



**LfL**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Überprüfung einer Bodenanwendung  
von Actara (Wirkstoff „Thiamethoxam“)  
im Hopfen auf das Verhalten der  
Bienen und eventueller schädlicher  
Auswirkungen



**Schriftenreihe**

ISSN 1611-4159

8  
2011

## **Impressum**

Herausgeber: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL)  
Vöttinger Straße 38, 85354 Freising-Weihenstephan  
Internet: [www.LfL.bayern.de](http://www.LfL.bayern.de)

Redaktion: Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
Arbeitsbereich Hopfen, Hopfenforschungszentrum Hüll  
Hüll 5 1/3, 85283 Wolnzach  
E-Mail: [Hopfenforschungszentrum@LfL.bayern.de](mailto:Hopfenforschungszentrum@LfL.bayern.de)  
Telefon: 08442/9257-0

Topokarten: Seiten 13 und 18: © Bayerische Vermessungsverwaltung  
([www.geodaten.bayern.de](http://www.geodaten.bayern.de))

1. Auflage: November 2011

Druck: ES-Druck, 85356 Freising-Tüntenhausen

Schutzgebühr: 10,00 Euro

© LfL



# **Überprüfung einer Bodenanwendung von Actara (Wirkstoff "Thiamethoxam") im Hopfen auf das Verhalten der Bienen und eventueller schädlicher Auswirkungen**

**B. Engelhard<sup>1)</sup>, I. Illies<sup>2)</sup>, J. Pistorius<sup>3)</sup>,  
V. Gottschalch<sup>4)</sup>, K. Wallner<sup>4)</sup>**

<sup>1)</sup>Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung,  
Hopfenforschungszentrum Hüll

<sup>2)</sup>Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau, Fachzentrum Bienen

<sup>3)</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

<sup>4)</sup>Universität Hohenheim, Landesanstalt für Bienenkunde



# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>9</b>
<b>Summary.....</b>	<b>10</b>
<b>1 Aufgaben und Ziele.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Material und Methoden.....</b>	<b>13</b>
2.1 Standortauswahl für die Freilandprüfungen mit Bienenvölkern .....	13
2.2 Völkerführung sowie Erfassung der Volksentwicklung und Brutmortalität.....	15
2.3 Standardbodenbearbeitung der Hopfengärten im Frühjahr .....	16
2.4 Anwendungsbedingungen für Actara.....	17
2.5 Anwendungen weiterer Pflanzenschutzmittel während der Vegetation.....	19
2.6 Kontrollen und Probennahmen.....	19
2.6.1 Bodenproben .....	19
2.6.2 Blattproben von Hopfen .....	20
2.6.3 Blattproben von Zwischenfrüchten und von Löwenzahn.....	21
2.6.4 Guttation.....	21
2.6.5 Bienenflug im Hopfengarten .....	22
2.6.6 Kontakt der Bienen zu Guttationswasser .....	22
2.6.7 Behandlung und Aufbereitung von Pollenproben .....	25
2.6.8 Alternative Wasserquellen für Wassersammlerinnen in Fahrspuren und Wasserpfützen .....	26
2.6.9 „Strunkwasser“ nach der Ernte.....	26
<b>3 Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>27</b>
3.1 Landwirtschaftlicher Bereich .....	27
3.1.1 Verteilung des Wirkstoffes im Boden .....	27
3.1.2 Verteilung des Wirkstoffes in Zwischenfrüchten.....	29
3.1.3 Verteilung des Wirkstoffes im Hopfen .....	29
3.1.4 Beobachtungen zur Guttation.....	31
3.1.5 Alternative Wasserquellen .....	34
3.1.6 „Strunkwasser“ nach der Ernte.....	34
3.2 Totenfall am Flugloch .....	35
3.2.1 Vergleich der Standorte Hopfen-Zentral, Hopfen-Alternative und Kontrolle.....	35
3.2.2 Betrachtung der einzelnen Standorte.....	37
3.3 Verhalten und Entwicklung der Bienenvölker .....	41

3.4	Pollenuntersuchungen .....	43
<b>4</b>	<b>Schlussbemerkung .....</b>	<b>46</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>46</b>

## Abbildungen

	Seite
Abb. 1: Überblick über die Lage des Beobachtungsgebietes; dunkelgrüne Flurstücke sind Hopfengärten .....	13
Abb. 2: Standort 1, Hopfen - Zentral.....	14
Abb. 3: Standort 2, Hopfen - Alternative .....	14
Abb. 4: Standort 3, Kontrollstandort in Abstand von ca. 800 m zum nächsten Hopfengarten. Räumlich getrennt durch einen Auen-Bruchwald .....	14
Abb. 5: Entnahme von Bienenbrot. Pollen verschiedener Pflanzen werden in den Zellen in Schichten eingelagert und von den Bienen festgestampft. ....	16
Abb. 6: Das „Schneiden“, die erste Bodenbearbeitung im Frühjahr.....	16
Abb. 7: Sehr tiefer Schnitt.....	17
Abb. 8: Sehr hoher Schnitt .....	17
Abb. 9: Anwendungstermin - nach dem Schneiden bis max. 15 cm Wuchshöhe des Hopfens. Die dunklen Bereiche zeigen die behandelte Fläche.....	17
Abb. 10: Hopfenstock nach dem „Kreiseln“; es wird versucht, möglichst wenig Sprosse stehen zu lassen, um die Handarbeit zu minimieren.....	17
Abb. 11: Termine zur Anwendung von Actara in Kontrollgärten. ....	18
Abb. 12: Entnahme der Bodenproben .....	20
Abb. 13: Frauenmantel als Zeigerpflanze für Guttation an und zwischen den Hopfenstöcken.....	21
Abb. 14: Abfangen der Bienen an den Fluglöchern.....	23
Abb. 15: Präparierte Honigblase .....	24
Abb. 16: Pfütze im Hopfengarten.....	26
Abb. 17: Entnahme von ausfließendem Wasser aus den abgeschnittenen Hopfenreben.....	27
Abb. 18: Guttationstropfen an Hopfenpflanzen (erstmalig dokumentiert) Fotos: Georg Meyr, LfL .....	32
Abb. 19: Anzahl toter Bienen pro Standort.....	35
Abb. 20: Gesamtüberblick über gefundene Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln im Totenfall am Standort „Hopfen-Zentral“ .....	37
Abb. 21: Gesamtüberblick über gefundene Wirkstoffe von Pflanzenschutzmittel im Totenfall am Standort „Hopfen-Alternative“ .....	39
Abb. 22: Gesamtüberblick über gefundene Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln im Totenfall am Standort „Wiese-Kontrolle“ .....	40
Abb. 23: Die Volksstärke der Bienenvölker (Anzahl Bienen und Brutzellen) ermittelt nach der Liebefelder Methode zu den verschiedenen Beobachtungszeiten im Versuch. Dargestellt sind die Mittelwerte (n = 8, für Hopfen n = 7) und Standardabweichungen. ....	41
Abb. 24: Die Brutmortalität an den verschiedenen Bienenständen in Prozent. Dargestellt sind die Mittelwerte (n = 5) und Standardabweichungen.....	42
Abb. 25: Honigerträge aus der Früh- und Sommertrachternte an den einzelnen Bienenständen. Dargestellt sind Mittelwerte (n = 8, für Hopfen n = 7) und Standardabweichung. ....	42

