen Maisaussaat 2010 (HBAS 0,091 g as/ha)..... V
- Tab. A 6 Witterungsbedingungen Maisaussaat 2011 (HBAS 0,086 as/ha)..... V
- Tab. A 7 Witterungsbedingungen Maisaussaat 2012 (HBAS 0,041 as/ha)..... VI
- Tab. A 8 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2011 (HBAS 0,025 as/ha)..... VI
- Tab. A 9 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2013 (HBAS 0,009 as/ha)..... VI
- Tab. A 10 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2014/1 (HBAS 0,0047 as/ha)..... VI

Tab. A 11 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2014/2 (HBAS 0,0009 as/ha).....	VII
Tab. A 12 Witterungsbedingungen Halbfreilandversuch mit manueller Staubapplikation von 1 und 2 g as Clothianidin/ha.....	VII
Tab. A 13 Witterungsbedingungen im Freilandversuch mit maschineller Staubapplikation von 0,25 g und 1 g as Clothianidin/ha.....	VII
Tab. A 14 Flugaktivität im benachbarten Raps vor und nach Maisaussaat, 2010.....	VIII
Tab. A 15 Flugaktivität im benachbarten Raps vor und nach Maisaussaat, 2011.....	VIII
Tab. A 16 Flugaktivität im benachbarten Raps vor und nach Maisaussaat, 2012.....	IX
Tab. A 17 Flugaktivität im benachbarten Senf vor und nach Rapsaussaat, 2011.....	IX
Tab. A 18 Flugaktivität im benachbarten Senf vor und nach Rapsaussaat, 2013.....	X
Tab. A 19 Flugaktivität im benachbarten Senf vor und nach Rapsaussaat, 2014/2.....	X
Tab. A 20 Flugaktivität nach manueller Staubapplikation von 1 g as Clothianidin/ha (T1) und 2 g as/ha (T2).....	XI
Tab. A 21 Flugaktivität nach Vergleich manueller Staub- und Spritzapplikation mit je 1 g as Clothianidin/ha.....	XI
Tab. A 22 Rückstände in Petrischalen.....	XII
Tab. A 23 Rückstände in Blüten im benachbarten Bestand.....	XII
Tab. A 24 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Mais unter Halbfreilandbedingungen (\pm Standardabweichung).....	XIII
Tab. A 25 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Mais unter Freilandbedingungen (\pm Standardabweichung).....	XIII
Tab. A 26 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Raps unter Halbfreilandbedingungen (\pm Standardabweichung).....	XIV
Tab. A 27 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Raps unter Freilandbedingungen (\pm Standardabweichung).....	XV
Tab. A 28 Statistische Auswertung der Anzahl adulter Bienen im Volk in Abdriftversuchen mit Maisaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen.....	XVII
Tab. A 29 Statistische Auswertung der Anzahl Brutzellen (Eier, Larven und verdeckelte Brut) im Volk in Abdriftversuchen mit Maisaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen.....	XVII
Tab. A 30 Statistische Auswertung der Anzahl Bienen im Volk in Abdriftversuchen mit Maisaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen.....	XIX
Tab. A 31 Statistische Auswertung der Anzahl Brutzellen (Eier, Larven und verdeckelte Brut) im Volk in Abdriftversuchen mit Rapsaussaat mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen.....	XIX
Tab. A 32 Statistische Auswertung der Anzahl Bienen und der Anzahl Brutzellen (Eier, Larven und verdeckelte Brut) im Volk in Applikationsversuchen mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen.....	XX
Tab. A 33 Schadfalleinsendungen an die Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen mit Verdacht auf Bienenvergiftung durch Pflanzenschutzmittel.....	XXII

I Material und Methoden

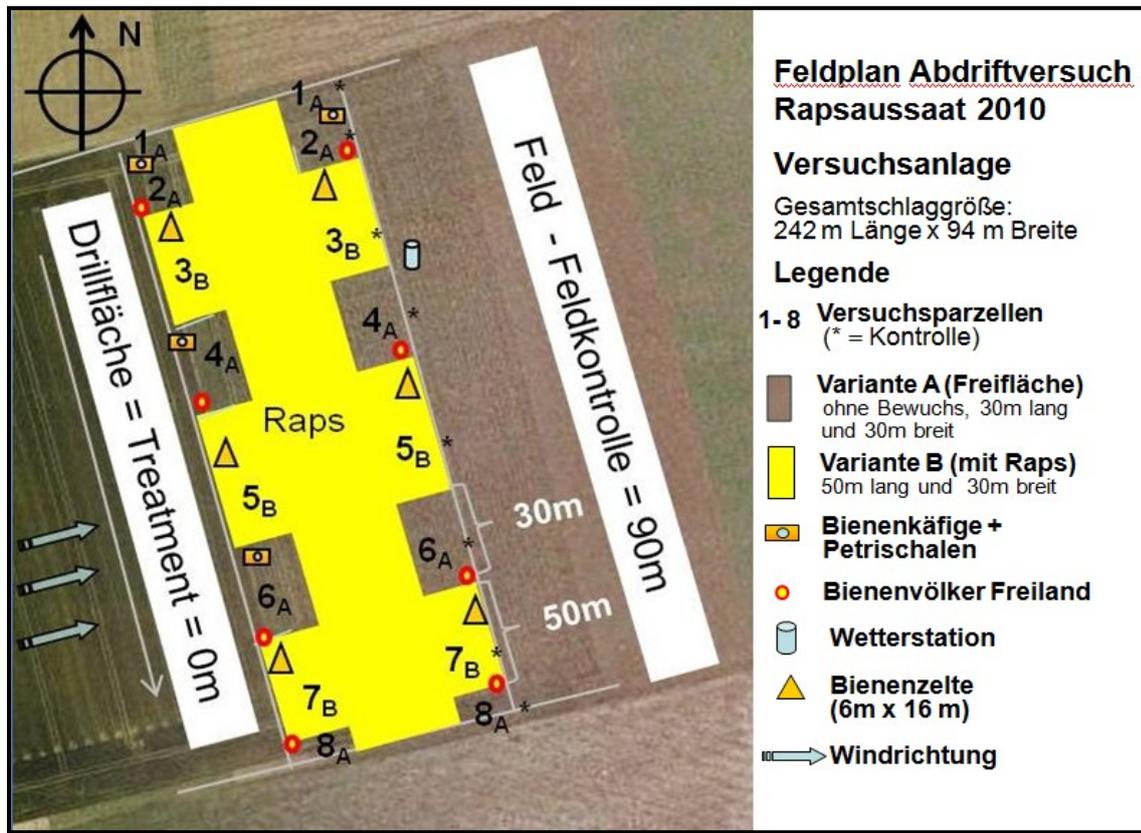


Abb. A 1 Versuchsaufbau: Staubabdrift während Maisaussaat 2010. Auf 2 Seiten des blühenden Rapsbestands mit je 3 ausgefrästen Expositionsmessflächen standen 2 benachbarte Flächen zur Aussaat zur Verfügung so dass nach vorherrschender Windrichtung nur auf einer Seite der Fläche ausgesät wurde.

Tab. A 1 Wirkstoffgehalt in Beizstaub verschiedener Partikelgrößen für Versuche mit manueller und maschineller Applikation

Partikelgröße [μm]	$x > 500$	450 $< x \leq 500$	355 $< x \leq 450$	355 $< x \leq 450$	160 $< x \leq 250$	80 $< x \leq 160$	$x \leq 80$
Clothianidin [%] im Staub	12,4	13,4	13,5	14,6	16,9	17,7	16,2
Mengenanteil der Fraktionen [%]	69,57	4,76	8,68	8,55	5,15	1,96	1,33

Tab. A 2 Detailinformationen maschinelle Applikation im Freilandversuch

Detailinformationen zur Stauausbringung				
Versuchsvariante	Einheit	C	T1	T2
Saatgutstäube	[g/ha]	-	1.41	5.77
Zielmenge Wirkstoff (Clothianidin)	[g as/ha]	-	0.25	1.00
Füllmaterial (2.3 and 2.4 LUFA Standardboden; 50:50)	[g/ha]	-	598.49	594.33
Verdünnungsrate Füllmaterial zu Beizstaub		-	~ 424 :1	~ 103 :1
Zielapplikationsmenge	[g/ha]	-	600	600
Tatsächlich ausgebracht	[g/ha]	-	652.34	599.98
Tatsächlich ausgebrachte Wirkstoffmenge	[g as/ha]	-	0.27	1.00
Dauer der Ausbringung (in Minuten)		-	40	48
Witterung während der Ausbringung				
Temperatur	[°C]	-	21.8 – 23.6	23.1 – 24.5
Luftfeuchtigkeit	[%]	-	45.9 – 59.5	44.0 – 55.5
Windgeschwindigkeit (Mittelwert/max/min)	[m/s]	-	1.12/ 2.46/ 0.0	2.10/ 4.51/ 0.57

II Wind und Witterung

Tab. A 3 Windbedingungen während Maisaussaat (2010-2012)