## Tabellen

	Seite
Tab. 1: Schlagkarteien zur Anwendung aller Pflanzenschutzmaßnahmen für die Hopfengärten im Bereich der Bienenvölker.....	19
Tab. 2: Ergebnisse der ersten Bodenuntersuchung am 27.04.2010; mg Thiamethoxam/kg Boden.....	27
Tab. 3: Ergebnisse der zweiten Bodenuntersuchung am 25.05.2010; mg Thiamethoxam/kg Boden.....	28
Tab. 4: Wirkstoff Thiamethoxam in mg/kg Boden im Durchschnitt von vier Standorten in unterschiedlicher Entfernung vom Anwendungsgebiet.....	28
Tab. 5: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Zwischenfruchtpflanzen; mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse.....	29
Tab. 6: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Löwenzahnblüten; mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse.....	29
Tab. 7: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Hopfenpflanzen zu vier Terminen; mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse.....	30
Tab. 8: Beobachtungen zur Guttation im Hopfengarten an den Standorten Königsfeld und Hüll.....	31
Tab. 9: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Guttationswasser an Hopfen; ng Wirkstoff/ml Guttationswasser.....	32
Tab. 10: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Guttationswasser an Frauenmantel; ng Wirkstoff/ml Guttationswasser.....	33
Tab. 11: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Guttationswasser an Begleitflora und Zwischenfrüchten; ng Wirkstoff/100 ml Guttationswasser.....	33
Tab. 12: Detektierbare Wirkstoffe im Wasser aus Pfützen (ng/ml).....	34
Tab. 13: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von „Strunkwasser“; ngWirkstoff/100 ml Wasser.....	34
Tab. 14: Übersicht der Rückstände von Thiamethoxam, Clothianidin und Chlorpyrifos im Totenfall.....	36
Tab. 15: Übersicht der Rückstände von Thiamethoxam, Clothianidin von lebenden, am Flugloch abgefangenen Bienen.....	36
Tab.16: Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen des Bienenbrotes (Quelle: Befund der LUFA Speyer).....	43
Tab. 17: Pollenanalysenergebnisse auf Pflanzenschutzmittel.....	44

# **Überprüfung einer Bodenanwendung von Actara (Wirkstoff "Thiamethoxam") im Hopfen auf das Verhalten der Bienen und eventueller schädlicher Auswirkungen**

**B. Engelhard<sup>1)</sup>, I. Illies<sup>2)</sup>, J. Pistorius<sup>3)</sup>,  
V. Gottschalch<sup>4)</sup>, K. Wallner<sup>4)</sup>**

<sup>1)</sup>Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Hopfenforschungszentrum Hüll

<sup>2)</sup>Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau, Fachzentrum Bienen

<sup>3)</sup>Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

<sup>4)</sup>Universität Hohenheim, Landesanstalt für Bienenkunde

## **Zusammenfassung**

Schlagworte: Hopfen, Bienen, Pflanzenschutz, Neonicotinoide, Actara<sup>®</sup>, Thiamethoxam, Clothianidin

Ein großes Problem im Hopfenbau sind die Bodenschädlinge, die im Frühjahr die Hopfenstöcke und die jungen Austriebe schädigen (Curculionidae, Alticinae). Nach dem Verbot von Phosphorsäureestern wurde am Hopfenforschungsinstitut Hüll als einzig voll wirksames Insektizid der Wirkstoff Thiamethoxam aus der Gruppe der Neonicotinoide getestet. Die Anwendung erfolgte mit dem Handelsprodukt Actara<sup>®</sup> mit 200 ml Produkt (50 g a.i.) als Gießapplikation auf die Einzelstöcke (ca. 2000 Stock/ha) auf den Boden.

Aufgabe des Projektes war es, alle Möglichkeiten zu überprüfen, ob bei dieser Anwendung im Hopfen ein Kontakt oder eine Belastung für die Bienen entsteht. Neben der Actaraanwendung konnten die Hopfenbauern alle weiteren Pflanzenschutzmaßnahmen nach guter fachlicher Praxis durchführen.

Zur Prüfung wurden 24 Bienenvölker in Gruppen zu je acht Völker in einem Gebiet mit sehr viel Hopfenteil an drei Standorten vom 08. April bis 22. Juli 2010 aufgestellt:

- direkt in einem Hopfengarten (Hopfen-Zentral)
- am Rand eines Hopfengartens mit alternativen Futter- bzw. Wasserquellen (Hopfen-Alternative) und
- 800 Meter entfernt von den nächsten Hopfengärten auf einer Wiese, geschützt durch einen Wald (Wiese-Kontrolle)

Während der gesamten Standzeit wurden zweimal pro Woche heimkehrende Bienen am Eingang zum Bienenstock abgefangen und unmittelbar tiefgefroren. Tote Bienen wurden von praktizierenden Imkern dreimal pro Woche aus Totenfallen am Stock eingesammelt. Auch die Populationsentwicklung und die Honigproduktion wurden gemessen.

Da unbekannt war, ob Hopfen guttieren kann, wurde dieser Frage besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Grundsätzlich war jede(r) Projektbeteiligte(r) aufgefordert, auf Gutta-

tionsereignisse zu achten. Zusätzlich wurden in zwei Hopfengärten an fünf Tagen pro Woche in den Morgenstunden gezielte Kontrollen durchgeführt. Über die gesamte Periode wurden an vier Tagen wenige Guttationstropfen beobachtet. Bei so seltenem Auftreten können die Wassersammlerinnen diese Tropfen nicht als Wasserquelle erkennen. Guttation stellt keine Kontaminationsquelle dar.

In toten Bienen aus den Totenfallen wurden in wenigen Proben die Wirkstoffe Thiamethoxam und Clothianidin analysiert. In Bienen, die am gleichen Tag lebend am Eingang zum Bienenstock abgefangen wurden, konnten keine Rückstände dieser Wirkstoffe gefunden werden. Bei den toten Bienen handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um Staubverfrachtungen nach dem Kreiseln oder nach Bodenbearbeitungsmaßnahmen. Um diesen Effekt auszuschließen, sollte das Kreiseln möglichst vor der Wirkstoffausbringung erfolgen.

Der untersuchte Wirkstoff und der Metabolit Clothianidin (LOD 0,001 mg/kg) wurde weder in Pollenhöschchen von Einzelbienen (n = 26), Honigblasen (n = 2000), Bienenbrot (n = 9, noch in geerntetem Honig (n = 9) gefunden. Die Populationsentwicklung und die Honigproduktion ist vergleichbar mit der Kontrollgruppe. Die Beobachtungen an den Totenfallen hatten keine erkennbaren Auswirkungen auf die Population.

Es konnte nachgewiesen werden, dass bei der vorgegebenen Anwendung von Thiamethoxam im Hopfen keine Gefahr für die Bienen besteht und auch kein Wirkstofftransport in den Bienenstock erfolgt.

## Summary

**Key Word:** Hop, Bees, Plant Protection, Neonicotinoide, Actara<sup>®</sup>, Thiamethoxam, Clothianidin

One serious problem in the growing of hop is the feeding damage caused by different soil insects (e. g. Curculionidae, Alticinae) during springtime. 2010 the growers of hop in the Hallertau, the largest hop growing area in Europe, tested a new agent, thiamethoxam (Actara<sup>®</sup>), that belongs to the group of neonicotinoids.

The application process in hop is a drench application with 200 ml solution (50 g a.i./ha) around the growing plant (2000 plants per hectare). To find out, if there is any exposure of the bees to this agent, various investigations were undertaken.

24 beehives were set up in groups of 8 colonies at three places with different distances to the hop fields. One group was placed directly in a hop field (= Hop), one group was placed at the field site (Alternative), with alternative possibilities to collect water and one group was placed more than 800 m from the treated area (Control).

From April to July, twice a week homing bees were caught at the hive entrance in the early morning and were deep frozen. Dead bees were collected from dead bee traps three times a week and also the population development and the honey production were measured.

In the hop garden the occurrence of guttation of the hop was inspected in regular intervals. Guttation of the grass and the plants in between hop rows was collected. Additionally, further samples of the soil, plants and puddles were taken. From the intercepted bees the honey sac was dissected and prepared for further examinations. Also the pollen loads were analysed for residues.

There was no proof that bees were exposed to thiamethoxam in guttation droplets in hop after application of actara as a drench application. During the whole observation period guttation on hop plants was only four times observed. In dead bees from bee traps the a.i. thiamethoxam and the metabolite clothianidin were detected in some samples, but was not detectable in samples of living foragers caught at the hive entrance on the same days. As there was no linkage between the residues in dead bees and a high mortality it can be concluded that the residues were linked with the field work by circle cultivators after application. To prevent such risk, this work should be done in forehand of application of actara.

The used agent and the metabolite clothianidin were neither detectable (LOD 0,001 mg/kg) in the pollen loads from single bees (n = 26), in the honey sacs (n = 2000), in bee bread samples (n = 9) nor in harvested honey (n = 9). The population development and the honey production were similar to the control group. Results of the dead bee traps showed no noticeable effects on the colonies.

Hence, it was evidenced that under the given specifications an application of thiamethoxam in hops will not imperil the honey bees, and that there is no transport of active ingredient into the beehive.

### ***Danksagung:***

Ein herzliches "Danke" geht an die Vertreter der Imker in den Personen von Albrecht Pausch, Franz Kaindl, Anton Fuß, Helmut Kaindl, Richard Raucheisen und Walter Schnabel, die dieses Projekt kritisch verfolgt aber immer positiv unterstützt haben. Gleiches gilt für die Berater auf Seiten der Imker. Danke auch an die Vertreter des Hopfenpflanzerverbandes und die Hopfenpflanzer Florian Ebner, Karl Janusch, Andreas Niedermeier und Georg Schmutz, die ohne zu zögern die Freilandaktivitäten in ihren Hopfengärten durchführen ließen. Dank an Georg Meyr, der in den frühen Morgenstunden die Beobachtungen zur Guttation durchgeführt hat und an Frau Birgit Krenauer für die Formattierung. Nicht zuletzt Dank an die Erzeugergemeinschaft HVG e. G. für die finanzielle Unterstützung.

## 1 Aufgaben und Ziele

Gefürchtete Schädlinge im Hopfenbau sind im Frühjahr bis Mitte Mai die im Boden lebenden Luzernerüssler (*Otiorhynchus ligustici*) und Drahtwürmer (*Agriotes spp.*), sowie auf den jungen Treiben und Blättern, die Erdflöhe (*Psylloides spp.*). Die Drahtwürmer als Larven der Saatschnellkäfer schädigen Wurzeln und den Hopfenstock, die Luzernerüssler fressen die jungen Austriebe und schädigen den Hopfenstock. Erdflöhe schädigen bis Ende Mai, indem sie die jungen Blätter abnagen.

Bis 2009 wurden diese Schädlinge mit dem Produkt Tamaron (Wirkstoff Methamidophos) wirksam bekämpft. Nach dem Verbot dieses Wirkstoffes standen keine ausreichend wirksamen Produkte zur Bekämpfung der Schädlinge zur Verfügung. Umfangreiche Prüfungen mit einer Vielzahl von Ersatzprodukten führten, bis auf eine Ausnahme, zu keiner befriedigenden Wirkung. Diese Ausnahme bildete das Produkt Actara (Wirkstoff Thiamethoxam) aus der Gruppe der Neonicotinoide.

Da Thiamethoxam (erster Metabolit Clothianidin) sehr stark toxisch auf Bienen wirkt, wasserlöslich ist und systemisch in den Pflanzen verteilt wird, kamen Bedenken der Imker gegen den Einsatz dieses Produktes im Hopfen. In gemeinsamen Besprechungen und Versammlungen von Hopfenpflanzern und Imkern sowie Forschungsgruppen aus dem Bereich Hopfen und Bienen wurden zur Klärung der Bedenken folgende Kernfragen zu einem Forschungsprojekt formuliert:

- Kommt es zu einer oberflächlichen Freisetzung des Wirkstoffes Thiamethoxam bzw. Clothianidin?
- Kommen Bienen in Kontakt mit dem ausgebrachten Produkt bzw. dem Wirkstoff?
- Gibt es eine Kontamination der Nektar- und Pollenquellen in der Begleitvegetation im Hopfengarten?
- Wird der Wirkstoff von Bienen zusammen mit Wasser (Guttationswasser oder aus anderen Wasserquellen), Nektar oder Pollen in den Bienenstock transportiert?
- Können negative Effekte bei Bienen oder Bienenvölkern in der Nähe der Hopfengärten beobachtet werden?

Folgende grundsätzliche Arbeitsteilung wurde für das Projekt festgelegt:

- Organisation und Betreuung der Bienenvölker
  - Fachzentrum Bienen der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau Veitshöchheim (LWG).
- Kontrolle der Totenfallen
  - Praktizierende Imker im Landkreis Pfaffenhofen a. d. Ilm.
- Boden-, Pflanzenproben, Guttationsbeobachtungen
  - Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Hopfenforschungszentrum Hüll.
- Analyse der Bienen aus den Totenfallen
  - Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI)

- Aufarbeitung der Bienen- und Pollenproben, Kontrollen zur Guttation, Probenaufbereitung und -verwaltung, Erfassung alternativer Wasserquellen, Organisation der Analytik
  - Landesanstalt für Bienenkunde der Universität Hohenheim.

Voraussetzung für die Durchführung des Projektes war, dass alle Arbeiten, die in Zusammenhang mit den Bienen stehen, ausschließlich von Imkern bzw. Wissenschaftlern der Bienenforschung durchgeführt werden. So wurde gewährleistet, dass alle (wenn auch nur kleine) Auffälligkeiten an den Bienen erkannt werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Standortauswahl für die Freilandprüfungen mit Bienenvölkern

Als grundsätzlicher Standort wurde das größte Hopfenbaugebiet der Welt, die Hallertau, festgelegt. Innerhalb dieser rund 15.500 Hektar Hopfenfläche wurden in eine Vorauswahl Anbaulagen mit hoher Hopfendichte in die Besichtigung einbezogen. Voraussetzung war ebenfalls die Möglichkeit einer Kontrolle, um nicht von Hopfen beeinflusste Population prüfen zu können.

Eine nach Überzeugung der Bienenfachleute sehr gute Konstellation wurde in der Gemarkung Königsfeld, Gemeinde Wolnzach, Landkreis Pfaffenhofen a. d. Ilm gefunden.

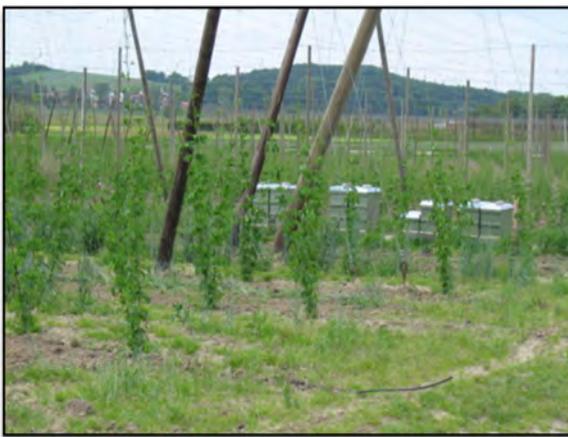


Abb. 1: Überblick über die Lage des Beobachtungsgebietes

Eine wichtige Voraussetzung zur Durchführung des Projektes wurde vom Fachzentrum Bienen der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau (LWG) Veitshöchheim erfüllt. Die LWG konnte 24 Bienenvölker bereitstellen. Je 12 Völker stammten von den Bienenprüfhöfen Kringell und Acheleschwaig.