Jahr	Zeitraum	Windrichtung [Grad]	Sollwertabweichung Windrichtung [Grad]	Windgeschwindigkeit [m/s]	Windrichtung
2010	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	296,6 (0,04/359,3)	41,6 (-254,96/104,3)	2,3 (0,52/5,7)	West-Nord-West
	Mittelwert (Min/Max) 0- 20 min (Reihen 1-5)	301,5 (0,93/359,3)	46,5 (-254,07/104,3)	2,5 (0,86/5,7)	West-Nord-West
2011	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	136,5 (26,20/270,3)	29,5 (-80,80/163,3)	2,3 (0,60/5,2)	Süd-Ost
	Mittelwert (Min/Max) 0- 20 min (Reihen 1-5)	145,6 (79,00/239,3)	38,6 (-28,00/132,3)	2,3 (1,10/4,4)	Süd-Ost zu Süd
2012	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	68,8 (0,20/360,0)	-38,2 (-106,80/253,0)	2,3 (0,90/6,2)	Ost-Nord-Ost
	Mittelwert (Min/Max) 0- 15 min (Reihen 1-5)	79,3 (0,20/360,0)	-27,8 (-106,80/253,0)	2,3 (1,00/5,2)	Ost zu Nord

Tab. A 4 Windbedingungen während Rapsaussaat 2011-2014

Jahr	Zeitraum	Windrichtung [Grad]	Sollwertabweichung Windrichtung [Grad]	Windgeschwindigkeit [m/s]	Windrichtung
2011	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	235,0 (10,00/349,9)	-52,0 (-277,00/62,9)	2,1 (0,70/5,0)	Süd-West zu West
	Mittelwert (Min/Max) 0-20 min (Reihen 1-5)	206,8 (89,20/322,5)	-80,2 (-197,80/35,5)	1,7 (0,70/3,7)	Süd-Süd-West
2013	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	91,4 (0,20/360,0)	32,4 (-58,80/301,0)	1,6 (0,50/3,8)	Ost
	Mittelwert (Min/Max) 0-20 min (Reihen 1-5)	85,6 (0,20/359,8)	26,6 (-58,80/300,8)	1,7 (0,80/3,8)	Ost
2014 (1)	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	169,3 (0,70/357,5)	62,3 (-106,30/250,5)	1,3 (0,40/3,4)	Süd zu Ost
	Mittelwert (Min/Max) 0-15 min (Reihen 1-5)	112,1 (6,70/351,3)	5,1 (-100,30/244,3)	1,3 (0,60/2,7)	Ost-Süd-Ost
2014 (2)	Mittelwert (Min/Max) Aussaatzeitraum	279,5 (214,73/353,0)	25,5 (-39,27/99,0)	2,5 (0,35/5,9)	West-zu-Nord
	Mittelwert (Min/Max) 0-15 min (Reihen 1-5)	271,3 (227,26/319,0)	17,3 (-26,74/65,0)	2,3 (0,35/4,3)	West

Tab. A 5 Witterungsbedingungen Maisaussaat 2010 (HBAS 0,091 g as/ha)

Mais 2010		14.05. 2010	15.05. 2010	16.05. 2010	17.05. 2010	18.05. 2010	19.05. 2010	20.05. 2010	21.05. 2010	22.05. 2010	23.05. 2010	24.05. 2010
Datum												
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	8,1	6,8	10,3	9,7	9,1	10,1	10,6	13,9	11,5	14,6	15,5
	Maximum	9,9	9,1	15,7	14,8	13,1	14,7	12,3	20,6	17,0	22,1	22,3
	Minimum	6,4	4,1	4,0	1,8	4,8	7,1	9,4	7,2	7,2	8,8	10,7
Niederschlag [mm]	Summe	0	11,4	0,2	0	0	17,8	6,2	0	0	0	7,4

Tab. A 6 Witterungsbedingungen Maisaussaat 2011 (HBAS 0,086 g as/ha)

Mais 2011		3.05. 2011	4.05. 2011	5.05. 2011	6.05. 2011	7.05. 2011	8.05. 2011	9.05. 2011	10.05. 2011	11.05. 2011	12.05. 2011
Datum											
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	12,7	12,8	14,7	18,6	20,2	20,3	20,7	21,3	19,7	18,3
	Maximum	17,6	17,9	20,2	23,5	24,3	24,4	24,8	26,4	24,0	23,1
	Minimum	8,3	8,3	7,5	13,6	14,8	15,7	16,8	16,1	16,0	14,0
Niederschlag [mm]	Summe	0,8	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0,1

Tab. A 7 Witterungsbedingungen Maisaussaat 2012 (HBAS 0,041 g as/ha)

Mais 2012		29.04.	30.04.	1.05.	2.05.	3.05.	4.05.	5.05.	6.05.	7.05.	8.05.	9.05.
Datum		2012	2012	2012	2012	2012	2012	2012	2012	2012	2012	2012
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	20,4	19,6	19,1	20,3	19,2	17,9	14,0	13,4	14,8	17,5	19,5
	Maximum	24,6	224,0	25,4	25,6	22,4	22,5	16,4	15,3	18,6	22,1	22,8
	Minimum	16,5	14,4	14,6	14,6	16,3	13,4	12,8	11,8	13,1	11,3	17,3
Niederschlag [mm]	Summe	0	0	0	0,2	0,2	0,1	0	0	0	6,5	0,4

Tab. A 8 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2011 (HBAS 0,025 g as/ha)

Raps 2011 Datum		16.08.	17.08.	18.08.	19.08.	20.08.	21.08.	22.08.	23.08.	24.08.	25.08.
		2011	2011	2011	2011	2011	2011	2011	2011	2011	2011
Versuchstag		-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	15,5	18,8	19,7	17,6	16,9	21,0	20,7	19,6	21,8	21,0
	Max	19,4	25,4	26,8	20,2	23,7	26,7	25,5	24,0	28,5	26,2
	Min	10,6	11,4	12,5	11,8	10,0	14,0	16,7	15,4	17,3	15,4
Niederschlag [mm]	Summe	0	0	4,9	3,7	0	0,7	0,1	8,5	3,0	0

Tab. A 9 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2013 (HBAS 0,009 g as/ha)

Datum		01.09.	02.09.	03.09.	04.09.	05.09.	06.09.	07.09.	08.09.	09.09.	10.09.	11.09.
		2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013	2013
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	13,8	14,5	17,7	18,3	20,1	21,7	20,6	15,5	12,3	11,2	11,2
	Maximum	17,9	16,1	20,6	22,7	27,4	30,6	27,7	19,5	15,6	13,3	13,5
	Minimum	9,3	12,7	15,8	15	13,2	12,4	13,9	12,8	9,1	8,8	9,8
Niederschlag [mm]	Summe	0,1	0,3	0	0	0	0	0	1,6	14,6	7,7	8,1
Quelle: Wetterstation Hillerse / LWK Niedersachsen												

Tab. A 10 Witterungsbedingungen Rapsaussaat 2014/1 (HBAS 0,0047 g as/ha)

Datum		13.04.	14.04.	15.04.	16.04.	17.04.	18.04.	19.04.	20.04.	21.04.	22.04.	23.04.
		2014	2014	2014	2014	2014	2014	2014	2014	2014	2014	2014
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	10,4	6,9	5,5	6,5	9,8	6,6	9,1	13	12,8	12,9	13,9
	Maximum	13,4	9,9	9,2	12,6	15,1	9,1	17	18,9	17,3	18,2	20,2
	Minimum	7,2	4,1	2,2	-0,4	2,5	3,9	0,5	5	9,6	7,3	8,2
Niederschlag [mm]	Summe	0	3,8	1	0	0,1	16,3	0	0	5,3	0	0

Tab. A 11 Witterungsbedingungen Rapsaussaats 2014/2 (HBAS 0,0009 g as/ha)

Datum		09.08. 2014	10.08. 2014	11.08. 2014	12.08. 2014	13.08. 2014	14.08. 2014	15.08. 2014	16.08. 2014	17.08. 2014	18.08. 2014	19.08. 2014
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	20,4	19,0	18,5	16,2	16,3	15,7	14,6	14,6	15,1	14,8	12,5
	Maximum	23,6	25,8	22,1	21,4	23,0	19,3	18,7	18,5	17,1	18,2	15,2
	Minimum	14,0	13,2	14,4	12,5	10,7	12,5	12,1	11,4	12,2	12,5	10,5
Niederschlag [mm]	Summe	0	0,2	0	1,7	2,3	2,5	5,4	2,0	0,1	0,7	3,7
Quelle: Wetterstation Hillerse / LWK Niedersachsen												

Tab. A 12 Witterungsbedingungen Halbfreilandversuch mit manueller Staubapplikation von 1 und 2 g as Clothianidin/ha

Datum		29.04. 2012	30.04. 2012	01.05. 2012	02.05. 2012	03.05. 2012	04.05. 2012	05.05. 2012	06.05. 2012	07.05. 2012	08.05. 2012	09.05. 2012
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Durchschnitt	20,4	19,5	19,1	20,3	19,2	17,9	13,6	13,4	14,8	17,5	19,5
	Maximum	24,6	24,0	25,4	25,6	22,4	22,5	16,4	15,3	18,6	22,1	22,8
	Minimum	16,5	14,4	14,6	14,6	16,3	13,4	12,8	11,8	13,1	11,3	17,3
Niederschlag [mm]	Summe	0	0	0	0,20	0,20	0,10	0	0	0	6,50	0,40

Tab. A 13 Witterungsbedingungen im Freilandversuch mit maschineller Staubapplikation von 0,25 g und 1 g as Clothianidin/ha