Diese Völker sollten an drei Standorten mit unterschiedlichem Gefährdungsgrad platziert werden:

1. Direkt in die Hopfenlage; rings umgeben von Hopfengärten ohne alternative Futter bzw. Wasserquelle in näherer Umgebung („Hopfen – Zentral“)
2. 10 Meter Abstand zum Hopfengarten und nach Süden offen für alternative Futter bzw. Wasserquellen („Hopfen – Alternative“).
3. Ein Kontrollstandort ohne direkte Beeinflussung von Hopfengärten („Wiese – Kontrolle“).



*Abb. 2: Standort 1, Hopfen - Zentral*



*Abb. 3: Standort 2, Hopfen - Alternative*



*Abb. 4: Standort 3, Kontrollstandort in Abstand von ca. 800 m zum nächsten Hopfengarten. Räumlich getrennt durch einen Auen-Bruchwald*

Um sichere statistische Auswertungen durchführen zu können, wurden die 24 Bienenvölker auf drei mal acht Völker verteilt. Bei einer Wiederholung des Versuchsaufbaus an einem zweiten Ort in der Hallertau wären für die Auswertung nur je vier Völker zur Verfügung gestanden.

Im Osten der Prüfstandorte befand sich in ca. 300 m entfernt ein Wald. Die offene Seite am „Alternativstandort“ war ein Wiesengrundstück mit Sandgrube und lockerem Bewuchs mit Sträuchern.

Der Standort Königsfeld hatte noch den Vorteil, dass in ca. ein Kilometer Entfernung eine agrarmeteorologische Messstation betrieben wird. Alle Wetterdaten können bei Bedarf über das Internet (<http://www.lfl.bayern.de/agrarmeteorologie>) abgerufen werden.

## **2.2 Völkerführung sowie Erfassung der Volksentwicklung und Brutmortalität**

Die Aufstellung der Bienenvölker erfolgte am 08. April 2010, abgewandert wurde am 22. Juli 2010. Bei den 24 Völkern handelte es sich um Carnica-Herkünfte der Prüfhöfe, die jeweils zur Hälfte einräumig angewandert wurden. Die Völker erhielten Totenfallen, die die Ermittlung der Mortalität im Volk ermöglichen. Es ist nicht möglich, die absolute Mortalität in einem Bienenvolk zu bestimmen, da ein großer Teil der Tiere außerhalb des Stocks stirbt. Aber die Bestimmung der Mortalität am Flugloch ist eine bewährte Methode und die verwendeten Fallen erfassen etwa 80 Prozent der toten Tiere, die im Volk sterben und von den Stockgenossen herausgetragen werden.

Die Totenfallen wurden über 13 Wochen dreimal pro Woche (montags, mittwochs und freitags) ausgezählt und geleert. Dabei wurde die Anzahl toter Bienen je Volk erfasst und die toten Tiere eines Standes als Sammelprobe eingefroren. Nach Beendigung des Versuches wurden Proben von Tagen mit erhöhtem Totenfall zur Rückstandsanalyse an das Julius-Kühn-Institut geschickt.

Die Völker wurden während des Versuchs ohne Entnahme von Arbeiterinnenbrut oder Bienenmasse geführt. Zur Schwarmtrieblenkung wurden bei allen Völkern 3 Drohnenwaben entnommen und Schwarmzellen gebrochen. Die Völker wurden wöchentlich kontrolliert. Diese Völkerführung war erforderlich, um die Volksentwicklung darstellen zu können. Am 13.04, 3.05, 27.05 und 21.07 wurden an allen Völkern Populationsschätzungen nach der Liebefelder Methode durchgeführt (Imdorf et. al. 1987). Dabei wird die Anzahl Bienen und Brutzellen je Wabenseite geschätzt, so dass die Stärke der Völker verglichen werden kann.

Mitte Juni wurde in jeweils 5 Völkern pro Bienenstand die Brutmortalität bestimmt. Dazu wurden an allen Völkern Folienprotokolle angefertigt. Im Rahmen der Folienprotokolle werden mindestens 100 Brutzellen individuell markiert und die Entwicklung der Brut vom Ei bis kurz vor dem Schlupf verfolgt. Die markierten Waben werden mittels Gitter von der Königin abgesperrt, so dass diese bei Absterben der Brut keine neue Brut anlegen kann. Das Gitter kann aber von den Arbeiterinnen passiert werden, d. h. die offene Brut wird gepflegt.

Aus jeweils zwei Völkern je Bienenstand wurden im Juni Bienenbrotproben entnommen. Bienenbrot ist der von den Bienen in Waben eingelagerte Pollen. Das Bienenbrot wurde bei der LUFA in Speyer auf Rückstände von Pflanzenschutzmitteln untersucht.

In der 23. Kalenderwoche fand die erste Honigernte statt, in der 27. Kalenderwoche die zweite Ernte. Die Honigernte je Volk wurde gewogen und aus jedem Volk eine Wabe separat geschleudert. Aus den acht Honigproben je Stand wurden jeweils 50 g entnommen und eine Sammelprobe gebildet. Für jede Ernte liegt somit für jeden Stand eine Honigprobe vor, die in der LUFA auf Rückstände von Pflanzenschutzmitteln untersucht wurde.



Abb. 5: Entnahme von Bienenbrot. Pollen verschiedener Pflanzen werden in den Zellen in Schichten eingelagert und von den Bienen festgestampft.

### 2.3 Standardbodenbearbeitung der Hopfengärten im Frühjahr

Hopfen wird als Reihenkultur mit einem Reihenabstand von 2,90 - 3,20 m angebaut. In der Reihe wird während der Vegetation im Vorjahr durch zweimaliges Anackern ein Damm angehäufelt. An den Reben im Dammbereich bilden sich Sommerwurzeln, die für die Wasser- und Nährstoffversorgung des Hopfens sehr wichtig sind. Grundsätzlich können über diese Sommerwurzeln auch in Wasser gelöste Pflanzenschutzmittel aufgenommen werden.

Nach der Ernte werden noch im Herbst die Seitenflanken des Damms weggeackert. Es bleibt bis zum Frühjahr ein 20 - 40 cm hoher und ca. 25 cm breiter Erdstreifen stehen, in dem die Triebe mit den Sommerwurzeln überwintern. Die erste Bodenbearbeitung im Frühjahr ist das „Schneiden“. Darunter versteht man den Rückschnitt der Hopfenstöcke bis in die Nähe der Triebknospen.



Abb. 6: Das „Schneiden“, die erste Bodenbearbeitung im Frühjahr

Durch den Arbeitsvorgang entsteht eine ebene, relativ glatte Fläche entlang der Hopfenreihe.

Die Arbeit erfolgt zeitlich überwiegend in der zweiten und dritten Märzdekade.

Der restliche Erdbalken ist je nach Schnitttiefe unterschiedlich hoch.



*Abb. 7: Sehr tiefer Schnitt*



*Abb. 8: Sehr hoher Schnitt*

Beim nächsten Arbeitsgang, dem „Kreiseln“ wird je nach Schnitthöhe unterschiedlich viel Erde in Richtung Zwischenreihe transportiert.

## 2.4 Anwendungsbedingungen für Actara

Die Anwendung von Actara nach Vorgaben für dieses Projekt erfolgt ausschließlich nach dem „Schneiden“ des Hopfens, auf den Boden im Bereich des Hopfenstockes oder kurz nach dem Austrieb des Hopfens bis maximal 15 cm Wuchshöhe der Hopfentriebe.



*Abb. 9: Anwendungstermin - nach dem Schneiden bis max. 15 cm Wuchshöhe des Hopfens. Die dunklen Bereiche zeigen die behandelte Fläche.*



*Abb 10: Hopfenstock nach dem „Kreiseln“; es wird versucht, möglichst wenig Sprosse stehen zu lassen, um die Handarbeit zu minimieren.*

Bei Anwendung nach dem Austrieb der Hopfensprosse kann zwischen „Schneiden“ und Spritzung von Actara eine weitere Bodenbearbeitung erfolgen, das sog. „Kreiseln“. Mit einem rotierenden Gerät wird in der Reihe Erde entfernt. Auf Höhe des Hopfenstocks wird das Gerät mittels hydraulischer Steuerung um den Stock herumgeführt (Abb. 9). Erfolgte die Actaraanwendung vor dem „Kreiseln“, kann eine geringe Menge des Produktes mit der Erde weg geschleudert werden.

Während der Versuchsphase 2010 kam es durch die Trockenheit im April zu ungewöhnlich starker Staubeentwicklung. Aus Sicht möglicher Belastung für die Bienen waren dies „worst-case“-Bedingungen.

Wird Actara nach dem „Kreiseln“ ausgebracht, kann ein geringer Teil der Flüssigkeit von dem erhöhten Stock in Richtung Zwischenreihe und damit in Richtung Zwischenfruchtpflanzen ablaufen. Die Reihenfolge der Maßnahmen wurde von den Hopfenflanzern festgelegt.

Die Aufwandmenge betrug in allen Hopfengärten 200 g/ha Actara (50 g/ha Thiamethoxam) in 200 ccm Wasser pro Stock. Zur beabsichtigten Bekämpfung der Schädlinge wird Actara mit einer Einzeldüse direkt auf den Hopfenstock gespritzt.

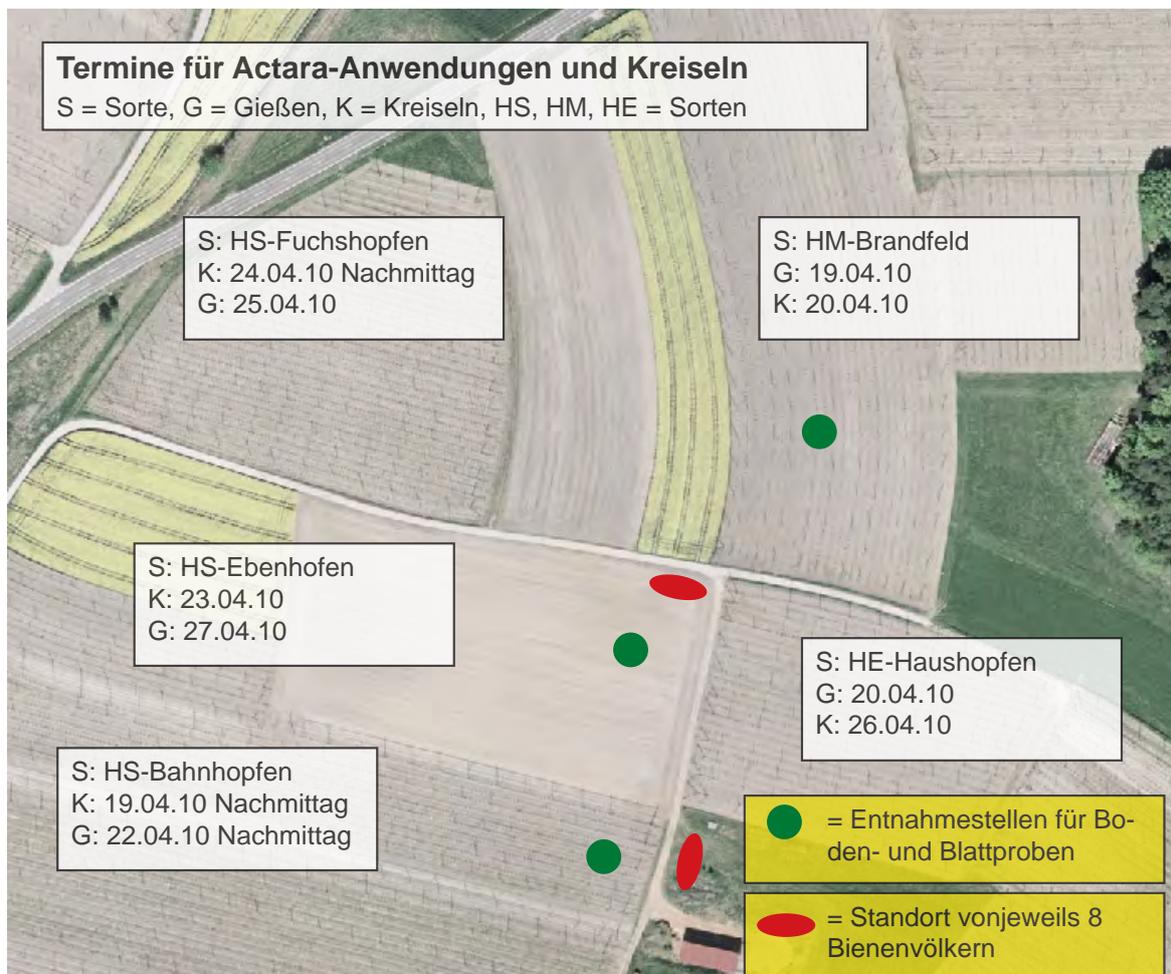


Abb. 11: Termine zur Anwendung von Actara in Kontrollgärten.

## 2.5 Anwendungen weiterer Pflanzenschutzmittel während der Vegetation

Die beteiligten Hopfenpflanzler waren angewiesen, alle Pflanzenschutzmaßnahmen nach guter fachlicher Praxis durchzuführen. In der Produktauswahl gab es von Seiten des Versuchsprojektes keine Einschränkung.

Die einzige Auflage war, dass in allen Hopfengärten im Umkreis der Bienenvölker Actara mit 200 g/ha eingesetzt werden musste.

Tab. 1: Schlagkarteien zur Anwendung aller Pflanzenschutzmaßnahmen für die Hopfengärten im Bereich der Bienenvölker

Brandfeld		Fuchshopfen		Ebenhopfen		Bahn- und Haushopfen	
Datum	Produkt	Datum	Produkt	Datum	Produkt	Datum	Produkt
19.04.	Actara (I) Fonganil (F)	25.04.	Actara Fonganil	27.04.	Actara Fonganil	19./20. 04.	Actara
28.04.	Aliette (F) Forum (F)	25.04.	Aliette Forum	18.05.	AHL, Lotus	27.05.	Ridomil Gold
06.06.	Ridomil Gold (F) Fortress (F)	06.06.	Ridomil Gold Fortress	28.05. 08.06.	Aliette	05.06.	Aliette
23.06.	Ortiva (F) Fortress (F)	23.06.	Ortiva Fortress	02.07.	Ortiva Vertimec	12.06.	Forum Fortress
07.07.	Forum (F) Vertimec (A) Teppeki (I)	07.07.	Forum Vertimec Teppeki	28.07.	Ortiva Teppeki	26.06.	Folpan Fortress
20.07.	Forum (F) Bayfidan (F)	20.07.	Forum Bayfidan	11.08.	Folpan Vertimec	10.07.	Folpan Fortress Vertimec Teppeki
09.08.	Folpan (F) Flint (F) Milbeknock (A)	09.08.	Folpan Flint Milbeknock	20.08. 02.09.	Funguran Flint (20.8.) Aliette	10.08.	Ortiva Systhane (F) Teppeki