Datum		06.08. 2012	07.08. 2012	08.08. 2012	09.08. 2012	10.08. 2012	11.08. 2012	12.08. 2012	13.08. 2012	14.08. 2012	15.08. 2012	16.08. 2012
Versuchstag		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7
Lufttemperatur 200cm [°C]	Maximum	20,3	21,6	23,6	25,2	23,4	23,8	25,5	27,5	28,9	32,3	24,5
	Minimum	15,3	12,4	11,3	11,7	12,4	9,5	10,1	11	14,7	18,1	14,1
Niederschlag [mm]	Summe Kontrolle	4,2	2,2	1,4	0	0	0	0	0	0	0	11
Niederschlag [mm]	Summe T1	4,2	2,2	1,4	0	0	0	0	0	0	0	6,5
Niederschlag [mm]	Summe T2	4,2	2,2	1,4	0	0	0	0	0	0	0	5,5

III Flugaktivität

Tab. A 14 Flugaktivität im benachbarten Raps vor und nach Maisaussaat, 2010

		Freiland		Halbfreiland	
Tag vor (-) / nach (+) der Aussaat	Std. vor (-) / nach (+) der Aussaat	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD
-2		0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00
-1		1,0 +/- 1,12	0,0 +/- 0,00	8,0 +/- 4,53	6,7 +/- 4,33
-0	- 1	1,3 +/- 1,36	1,4 +/- 1,05	kein Flug	kein Flug
+0	+2	0,9 +/- 1,07	1,3 +/- 1,16	6,8 +/- 4,06	8,5 +/- 7,40
+1		0,2 +/- 0,55	0,0 +/- 0,00	2,4 +/- 3,53	2,9 +/- 3,23
+2		0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00
+3		0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00
+4		2,0 +/- 1,41	1,7 +/- 2,55	10,8 +/- 5,12	n.v.
+5		0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,8 +/- 0,83	2,1 +/- 1,27
+6		0,8 +/- 0,97	0,3 +/- 0,50	8,7 +/- 3,24	11,8 +/- 4,66

Tab. A 15 Flugaktivität im benachbarten Raps vor und nach Maisaussaat, 2011

		Freiland		Halbfreiland	
Tag vor (-) / nach (+) der Aussaat	Std. vor (-) / nach (+) der Aussaat	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD
-0	-2	0,3 +/- 0,5	0,3 +/- 0,5	Kein Flug	Kein Flug
+0	+0,5	0,1 +/- 0,4	0,1 +/- 0,4	14,4 +/- 9,1	17,1 +/- 5,3
	+1	0,3 +/- 0,7	0,0 +/- 0,0	19,0 +/- 9,8	18,6 +/- 9,2
	+2	0,0 +/- 0,0	0,0 +/- 0,0	15,2 +/- 7,5	17,1 +/- 3,3
	+4	0,1 +/- 0,4	0,1 +/- 0,4	17,1 +/- 9,6	13,1 +/- 5,8
+1		0,0 +/- 0,0	0,0 +/- 0,0	3,9 +/- 2,9	7,2 +/- 3,7
		0,1 +/- 0,4	0,0 +/- 0,0	3,7 +/- 4,2	3,8 +/- 2,7
		0,0 +/- 0,0	0,0 +/- 0,0	5,4 +/- 3,6	4,1 +/- 2,1
+2		0,6 +/- 0,7	0,3 +/- 0,7	13,2 +/- 6,0	15,3 +/- 4,9
+3		0,1 +/- 0,4	0,0 +/- 0,0	5,7 +/- 3,4	14,2 +/- 4,8
+4		0,1 +/- 0,4	0,4 +/- 0,7	6,9 +/- 2,2	10,7 +/- 3,5
+5		0,3 +/- 0,5	0,0 +/- 0,0	5,4 +/- 3,1	7,4 +/- 4,1
+6		0,0 +/- 0,0	0,0 +/- 0,0	8,6 +/- 4,1	12,7 +/- 2,6

Tab. A 16 Flugaktivität im benachbarten Raps vor und nach Maisaussaat, 2012

		Freiland		Halbfreiland	
Tag vor (-) / nach (+) der Aussaat	Std. vor (-) / nach (+) der Aussaat	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD
-3		0,1 ± 0,4	0,6 ± 0,9	5,1 ± 3,1	2,8 ± 1,1
-2		0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,4	0,4 ± 0,7	2,9 ± 2,2
-1		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,4	0,8 ± 1,1
-0		0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,4	0,2 ± 0,4	1,0 ± 0,8
+0	+1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,3 ± 2,5	10,0 ± 3,4
+0	+2	0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	6,4 ± 4,2	12,2 ± 5,8
+0	+4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	8,3 ± 4,5	6,3 ± 2,1
+1		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,9 ± 1,5	2,1 ± 1,4
+2		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,4 ± 1,7	0,8 ± 0,8
+3		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
+4		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
+5		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
+6		0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,7 ± 1,3	6,0 ± 2,7
+7		0,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0	4,4 ± 2,4	4,7 ± 1,6

Tab. A 17 Flugaktivität im benachbarten Senf vor und nach Rapsaussaat, 2011

		Freiland		Halbfreiland	
Tag vor (-) / nach (+) der Aussaat	Std. vor (-) / nach (+) der Aussaat	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD
-0	-2	2,4 ± 2,0	2,6 ± 2,8	Kein Flug	Kein Flug
+0	+0,5	1,8 ± 2,7	1,5 ± 2,0	8,6 ± 10,3	4,0 ± 4,5
+0	+1	1,5 ± 1,4	0,9 ± 1,1	1,9 ± 1,2	1,9 ± 2,3
+0	+2	1,1 ± 1,8	0,1 ± 0,4	1,8 ± 2,0	1,7 ± 2,5
+0	+4	0,3 ± 0,7	0,3 ± 0,7	0,4 ± 1,0	0,9 ± 1,2
+1		1,6 ± 1,3	3,5 ± 2,4	7,1 ± 6,4	4,4 ± 2,7
+2		0,4 ± 0,5	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,4	0,0 ± 0,0
+3		5,0 ± 3,3	1,9 ± 1,5	7,9 ± 2,3	9,0 ± 2,4
+4		keine Daten	keine Daten	12,6 ± 3,0	10,3 ± 3,4
+5		7,1 ± 2,6	7,0 ± 3,3	16,0 ± 6,4	19,6 ± 5,8
+6		1,0 ± 1,2	3,3 ± 2,3	2,4 ± 2,1	2,1 ± 1,4

Tab. A 18 Flugaktivität im benachbarten Senf vor und nach Rapsaussaat, 2013

		Freiland		Halbfreiland	
Tag vor (-) / nach (+) der Aussaat	Std. vor (-) / nach (+) der Aussaat	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD
-3		keine Daten	keine Daten	0,7 +/- 1,00	1,0 +/- 0,67
-2		keine Daten	keine Daten	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00
-1		keine Daten	keine Daten	2,2 +/- 2,33	2,3 +/- 0,84
-0		keine Daten	keine Daten	Kein Flug	Kein Flug
+0	+1	keine Daten	keine Daten	4,8 +/- 4,44	4,4 +/- 0,51
+0	+2	keine Daten	keine Daten	3,1 +/- 2,89	2,9 +/- 0,69
+1		keine Daten	keine Daten	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00
+2		keine Daten	keine Daten	5,4 +/- 8,56	8,6 +/- 1,84
+3		keine Daten	keine Daten	14,0 +/- 11,56	11,6 +/- 3,76
+4		keine Daten	keine Daten	0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00
+5		keine Daten	keine Daten	6,8 +/- 3,11	3,1 +/- 1,50
+6		keine Daten	keine Daten	2,8 +/- 4,67	4,7 +/- 2,22

Tab. A 19 Flugaktivität im benachbarten Senf vor und nach Rapsaussaat, 2014/2

		Freiland		Halbfreiland	
Tag vor (-) / nach (+) der Aussaat	Std. vor (-) / nach (+) der Aussaat	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD	Kontrolle MW +/- SD	Treatment MW +/- SD
-3		2,3 +/- 2,08	2,7 +/- 0,58	4,4 +/- 2,13	5,0 +/- 1,00
-2		2,0 +/- 1,00	6,3 +/- 4,73	4,7 +/- 0,94	4,7 +/- 0,58
-1		4,0 +/- 2,00	4,3 +/- 3,51	6,9 +/- 2,14	6,0 +/- 0,67
-0		keine Daten	keine Daten	Kein Flug	Kein Flug
+0	+1	2,7 +/- 1,53	5,3 +/- 3,06	1,9 +/- 1,02	8,0 +/- 0,67
+0	+2	3,0 +/- 2,65	9,7 +/- 4,51	7,1 +/- 2,99	12,0 +/- 2,31
+0	+4	1,0 +/- 0,00	3,0 +/- 3,61	2,0 +/- 0,58	5,3 +/- 1,33
+1		7,3 +/- 7,09	8,0 +/- 6,93	13,4 +/- 5,52	14,1 +/- 2,27
+2		2,0 +/- 1,00	2,0 +/- 1,00	4,4 +/- 1,64	6,6 +/- 2,46
+3		4,0 +/- 1,00	4,0 +/- 3,61	12,0 +/- 3,48	12,7 +/- 5,11
+4		2,0 +/- 1,73	2,0 +/- 1,73	7,3 +/- 1,00	3,0 +/- 0,67
+5		2,7 +/- 0,58	2,0 +/- 2,65	4,6 +/- 1,50	5,9 +/- 1,39
+6		0,0 +/- 0,00	0,0 +/- 0,00	0,4 +/- 0,77	0,1 +/- 0,19
+7		1,0 +/- 1,00	1,0 +/- 0,00	0,2 +/- 0,27	0,9 +/- 0,51