## 2.6 Kontrollen und Probennahmen

### 2.6.1 Bodenproben

Ziel der Probennahmen war es, die Verteilung des Wirkstoffes im Boden festzustellen. Dazu wurden mit einem Bodenprobenstecher auf 10 cm Tiefe an drei nebeneinander liegenden Hopfenstöcken (alle beprobten Stöcke wurden gekennzeichnet) getrennte Einzelproben nach folgendem Muster entnommen:

- direkt im Zentrum des Hopfenstockes,
- parallel zum Stock in unmittelbarer Nähe des Stockes (je drei Einstiche) und
- 30 cm entfernt parallel zu den Stöcken,
- zusätzlich in 60 cm Entfernung zum zweiten Termin.

Die Probennahmen erfolgten am 27.04. und 25.05.2010. Um auch die Bodenart zu berücksichtigen, wurde neben dem sandigen Standort Königsfeld ein Standort mit Lehmboden in der Gemarkung Hüll nach demselben Muster Proben gezogen.

Zum ersten Termin wurden insgesamt neun, zum zweiten Termin 13 Proben gezogen und unmittelbar nach der Probenziehung auf  $-18^{\circ}\text{C}$  eingefroren.



*Abb. 12: Entnahme der Bodenproben*

Die Bodenproben wurden vom akkreditiertem Prüflaboratorium am Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg (LTZ) nach dem Analysenverfahren „SOP 21-ME-022\_V002 (QuEChERS)“ auf Thiamethoxam und dem Metaboliten Clothianidin untersucht. Die Nachweisgrenze liegt bei  $0,010\text{ mg Wirkstoff/kg Boden}$ .

### **2.6.2 Blattproben von Hopfen**

Zum Zeitpunkt der Bodenprobenahme wurden von denselben Hopfenstöcken gleichzeitig Blattproben entnommen. Während der Vegetationsphase bis zum Erreichen der Gerüsthöhe des Hopfens wurden an den zwei Standorten Königsfeld (sandiger Boden) und Hüll (Lehmboden) an folgenden Terminen Blattproben entnommen:

- 27.04.10 Hopfen kurz nach dem Austrieb bis ca. 10 cm hoch
- 25.05.10 Hopfen ca. 2 m hoch
- 15.06.10 Hopfen ca. 5 m hoch
- 30.06.10 Gerüsthöhe erreicht.

Auch am letzten Probenahmetag war das Wachstum des Hopfens noch lange nicht beendet; Ende Juni ist im Vergleich zum Erntetermin erst ca.  $1/3$  der Gesamtpflanzenmasse gebildet. Eventuell nachgewiesener Wirkstoff wird noch deutlich verdünnt.

Am Standort Königsfeld wurden jeweils aus drei Hopfengärten Proben entnommen. Es sind die Hopfengärten, die direkt an die acht Bienenvölker ohne alternative Futterquelle angrenzen (siehe Abb. 11).

Die Blätter wurden von Hand bzw. mit einer Teleskopschere an der Südseite der Hopfenpflanzen entnommen. Um immer die Blätter mit dem größten Stoffumsatz zu erreichen, wurden die Blätter aus dem oberen Drittel der Hopfenpflanze abgeschnitten. Unmittelbar nach der Entnahme wurden die Blätter bei  $-18^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Die Blattproben wurden ebenfalls vom akkreditiertem Prüflaboratorium am Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg (LTZ) nach dem Analysenverfahren „VDLUFVA-Verbandsmethoden 3.3.7.1“ auf Thiamethoxam und Clothianidin untersucht.

Die Nachweisgrenze liegt bei 0,010 bzw. 0,005 mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse. Die nachfolgenden Blattproben von Zwischenfrüchten und Löwenzahn wurden nach der gleichen Methode untersucht.

### 2.6.3 Blattproben von Zwischenfrüchten und von Löwenzahn

Verteilt sich der Wirkstoff im Boden weg vom Hopfenstock in den Raum zwischen den Reihen (siehe Bodenproben), besteht die Gefahr, dass der Wirkstoff von den Zwischenfruchtpflanzen aufgenommen wird und über die Blüte die Bienen gefährden kann. Sehr verbreitet als Aussaat zwischen die Hopfenreihen sind Raps und Rüben. Als Unkraut kommt an Rändern häufig der Löwenzahn vor.

Am 11.05.10 wurden deshalb an drei Standorten (Geisenhausen, Kreithof, Grubwinn), an denen Actara angewendet wurde, Blüten und Blätter von Rapspflanzen entnommen. Es wurden nur Pflanzen ausgewählt, die sehr nahe an einem Hopfenstock (und damit nahe am Wirkstoff) standen. Da Winterroggen zunehmend als Beipflanze eingesät wird, wurde am Standort Königsfeld auch eine Probe von Winterroggen zum Zeitpunkt der Blüte eingesammelt und analysiert.

Bereits am 23.04.10 wurden an drei Standorten Blüten von Löwenzahn eingesammelt.

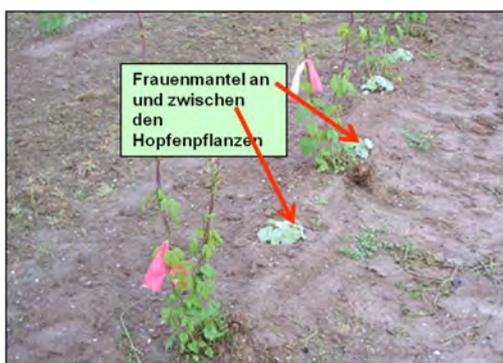
Alle Pflanzenproben wurden unmittelbar nach der Entnahme bei  $-18^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

### 2.6.4 Guttation

#### 2.6.4.1 Guttation an Hopfen, Zwischenfrüchten und Frauenmantel

Guttation an Hopfen wurde noch nicht beobachtet bzw. beschrieben. Vielleicht wurde auch noch nicht intensiv darauf geachtet. Die Beobachtung und Kontrolle von Guttation war deshalb eine wichtige Aufgabe in diesem Projekt. Grundsätzlich waren alle Beteiligten an diesem Projekt aufgefordert, auf dieses Phänomen bei allen Kontrollen zu achten.

Ein Mitarbeiter des Hopfenforschungszentrums Hüll wurde zusätzlich damit beauftragt, täglich an zwei Standorten an Sorten mit viel Blattmasse (Königsfeld - Sorte Herkules und Hüll - Sorte Hallertauer Magnum) von Montag bis Freitag zwischen 06:00 und 07:00 Uhr jeweils zehn Hopfenpflanzen auf mögliche Guttation zu kontrollieren. Am Wochenende wurden Kontrollen zur selben Uhrzeit durchgeführt, wenn auf Grund der Wetterlage Guttation zu erwarten war.



Zur Kontrolle wurden in die Hopfenreihe Frauenmantelpflanzen eingesetzt. Der Frauenmantel wurde mit dem Ziel gepflanzt, eine zuverlässige Guttationsquelle an definierten Positionen in definierten Abständen zu den Actara-Gießstellen im Hopfengarten zu haben. Die Pflanzung erfolgte sowohl unmittelbar am Hopfenstock als auch in der Mitte zwischen zwei Hopfenstöcken. Bei Guttation kann dann die mögliche Verteilung des Wirkstoffes im Boden zusätzlich überprüft werden.

Abb. 13: Frauenmantel als Zeigerpflanze für Guttation an und zwischen den Hopfenstöcken

Wurde Guttation festgestellt, wurden die Guttationstropfen mit einer Pasteurpipette aus Kalk-Soda-Glas mit offener Spitze der Firma VWRinternational, in Kombination mit den Pipettensaugern aus Kautschuk der Firma Roth, gesammelt und in einem Plastikröhrchen konserviert. Die gesammelten Proben wurden ebenfalls bei  $-18^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Von Mitarbeitern der Landesanstalt für Bienenkunde der Universität Hohenheim und vom Hopfenforschungszentrum Hüll der LfL wurden 61 Guttationsproben eingesammelt, davon

- 51 Proben von Frauenmantel
- 6 Proben von der Begleitflora (Zwischenfrüchte, Gräser) und
- 4 Proben vom Hopfen.

Die Analysen auf die Neonicotinoide Thiamethoxam, Clothianidin, Imidacloprid und Thiacloprid wurden mittels LC-MS/MS am INFU der Uni Dortmund durchgeführt. Da es sich um relativ saubere Proben gehandelt hat, konnte auf eine einfache Aufarbeitung zurückgegriffen werden. Einem festgelegten Aliquot der Probe wurde Acetonitril zugesetzt und die filtrierte Lösung dann direkt in das Analysengerät injiziert. Die Nachweisgrenze lag bei den einzelnen Wirkstoffen bei  $0,1\text{ ng/ml}$ .

### **2.6.5 Bienenflug im Hopfengarten**

An insgesamt 25 Beobachtungsterminen wurde nach Bienenflug im Hopfengarten Ausschau gehalten. Im Bereich der überprüften Bestände standen die 16 Versuchsvölker. Ziel war es, Bienen, aber auch andere Insekten zu finden, die Wasser, Pollen oder Nektar in den Hopfengärten sammeln. Die durchschnittliche Beobachtungszeit betrug etwa 20 Minuten pro Beobachtungstermin, so dass über die Projektdauer gesehen ca. 8 Stunden lang nach Bienen gesucht worden ist.

### **2.6.6 Kontakt der Bienen zu Guttationswasser**

#### **2.6.6.1 Probenahme**

Welche Wasserquellen ein Bienenvolk nutzt, kann über Beobachtungen im Freiland nicht sicher geklärt werden. Deshalb wurde auf ein Verfahren zurückgegriffen, das schon im Zusammenhang mit anderen Fragestellungen in Hohenheim angewandt worden ist, die Untersuchung des Sammelgutes von heimkehrenden Bienen. Bienen transportieren Nektar und Wasser in der Honigblase. Wenn wirkstoffhaltiges Sammelgut transportiert wird, kann dies durch die Analyse des Honigblaseninhaltes festgestellt werden. Heute stehen auch für die Neonicotinoide hoch empfindliche Messverfahren zur Verfügung, so dass die Wirkstoffkonzentrationen, die im Guttationswasser zu erwarten sind, sicher in den Honigblaseninhalten detektiert werden könnten. Da man einen möglichen Kontakt der Bienen zu Guttationswasser, das evtl. kontaminiert ist, nachweisen wollte, wurden die Bienen zweimal die Woche früh morgens, in der Hoffnung viele Wassersammlerinnen zu bekommen, abgefangen. Um an die bereits aktiv gewesen Flugbienen zu kommen, wurden die Fluglöcher mit Schaumstoff verschlossen und einige Zeit gewartet, bis sich genug Bienen angesammelt hatten. Mittels eines akkubetriebenen Handstaubsaugers wurden diese abgesaugt und anschließend schockgefroren. Dazu wurde Trockeneis verwendet, das mittels einer  $\text{CO}_2$ -Pistole in den Staubsauger mit den darin befindlichen Bienen eingeblasen wurde. Die  $\text{CO}_2$ -Flaschen wurden vor Ort deponiert. Die so gefrorenen Bienen wurden in einer Kühlkette in die Landesanstalt für Bienenkunde Hohenheim gebracht.



Die heimkehrenden Bienen sammeln sich vor dem verschlossenen Flugloch an



Abfangen der Bienen mit dem Staubsauger



Die Bienen werden im Staubsauger betäubt und schock gefroren



Bienen im Trockeneis

*Abb. 14: Abfangen der Bienen an den Fluglöchern*

Ein Teil der Bienen ging für die Rückstandsuntersuchung zum Julius Kühn-Institut. Dort sollten zusätzliche Wirkstoffe, mit denen die Bienen ggf. auch außerhalb der Hopfengärten in Berührung gekommen sind, identifiziert werden. Im Gegensatz den Bienenproben aus den Totenfallen, die einige Tage in den Fallen lagen, konnten diese Bienen tief gefroren und im absolut frischen Zustand konserviert werden.

#### 2.6.6.2 Probenumfang

Im Zeitraum vom 20. April 2010 bis zum 6. Juli 2010 konnten von insgesamt 25 Terminen an 17 Terminen Bienenproben von je drei Standorten gesammelt werden. Da man einen möglichen Kontakt der Bienen zu Guttationswasser, das evtl. kontaminiert ist, nachweisen wollte, wurde die Bienen früh morgens, in der Hoffnung viele Wassersammlerinnen zu bekommen, mittels eines Handstaubsaugers abgefangen und anschließend schock gefroren. In diesem Zeitraum wurden insgesamt 51 Bienenproben gesammelt aus denen sich insgesamt 26 Pollenproben ergaben.

#### 2.6.6.3 Aufarbeitung der Bienenproben

Den abgefangenen Bienen wurden im Labor die Honigblasen heraus präpariert und für weitere Untersuchungen aufgearbeitet. Mit einer Pipette wird dabei vorsichtig das Abdomen abgezogen und die Honigblase freigelegt. Der Honigblaseninhalte wird dann in beschriftete 2 ml Glasvials überführt. 20 µl des Honigblaseninhalte wurden mit 980 µl Acetonitril/Wasser (1:1) verdünnt. Anschließend erfolgte eine chemische Farbreaktion mit dem Ziel, die Nektarsammelrinnen von den Wassersammlerinnen zu unterscheiden. Dieser Schritt ist nötig, da pro Probenahme-Termin und Standort ca. 300 Bienen abgefangen wurden, und die Anzahl an Honigblasen für die endgültige Analyse zu hoch gewesen wä-

re. Die Honigblaseninhalte der aussortierten potentiellen Wassersammlerinnen wurden mittels LC-MS auf die Wirkstoffe Thiamethoxam und Clothianidin, dem wichtigsten Abbauprodukt von Thiamethoxam untersucht.