Tab. A 20 Flugaktivität nach manueller Staubapplikation von 1 g as Clothianidin/ha (T1) und 2 g as/ha (T2)

Tag vor (-) / nach (+) Applikation	Std. vor (-) / nach (+) Applikation	Kontrolle	T1	T2
		MW +/- SD	MW +/- SD	MW +/- SD
-3		3,00 ± 2,35	2,1 ± 2,20	3,9 ± 1,96
-2		12,8 ± 12,40	9,11 ± 6,51	15,0 ± 4,03
-1		1,9 ± 1,83	1,7 ± 1,73	5,2 ± 2,99
0	+1	17,1 ± 6,99	10,1 ± 3,41	13,0 ± 2,69
0	+2	15,9 ± 6,90	9,4 ± 4,77	12,0 ± 1,80
0	+4	12,4 ± 6,04	11,3 ± 3,84	15,3 ± 2,96
1		3,3 ± 2,83	1,8 ± 1,39	9,4 ± 3,91
2		6,8 ± 3,15	5,6 ± 1,88	5,7 ± 2,00
3		0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
4		0,4 ± 0,73	0,1 ± 0,33	0,0 ± 0,00
5		0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
6		8,3 ± 3,00	7,9 ± 2,52	9,4 ± 1,51
7		4,9 ± 2,09	2,4 ± 1,13	4,0 ± 2,00

Tab. A 21 Flugaktivität nach Vergleich manueller Staub- und Spritzapplikation mit je 1 g as Clothianidin/ha

Tag vor (-) / nach (+) Applikation	Std. vor (-) / nach (+) Applikation	CD	TD	CS	TS
		MW +/- SD	MW +/- SD	MW +/- SD	MW +/- SD
-2		10,3 ± 2,8	9,7 ± 4,5	9,7 ± 2,8	4,7 ± 1,8
-1		12,3 ± 1,9	14,7 ± 1,6	14,2 ± 1,2	14,1 ± 3,5
-0		10,3 ± 9,2	10,9 ± 9,1	8,0 ± 6,4	7,9 ± 3,8
+0	+2	16,5 ± 1,2	21,6 ± 4,7	12,5 ± 2,1	14,3 ± 5,1
+0	+4	22,5 ± 4,0	20,4 ± 5,2	9,3 ± 4,7	14,8 ± 3,3
+1		20,7 ± 2,4	17,1 ± 5,3	25,5 ± 3,5	10,4 ± 5,3
+2		5,2 ± 1,6	6,3 ± 2,8	4,0 ± 1,9	6,0 ± 1,7
+3		11,7 ± 4,2	18,2 ± 4,2	11,8 ± 3,7	7,7 ± 4,2
+4		19,6 ± 6,7	22,4 ± 2,4	23,5 ± 4,0	11,5 ± 3,0
+5		26,8 ± 4,3	25,5 ± 3,2	22,2 ± 3,5	34,3 ± 8,9
+6		22,2 ± 3,1	26,0 ± 2,4	22,8 ± 3,2	11,3 ± 2,1
+7		16,0 ± 0,5	22,3 ± 4,6	8,6 ± 7,5	9,8 ± 1,4

IV Rückstände in Nichtzielflächen

Tab. A 22 Rückstände in Petrischalen

Versuchs- bezeichnung	Maisausaat 2010	Maisausaat 2011	Maisausaat 2012	Rapsausaat 2011	Rapsausaat 2013	Rapsausaat 2014/1	Rapsausaat 2014/2
Heubach g as/ha	0,091	0,086	0,041	0,025	0,009	0,0047	0,0009
Abstand	Rückstände in Petrischalen in g as / ha (\pm Standardabweichung)						
0,15	n.a.	0,497 \pm 0,061	0,040 \pm 0,020	0,027 \pm 0,003	0,076 \pm 0,016	0,053 \pm 0,053	0,0031 \pm 0,0014
1	0,110 \pm 0,000	0,203 \pm 0,070	0,026 \pm 0,011	0,026 \pm 0,006	0,069 \pm 0,020	0,047 \pm 0,069	0,0024 \pm 0,0008
3	0,108 \pm 0,058	0,130 \pm 0,026	0,024 \pm 0,007	0,018 \pm 0,003	0,049 \pm 0,011	0,009 \pm 0,003	0,0015 \pm 0,0004
5	0,080 \pm 0,045	0,109 \pm 0,011	0,016 \pm 0,007	0,018 \pm 0,007	0,043 \pm 0,009	0,009 \pm 0,006	0,0012 \pm 0,0003
10	0,055 \pm 0,038	0,066 \pm 0,016	0,010 \pm 0,005	0,011 \pm 0,002	0,030 \pm 0,001	0,010 \pm 0,006	0,0010 \pm 0,0002
20	0,028 \pm 0,012	0,042 \pm 0,006	0,005 \pm 0,004	0,009 \pm 0,004	0,019 \pm 0,003	0,002 \pm 0,001	0,0014 \pm 0,0013
29,5	n.a.	0,025 \pm 0,003	0,002 \pm 0,002	0,008 \pm 0,002	0,012 \pm 0,001	0,004 \pm 0,003	0,0010 \pm 0,0005
Mittelwert 1-5 m μg/kg	0,0993	0,1476	0,0219	0,0208	0,0534	0,0216	0,0017

Tab. A 23 Rückstände in Blüten im benachbarten Bestand

Versuchs- bezeichnung	Maisausaat 2010	Maisausaat 2011	Maisausaat 2012	Rapsausaat 2011	Rapsausaat 2013	Rapsausaat 2014/1	Rapsausaat 2014/2
Heubach g as/ha	0,091	0,086	0,041	0,025	0,009	0,0047	0,0009
Abstand	Rückstände in Blüten in μg as / kg (\pm Standardabweichung)						
0,15 m	88,9 \pm 14,6	192,0 \pm 124,4	13,7 \pm 7,2	18,4 \pm 4,9	32,8 \pm 3,9	3,2 \pm 0,9	2,1 \pm 0,3
1 m	32,4 \pm 1,7	85,0 \pm 42,8	4,5 \pm 2,0	10,1 \pm 8,5	20,6 \pm 9,0	2,3 \pm 0,5	1,8 \pm 0,5
3 m	17,4 \pm 3,7	33,7 \pm 13,6	3,5 \pm 2,2	4,3 \pm 3,0	9,6 \pm 3,4	0,9 \pm 0,2	1,6 \pm 0,7
5 m	14,9 \pm 3,3	33,7 \pm 14,2	4,8 \pm 0,7	2,9 \pm 1,5	6,7 \pm 1,5	0,7 \pm 0,1	2,0 \pm 0,9
29,5 m	n.v.	n.v.	n.v.	0,0 \pm 0,0	3,0 \pm 0,8	0,7 \pm 0,2	2,9 \pm 1,5
Mittelwert 1-5 m	21,5	50,7	4,2	5,8	12,3	1,32	1,79

V Akute Mortalität: Maisaussa

Tab. A 24 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Mais unter Halbfreilandbedingungen (\pm Standardabweichung)

Halbfreiland	Var.	-3 TVA	-2 TVA	-1 TVA	-0 TVA	+0 TNA	+1 TNA	+2 TNA	+3 TNA	+4 TNA	+5 TNA	+6 TNA	+7 TNA
Maisaussa 2010	K	n.a.	39,7 \pm 36,9c	14,3 \pm 4,2c	18,3 \pm 9,2c	22,7 \pm 13,6 c	26,7 \pm 10,3 c	11,7 \pm 8,7c	18,0 \pm 11,4c	36,3 \pm 17,2c	81,3 \pm 2,1c	27,0 \pm 20,4c	28,7 \pm 16,6c
	T	n.a.	14,7 \pm 8,0c	9,0 \pm 2,0c	6,7 \pm 2,9c	378,3 \pm 186,4b	815,3 \pm 495,7a	101,3 \pm 38,2c	191,0 \pm 83,3bc	215,7 \pm 44,6bc	175,0 \pm 64,4bc	52,0 \pm 19,7c	209,0 \pm 129,3bc
Maisaussa 2011	K	11,7 \pm 11,2d	10,3 \pm 1,5 d	13,3 \pm 3,5 d	10,0 \pm 5,2d	26,7 \pm 8,5 cd	34,0 \pm 52,0cd	9,7 \pm 10,8d	5,7 \pm 5,7d	4,3 \pm 3,2d	9,3 \pm 4,5d	6,0 \pm 5,2d	0,0 \pm 0,0,0
	T	16,7 \pm 6,5d	15,7 \pm 5,9d	12,3 \pm 7,1cd	10,3 \pm 4,9d	198,3 \pm 98,3b	440,7 \pm 252,0a	137,0 \pm 108,7bcd	197,3 \pm 95,7b	123,3 \pm 54,9bcd	157,7 \pm 35,8bc	117,3 \pm 33,3bcd	0,0 \pm 0,0,0
Maisaussa 2012	K	23,3 \pm 6,7abc	3,7 \pm 6,4cd	12,0 \pm 9,5bcd	4,3 \pm 4,9bcd	4,7 \pm 2,5bcd	1,0 \pm 0,0d	1,7 \pm 0,6bcd	4,0 \pm 4,6bcd	9,3 \pm 2,5bcd	1,7 \pm 0,6d	8,0 \pm 5,3bcd	8,7 \pm 3,2bcd
	T	22,7 \pm 4,6ab	2,3 \pm 0,6d	5,0 \pm 2,6bcd	2,0 \pm 2,0d	44,7 \pm 35,5a	21,0 \pm 16,1abcd	10,3 \pm 15,3d	8,0 \pm 5,3bcd	15,0 \pm 13,2bcd	1,0 \pm 1,0d	8,3 \pm 6,4bcd	19,3 \pm 16,3abc

V= Variante, K= Kontrolle, T = Treatment, R= Referenz, TVA = Tage vor Aussaat, TNA = Tage nach Aussaat. Statistische Auswertung; ANOVA mit Messwiederholungen, post hoc test: Dunn-Sidak. Werte die keine identischen Buchstaben gemeinsam haben sind signifikant verschieden ($p < 0,05$).

Tab. A 25 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Mais unter Freilandbedingungen (\pm Standardabweichung)

Freiland	Var.	-3 TVA	-2 TVA	-1 TVA	-0 TVA	+0 TNA	+1 TNA	+2 TNA	+3 TNA	+4 TNA	+5 TNA	+6 TNA	+7 TNA
Maisaussa 2010	R	n.v. n.a.	80,0 \pm 44,6 efg	25,0 \pm 25,7 ghij	26,0 \pm 11,5 fghij	28,3 \pm 3,4 fghij	44,3 \pm 9,5 efghij	13,3 \pm 3,8 hij	12,5 \pm 9,0 hij	28,0 \pm 15,6 fghij	30,5 \pm 40,5 efghij	69,3 \pm 37,3 efgh	30,8 \pm 23,9 efghij
	K	n.v. n.a.	64,8 \pm 59,5 efghij	7,8 \pm 7,5 j	13,5 \pm 4,5 hij	83,5 \pm 16,7 def	67,3 \pm 27,1 efghi	62,8 \pm 30,2 efghij	20,3 \pm 14,0 hij	38,8 \pm 24,3 efghij	141,5 \pm 96,8 cd	33,5 \pm 41,2 efghij	40,8 \pm 61,0 efghij
	T	0,0 \pm 0,0 n.a.	63,0 \pm 8,0 efghij	16,8 \pm 6,2 hij	37,0 \pm 20,0 efghij	190,0 \pm 122,5 abc	234,3 \pm 121,3 ab	42,8 \pm 18,2 efghij	88,3 \pm 53,9 de	274,8 \pm 101,8 a	65,5 \pm 67,1 efghij	45,0 \pm 21,7 efghij	9,3 \pm 5,6 ij
Maisaussa 2011	R	18,5 \pm 7,9 cde	10,5 \pm 3,1 cde	12,8 \pm 4,8 cde	45,8 \pm 21,5 bcde	11,0 \pm 8,8 cde	3,0 \pm 2,8 de	1,3 \pm 1,3 e	2,8 \pm 1,0 de	2,0 \pm 1,6 de	1,8 \pm 1,0 de	1,8 \pm 0,5 de	0,0 \pm 0,0 0,0
	K	55,0 \pm 31,6 bc	20,0 \pm 14,1 cde	44,3 \pm 23,2 bcde	35,3 \pm 26,0 cde	8,3 \pm 4,6 cde	39,5 \pm 18,4 cde	18,8 \pm 15,6 cde	11,3 \pm 11,0 cde	11,8 \pm 15,6 cde	13,0 \pm 14,3 cde	10,3 \pm 9,3 cde	0,0 \pm 0,0 0,0
	T	52,0 \pm 22,1 bcde	48,0 \pm 68,8 bcde	56,0 \pm 87,4 bcde	125,5 \pm 207,0 a	30,3 \pm 12,3 cde	93,8 \pm 43,4 ab	31,8 \pm 22,2 cde	55,8 \pm 87,6 bcd	36,8 \pm 52,9 cde	17,5 \pm 17,1 cde	5,8 \pm 4,2 e	0,0 \pm 0,0 0,0
Maisaussa 2012	R	68,3 \pm 64,8 a	14,3 \pm 19,2 c	5,3 \pm 7,8 c	15,5 \pm 18,7 c	3,8 \pm 3,9 c	4,0 \pm 3,6 c	15,5 \pm 8,2 c	15,5 \pm 8,2 c	15,8 \pm 8,3 c	5,8 \pm 9,5 c	20,0 \pm 5,0 bc	44,3 \pm 72,6 bc
	K	205,0 \pm 226,6 ab	2,8 \pm 3,0 c	4,8 \pm 1,7 c	2,5 \pm 2,4 c	1,3 \pm 1,0 c	4,5 \pm 3,7 c	5,0 \pm 1,8 c	2,5 \pm 2,4 c	16,8 \pm 6,7 c	3,5 \pm 5,7 c	13,5 \pm 1,9 bc	1,8 \pm 1,0 bc
	T	108,8 \pm 154,2 ab	2,3 \pm 1,5 c	3,3 \pm 3,9 c	1,0 \pm 0,8 c	2,5 \pm 2,5 c	7,0 \pm 2,9 c	2,8 \pm 0,5 c	7,3 \pm 4,3 c	43,5 \pm 45,4 bc	8,3 \pm 4,1 c	20,0 \pm 5,1 bc	23,5 \pm 35,8 bc

V= Variante, K= Kontrolle, T = Treatment, R= Referenz, TVA = Tage vor Aussaat, TNA = Tage nach Aussaat. Statistische Auswertung; ANOVA mit Messwiederholungen, post hoc test: Dunn-Sidak. Werte die keine identischen Buchstaben gemeinsam haben sind signifikant verschieden ($p < 0,05$).

V Akute Mortalität: Rapsaussa

Tab. A 26 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Raps unter Halbfreilandbedingungen (\pm Standardabweichung)

Halbfreiland	Var.	-3 TVA	-2 TVA	-1 TVA	-0 TVA	+0 TNA	+1 TNA	+2 TNA	+3 TNA	+4 TNA	+5 TNA	+6 TNA	+7 TNA
Rapsaussa 2011	<u>K</u>	n.v.	n.v.	n.v.	8,0 \pm 3,2abc	17,7 \pm 23,7 a	4,2 \pm 3,2c	2,5 \pm 1,5c	4,5 \pm 4,6c	2,2 \pm 3,9c	5,5 \pm 6,2c	4,7 \pm 3,9c	2,5 \pm 2,8 c
	<u>T</u>	n.v.	n.v.	n.v.	6,8 \pm 4,8 abc	9,5 \pm 3,8 abc	9,0 \pm 10,1 abc	6,7 \pm 12,3 bc	11,2 \pm 15,9 abc	6,8 \pm 14,8 abc	12,7 \pm 18,4 abc	17,0 \pm 24,4 abc	9,5 \pm 15,2 abc
Rapsaussa 2013	<u>K</u>	2,0 \pm 1,0 bc	1,3 \pm 1,2 bc	1,3 \pm 1,5 bc	1,7 \pm 0,6 bc	6,7 \pm 9,3 bc	6,3 \pm 4,0 bc	1,7 \pm 2,9 bc	3,3 \pm 2,9 bc	2,0 \pm 1,0 bc	0,7 \pm 1,2 c	1,7 \pm 2,1 c	1,7 \pm 0,6 c
	<u>T</u>	3,0 \pm 2,0 bc	1,0 \pm 1,0 bc	1,0 \pm 1,0 bc	2,0 \pm 1,0 bc	4,7 \pm 2,3 bc	80,3 \pm 17,6 a	14,3 \pm 13,2 bc	15,3 \pm 17,4 b	5,7 \pm 4,0 ,c	1,3 \pm 0,6 bc	0,7 \pm 0,6 bc	0,7 \pm 0,6 bc
Rapsaussa 2014/1	<u>K</u>	18,3 \pm 5,7 a	5,7 \pm 1,5 cde	8,0 \pm 6,6 bcde	3,8 \pm 3,7 cde	6,7 \pm 2,5 cde	4,3 \pm 2,5 cde	-	5,3 \pm 3,8 cde	-	-	12,7 \pm 6,8 abcd	5,3 \pm 2,1 cde
	<u>T</u>	17,7 \pm 8,0 ab	3,7 \pm 3,1 cde	4,0 \pm 3,6 cde	3,8 \pm 4,3 cde	0,3 \pm 0,6 e	7,0 \pm 1,0 cde	-	10,7 \pm 7,8 abcd	-	-	13,3 \pm 3,8 abx	3,0 \pm 1,7 de
Rapsaussa 2014/2	<u>K</u>	4,0 \pm 1,4 ab	2,0 \pm 2,8 bc	1,0 \pm 1,0 c	2,3 \pm 0,6 bc	0,6 \pm 1,1 bc	1,7 \pm 2,1 bc	1,0 \pm 1,0 c	0,7 \pm 1,2 c	2,0 \pm 1,0 bc	1,0 \pm 1,0 c	1,7 \pm 2,9 bc	3,7 \pm 3,2 abc
	<u>T</u>	7,3 \pm 4,2 a	1,3 \pm 0,6 bc	3,0 \pm 1,7 bc	2,0 \pm 1,7 bc	0,1 \pm 0,3 c	2,0 \pm 2,0 bc	3,7 \pm 0,6 abc	1,0 \pm 1,0 c	3,3 \pm 2,1 abc	1,7 \pm 0,6 bc	3,3 \pm 3,2 abc	3,3 \pm 2,1 abc

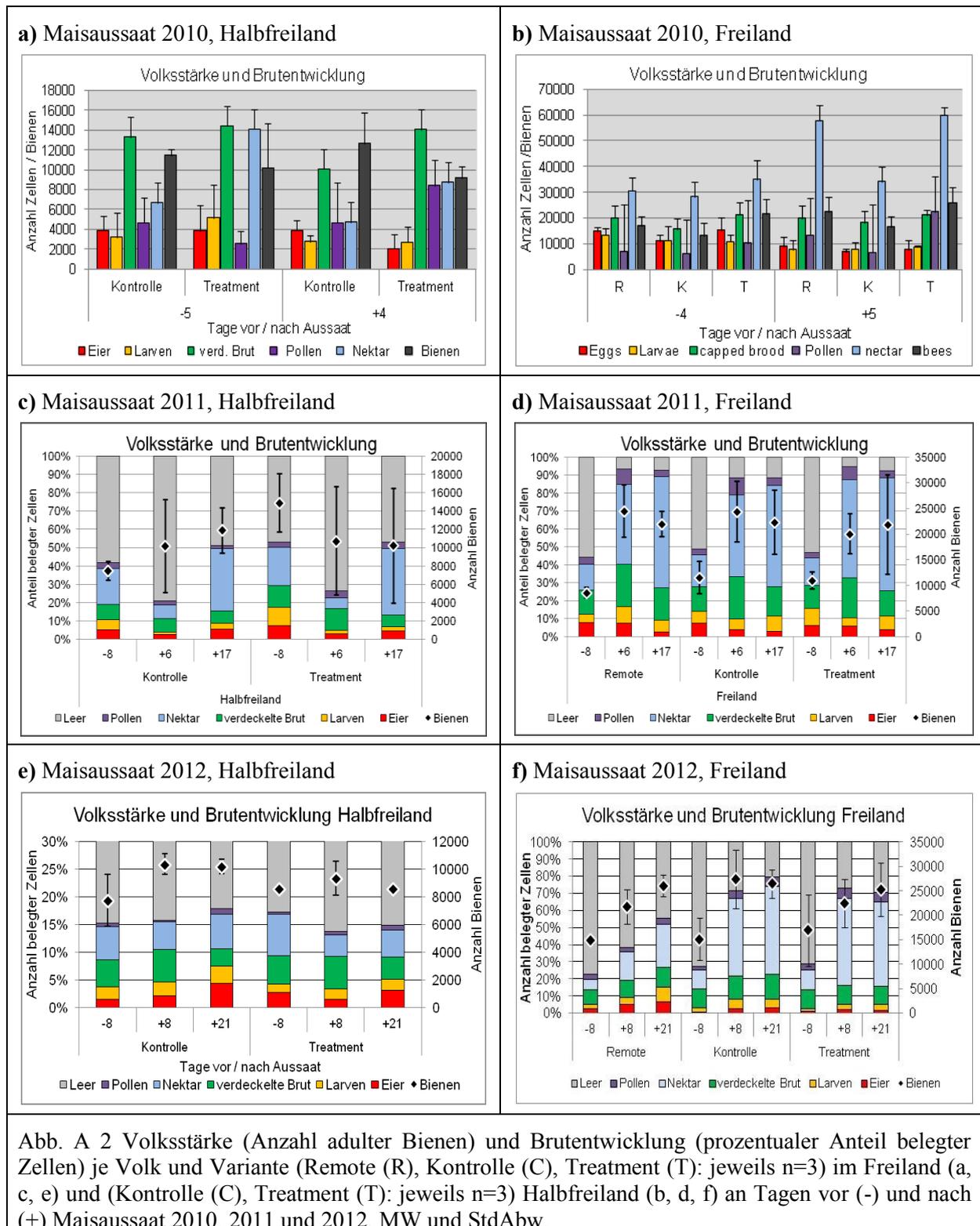
V= Variante, K= Kontrolle, T = Treatment, R= Referenz, TVA = Tage vor Aussaat, TNA = Tage nach Aussaat. Statistische Auswertung: ANOVA mit Messwiederholungen, post hoc test: Dunn-Sidak. Werte die keine identischen Buchstaben gemeinsam haben sind signifikant verschieden ($p < 0,05$).

Tab. A 27 Mittlere tägliche Mortalität je Volk und statistische Auswertung der Abdriftversuche mit Raps unter Freilandbedingungen (\pm Standardabweichung)

Freiland	Var.	-3 TVA	-2 TVA	-1 TVA	-0 TVA	+0 TNA	+1 TNA	+2 TNA	+3 TNA	+4 TNA	+5 TNA	+6 TNA	+7 TNA
Rapsaussaart 2011	R	n.v.	n.v.	n.v.	31,3 \pm 18,5 a	4,8 \pm 3,0 c	6,3 \pm 5,3 bc	2,3 \pm 1,9 c	3,8 \pm 1,7 c	4,3 \pm 2,6 c	9,0 \pm 4,8 bc	8,0 \pm 7,1 c	3,0 \pm 0,8 c
	K	n.v.	n.v.	n.v.	25,5 \pm 42,4 ab	5,5 \pm 2,1 bc	12,5 \pm 3,9 abc	10,3 \pm 1,7 bc	3,0 \pm 1,4c	6,0 \pm 3,6 bc	5,0 \pm 3,7 bc	4,3 \pm 3,7 c	2,5 \pm 1,3 c
	T	n.v.	n.v.	n.v.	11,0 \pm 10,9 abc	6,0 \pm 2,4 bc	13,3 \pm 5,9 abc	10,3 \pm 4,6 bc	5,3 \pm 1,7 bc	9,8 \pm 5,9 bc	18,0 \pm 15,9 abc	20,0 \pm 17,8 abc	6,8 \pm 4,6 c
Rapsaussaart 2013	K	3,7 \pm 3,8 bcd	1,7 \pm 0,6 d	4,3 \pm 3,1 abc	10,7 \pm 7,5 bcd	6,7 \pm 5,7 bcd	6,0 \pm 2,6 bcd	0,0 \pm 0,0 d	2,0 \pm 1,0 d	3,3 \pm 1,2 bcd	5,7 \pm 4,0 bcd	6,0 \pm 2,0 bcd	5,7 \pm 0,6 bcd
	T	11,0 \pm 8,0 a,b	4,7 \pm 6,4 b,c,d	7,3 \pm 5,5 b,c,d	3,3 \pm 1,2 b,c,d	3,3 \pm 1,5 b,c,d	15,7 \pm 6,5 a	4,0 \pm 4,6 b,c,d	2,7 \pm 3,1 c,d	4,0 \pm 1,7 b,c,d	2,7 \pm 1,2 c,d	1,0 \pm 1,0 d	3,7 \pm 1,5 b,c,d
Rapsaussaart 2014/1	K	50,3 \pm 41,5 a	7,7 \pm 2,5 e	10,7 \pm 8,0 cde	7,9 \pm 9,0 e	6,3 \pm 3,2 e	12,7 \pm 4,0 e	Keine Daten	76,0 \pm 21,8 e	Keine Daten	-	25,0 \pm 20,0 bcde	3,3 \pm 2,5 e
	T	43,3 \pm 11,0 bcd	13,7 \pm 9,0 de	12,7 \pm 4,9 e	9,9 \pm 6,6 e	5,7 \pm 4,6 e	20,7 \pm 3,8 e	Keine Daten	51,7 \pm 21,4 ab	Keine Daten	Keine Daten	52,3 \pm 32,7 ab	1,3 \pm 1,2 e
Rapsaussaart 2014/2	K	18,7 \pm 15,3 a,b	14,0 \pm 9,6 a,b	10,3 \pm 9,3 a,b	13,0 \pm 1,0 a,b	3,7 \pm 2,6 a,b	5,7 \pm 4,0 b	19,3 \pm 11,8 a,b	10,7 \pm 8,1 a,b	19,3 \pm 13,0 a,b	12,0 \pm 7,8 a,b	14,3 \pm 8,1 a,b	18,7 \pm 15,3 a,b
	T	19,3 \pm 24,2 a,b	12,7 \pm 11,6 a,b	3,3 \pm 1,5 b	1,7 \pm 2,1 b	1,9 \pm 1,3 b	6,3 \pm 0,6 b	36,0 \pm 52,8 a	10,0 \pm 11,5 a,b	7,0 \pm 2,6 a,b	4,7 \pm 3,1 b	5,3 \pm 2,3 b	5,0 \pm 3,5 b

V= Variante, K= Kontrolle, T = Treatment, R= Referenz, TVA = Tage vor Aussaat, TNA = Tage nach Aussaat. Statistische Auswertung: ANOVA mit Messwiederholungen, post hoc test: Dunn-Sidak. Werte die keine identischen Buchstaben gemeinsam haben sind signifikant verschieden ($p < 0,05$).

VI Volks- und Brutentwicklung: Maisaussa



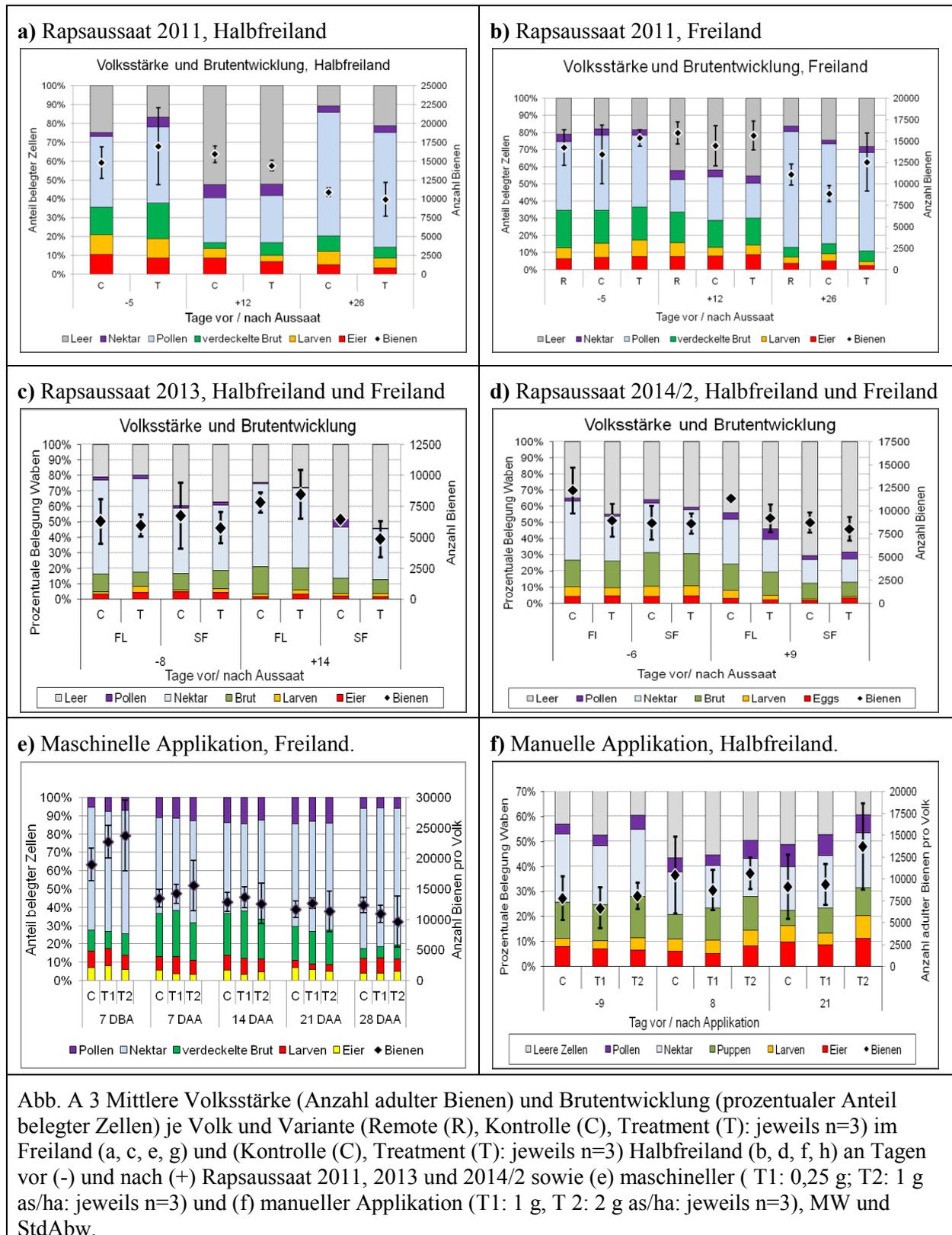
Tab. A 28 Statistische Auswertung der Anzahl adulter Bienen im Volk in Abdriftversuchen mit Maisaussaats mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

Maisaussaats 2010: HBAS 0,091 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	15	3,943	0,066	1	8	0,003	0,960
Gruppe	2	15	5,023	0,021	1	8	2,181	0,178
Zeit*Gruppe	2	15	0,059	0,943	1	8	0,495	0,502
Maisaussaats 2011: HBAS 0,086 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	27	6,113	0,006	2	12	0,066	0,936
Gruppe	2	27	0,133	0,876	1	12	1,436	0,254
Zeit*Gruppe	4	27	0,755	0,564	2	12	2,443	0,129
Maisaussaats 2012: HBAS 0,041 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	26	20,130	< 0,0001	2	12	4,933	0,027
Gruppe	2	26	0,713	0,500	1	12	1,486	0,246
Zeit*Gruppe	4	26	0,832	0,517	2	12	2,593	0,116

Tab. A 29 Statistische Auswertung der Anzahl Brutzellen (Eier, Larven und verdeckelte Brut) im Volk in Abdriftversuchen mit Maisaussaats mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

Maisaussaats 2010: HBAS 0,091 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	15	5,61	0,032	1	8	2,94	0,125
Gruppe	2	15	1,34	0,291	1	8	3,46	0,100
Zeit*Gruppe	2	15	0,24	0,788	1	8	0,04	0,844
Maisaussaats 2011: HBAS 0,086 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	27	6,11	0,006	2	9	6,87	0,015
Gruppe	2	27	0,13	0,876	1	9	0,44	0,521
Zeit*Gruppe	4	27	0,75	0,564	2	9	2,80	0,113
Maisaussaats 2012: HBAS 0,041 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	26	10,79	0,000	2	12	0,71	0,511
Gruppe	2	26	4,31	0,024	1	12	1,05	0,325
Zeit*Gruppe	4	26	2,11	0,108	2	12	1,20	0,334

VI Volks- und Brutentwicklung: Rapsaussaart



Tab. A 30 Statistische Auswertung der Anzahl Bienen im Volk in Abdriftversuchen mit Maisaussaart mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

Rapsaussaart 2011: HBAS 0,025 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	27	23,54	< 0,0001	2	12	8,47	0,005
Gruppe	2	27	2,04	0,149	1	12	0,005	0,944
Zeit*Gruppe	4	27	0,68	0,612	2	12	0,93	0,420
Rapsaussaart 2013: HBAS 0,009 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	8	9,58	0,015	1	8	0,30	0,599
Gruppe	1	8	0,02	0,888	1	8	2,79	0,133
Zeit*Gruppe	1	8	0,59	0,466	1	8	0,08	0,784
Rapsaussaart 2014/2: HBAS 0,0009 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	8	0,16	0,701	1	8	0,46	0,515
Gruppe	1	8	5,39	0,049	1	8	0,15	0,711
Zeit*Gruppe	1	8	0,49	0,504	1	8	0,61	0,455

Tab. A 31 Statistische Auswertung der Anzahl Brutzellen (Eier, Larven und verdeckelte Brut) im Volk in Abdriftversuchen mit Rapsaussaart mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

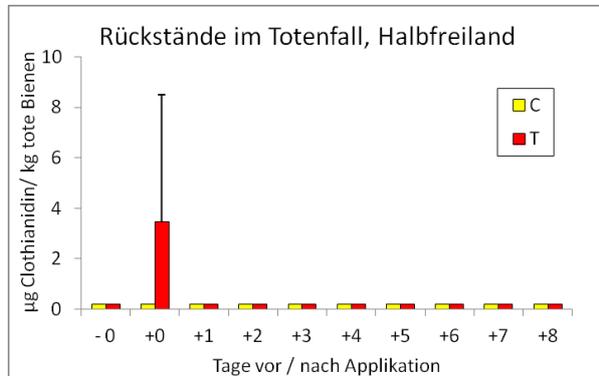
Rapsaussaart 2011: HBAS 0,025 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	27	42,70	< 0,0001	2	12	9,66	0,003
Gruppe	2	27	0,19	0,889	1	12	0,08	0,778
Zeit*Gruppe	4	27	0,550	0,701	2	12	0,33	0,724
Rapsaussaart 2013: HBAS 0,009 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	8	2,13	0,182	1	8	2,03	0,192
Gruppe	1	8	0,00	1,000	1	8	0,25	0,634
Zeit*Gruppe	1	8	0,11	0,747	1	8	0,17	0,693
Rapsaussaart 2014/2: HBAS 0,0009 g as/ha								
	Freiland				Halbfreiland			
Effekte	1	8	49,439	0,000	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	8	0,16	0,701	1	8	6,53	0,034
Gruppe	1	8	0,000	0,987	1	8	0,54	0,484
Zeit*Gruppe	1	8	0,07	0,801	1	8	1,36	0,277

Tab. A 32 Statistische Auswertung der Anzahl Bienen und der Anzahl Brutzellen (Eier, Larven und verdeckelte Brut) im Volk in Applikationsversuchen mittels mehrfaktorieller ANOVA mit Messwiederholungen

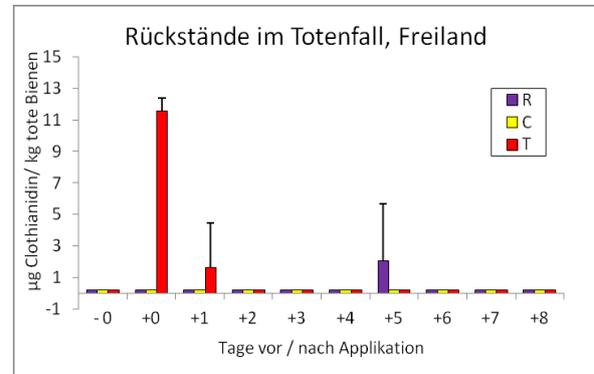
Manuelle Applikation 1 g und 2 g as/ha im Halbfreiland								
	Bienen				Brut			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	2	18	2,67	0,097	2	18	0,30	0,748
Gruppe	2	18	1,16	0,335	2	18	2,36	0,123
Zeit*Gruppe	4	18	0,51	0,726	4	18	0,19	0,942
Manuelle Staubapplikation im Vergleich mit Spritzapplikation von 1 g as/ha im Halbfreiland								
	Bienen				Brut			
Effekte	Num FG	Den FG	F	Pr > F	Num FG	Den FG	F	Pr > F
Zeit	1	16	25,88	0,000	1	16	5,80	0,028
Gruppe	3	16	0,41	0,745	3	16	0,27	0,849
Zeit*Gruppe	3	16	4,65	0,016	3	16	1,39	0,282

VII Rückstände im Totenfall nach Rapsaussa

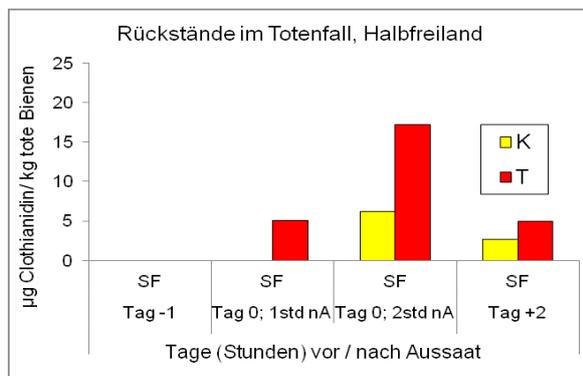
a) Rapsaussa 2011, Halbfreiland



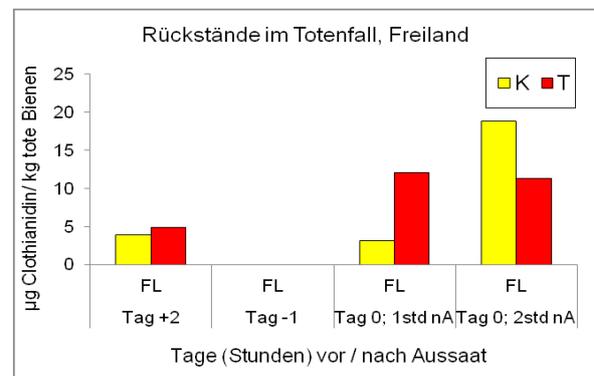
b) Rapsaussa 2011, Freiland



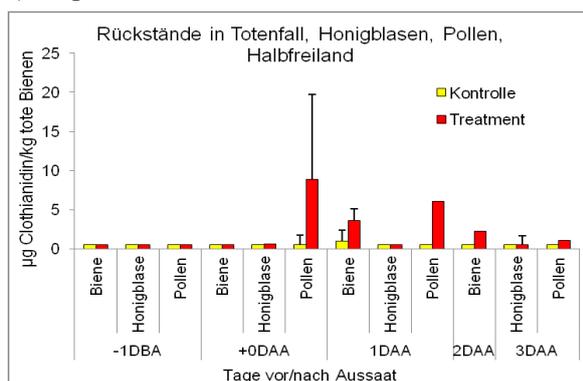
c) Rapsaussa 2013, Halbfreiland



d) Rapsaussa 2011, Freiland



e) Rapsaussa 2014/2, Halbfreiland



f) Rapsaussa 2014/2, Freiland

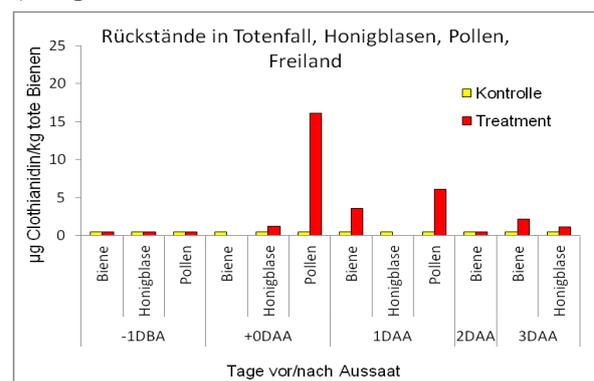


Abb. A 4 Rückstände in toten Bienen aus Totenfallen in Halbfreiland (a,b,c) und Freiland (d,e,f) nach Rapsaussa 2011 (a, b), 2013 (c, d) und 2014/2 (e, f). Proben für Analysen pro Variante und Tag gepoolt; an Tagen ohne Fehlerbalken wurde 1 Probe je Termin analysiert. Einzelwerte oder MW mit StdAbw. Totenfall siehe Abb. 11.

VIII Bienenvergiftungen

Tab. A 33 Schadfälleinsendungen an die Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen mit Verdacht auf Bienenvergiftung durch Pflanzenschutzmittel

Jahr	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Schadfälle	140	125	150	81	108	135
Proben insgesamt	371	374	367	195	302	246
Bienen	180	173	206	101	139	146
Pflanzen	118	151	107	66	123	88
Waben / sonstige	73	50	54	28	40	12
Anzahl Imker mit geschädigten Völkern	176	129	165	91	122	153
Geschädigte Bienenvölker	2341	1507	1351	1184	1406	1482

Stand: 1.12.2014

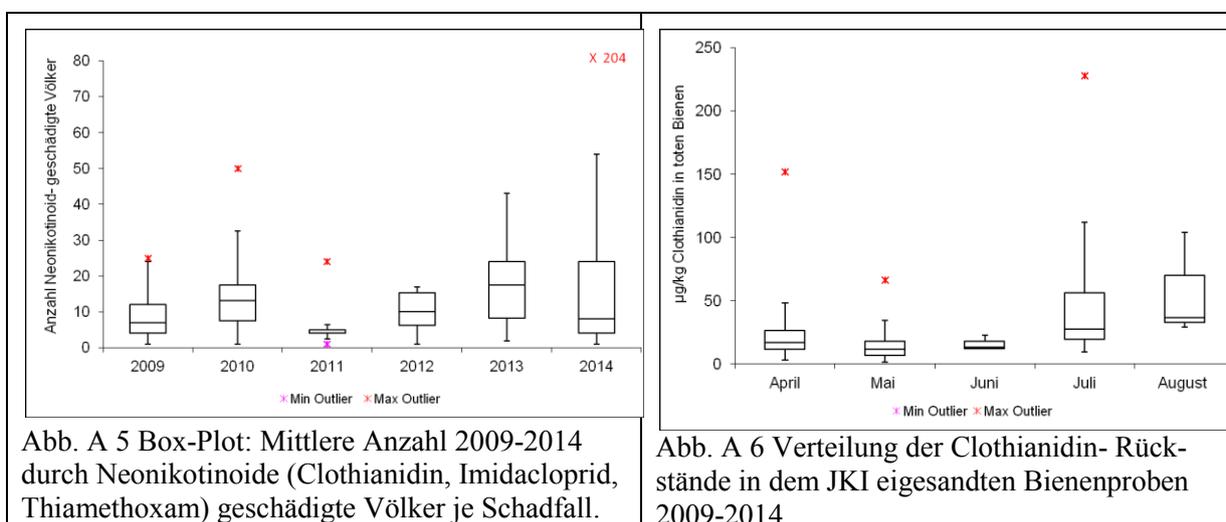


Abb. A 5 Box-Plot: Mittlere Anzahl 2009-2014 durch Neonicotinoide (Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam) geschädigte Völker je Schadfall.

Abb. A 6 Verteilung der Clothianidin- Rückstände in dem JKI eigesandten Bienenproben 2009-2014.

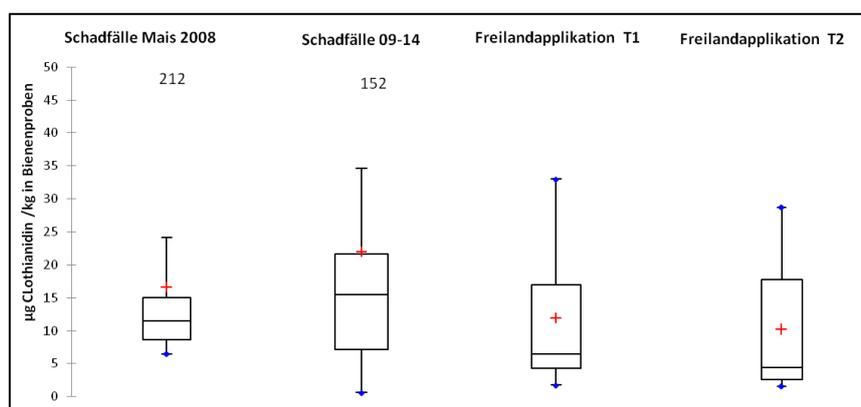


Abb. A 7 Vergleich Rückstände in Bientotenfall nachgewiesener Maisschäden mit Clothianidin in 2008 (n=66; Daten aus Pistorius *et al.*, 2009), Rückstände in Schadfällen mit Clothianidin in Jahren 2009-2014 (n=39) mit Rückständen aus Totenfall des Versuchs mit gezielter Freilandapplikation von 0,25 (T1; n=10) und 1,0 g (T2; n=10) im Mittel von null bis 7 Tage nach Applikation.