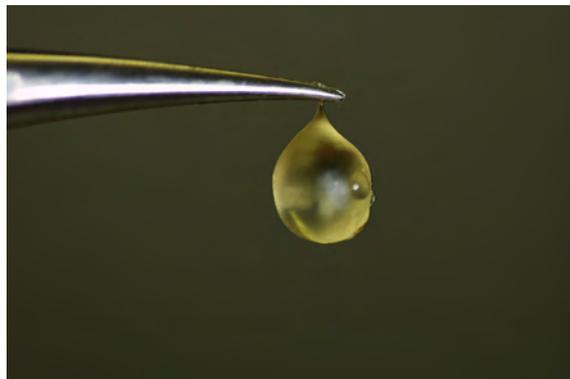


Abb. 15: Präparierte Honigblase

#### 2.6.6.4 Methodenentwicklung

Zuerst probierte man die Analyse mittels HPLC-ELSD (Verdampfungs-Lichtstreuung-Detektion) und anschließend die HPTLC-Vis. Beide Methoden lieferten vergleichbare Ergebnisse, doch waren beide kosten- und zeitintensiv. Dazu wurden die Zucker voneinander getrennt, so dass man schließlich die Peaks wieder zusammenzählen musste, um die eigentlich Zuckerkonzentration zu bekommen, was sich als sehr umständlich erwies. In Anbetracht des umfangreichen Probensatzes und dem Ziel, den Gesamtzuckergehalt zu ermitteln, suchte man nach einer geeigneten Methode. Um den hohen Probendurchsatz erst bewältigen zu können, entschied man sich für eine simple Farbreaktion auf einer DC-Platte.

#### 2.6.6.5 Auftragung der Proben zur Detektion

Die Auftragung erfolgte mittels des Automatic-TLC-Samplers (ATS 4). Aufgetragen wurde bandförmig auf eine Kieselgel DC-Platte mit einer Auftragungsmenge von 600 nL. Parallel zu den Proben wurde auch ein Kalibrierstandard (S0-S7; Zuckergehalt g/ml: 1; 2; 3; 5; 8; 11; 13; 27) aufgetragen.

Zur Derivatisierung, also um die Banden sichtbar zu machen, wurde die Platte für kurze Zeit in eine Lösung (p-ABA: 1,5 g p-Aminobenzoesäure gelöst in 20 ml Eisessig, verdünnt mit 30 ml Wasser, 8 ml 85 % Phosphorsäure dazu, verdünnt mit 120 ml destilliertem Aceton) mittels einer DC Tauchvorrichtung III getaucht und danach auf einer Heizplatte bei ca. 120 ° getrocknet. Es handelte sich dabei um eine selektive Derivatisierung. Dadurch werden nur die Zucker angefärbt, so dass es zu keiner Störung durch weitere Komponenten in der Probe kommt.

#### 2.6.6.6 Detektion

Im Allgemeinen wird zur Detektion ein Densitometer (TLC Scanner 3 der Firma CAMAG) mit einem Wellenbereich von 190 - 800 nm eingesetzt. Bei den gebrauchten Detektoren handelt es sich um Photomultiplier. Deuterium-, Halogen- oder Quecksilberlampen dienen als Lichtquellen, die automatisch gewechselt werden können. Die Darstellung der bei der Detektion erfassten Substanzzonen erfolgt in Form von Peaks und wird

als solche gespeichert. Durch den Vergleich mit den Kalibrierstandards auf derselben Platte erfolgt die Quantifizierung.

Bei den hier zu untersuchenden Proben erfolgte die Absorptionsmessung bei einer Wellenlänge von 386 nm mit einer Deuterium- und Wolframlampe. Messungen im Fluoreszenzbereich bei einer Wellenlänge von 366 nm erbrachten kein verwertbares Resultat, da die Peaks mit einem hohen Zuckergehalt überladen waren, so dass es einen negativen Ausschlag gab. Aufgrund dieser Vorgehensweise konnten nun die Honigblasen mit einem hohen Zuckergehalt (>10, Nektarsammlerinnen) von solchen mit einem niedrigen Zuckergehalt (<10, Wassersammlerinnen) getrennt werden. Insgesamt wurden mit diesem Verfahren 3113 Honigblaseninhalte untersucht. 1423 davon fielen in die Kategorie der potentiellen Wassersammler

### 2.6.7 Behandlung und Aufbereitung von Pollenproben

Obwohl das Interesse in erster Linie den Wassersammlerinnen und nicht den Pollensammlerinnen galt, ließ es sich nicht vermeiden, dass einige davon mit abgesaugt wurden. Von diesen Bienen wurde der Pollen im Labor von Hand abgesammelt. Aufgrund der geringen Einwaage wurden die Proben nach Kalenderwochen gepoolt, so dass es schließlich 7 Proben vom Standort Hopfen (H1-H7), 9 Proben vom Standort Alternative (A8-A19) und 10 Proben vom Kontrollstandort (K17-K26) gab. Diese Proben wurden von der LUFA Speyer analysiert.

Die dort eingesetzte Analyse-Methode basiert auf der sogenannten QUECHERS-Methode, die einen allgemeinen Standard in der Lebensmittelanalytik darstellt. Wird Bienenbrot analysiert, sind aufgrund der hohen Komplexität der Matrix diese zusätzliche Reinigungsschritte notwendig. Das Extrakt wird mittels C18, GPC und Aminopropyl/Graphit-SPE gereinigt und anschließend erfolgt die Analyse mit GC-MS und LC-MS/MS.

#### 2.6.7.1 Probenextraktion

Folgende Angaben beziehen sich auf das Standardverfahren zur Analyse von Bienenbrot und wurden für die vorliegenden Proben aufgrund der geringen Einwaage angepasst. Im Standardverfahren werden die Bienenbrotproben für die Entnahme einer repräsentativen Teilprobe von 5 g homogenisiert. Diese Proben werden in ein Zentrifugenglas eingewogen, interne Standards dazu gegeben und anschließend mit 30 ml Acetonitril/Wasser (1:1) versetzt und 15 min auf dem Horizontalschüttler intensiv geschüttelt. Danach werden 1,5 g NaCl, 6 g wasserfreies MgSO<sub>4</sub>, 0,5 g Dinatriumhydrogencitrat Sesquihydrat und 1 g Trinatrium Dihydrat zugegeben und nochmals 1 min geschüttelt. im Anschluss wird mit 4300 g zentrifugiert und der Überstand abdekantiert.

#### 2.6.7.2 Extraktreinigung

Für diesen Reinigungsschritt werden 0,5 g MgSO<sub>4</sub> und 0,75 g C18-modifiziertes Kieselgel in die organische Phase gegeben, 1 Minute intensiv geschüttelt und anschließend mit 4300 g zentrifugiert. Am Vakuum-Rotationsverdampfer werden 9 ml des Extraktes bis zur Trockene eingengt und mit 6 ml Cyclohexan/Aceton 8:2 aufgenommen. Davon werden 3 ml auf eine GPC-Säule gegeben und das Eluat im Bereich von 61 bis 125 ml gesammelt. Dieses Eluat wird am Vakuum-Rotationsverdampfer erneut bis zur Trockene eingengt und in 3 ml Acetonitril/Toluol (4:1) aufgenommen. Die Reinigung des Extraktes erfolgt anschließend über ein Kartuschen-System Aminopropyl und Graphit. Im Anschluss daran werden die Analyten mit 20 ml Acetonitril/Toluol (4:1) eluiert und der Extrakt am Vaku-

um-Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeengt, und der Rückstand in 0,5 ml Aceton aufgenommen. Davon werden 0,2 ml für die Analyse am GC-MS in ein Mikrovial gegeben und weiter 0,2 ml mit Ammoniumacetat verdünnt. Von diesen wird ein Aliquot mit der LC-MS/MS analysiert.

### 2.6.7.3 Analyse

Mit einem GC-MS-System der Firma Agilent werden 198 Substanzen analysiert. Eine 40 ml Kapillarsäule Rxi 5sil MS 0,25 mm ID und 0,25 µm Filmdicke wird zur Trennung eingesetzt. Bei 280° C wird 1 µl Extrakt splitlos injiziert. Die Ofentemperatur wird erst von 60° C mit 30° C/min auf 180° C gesteigert und anschließend mit 15° C/min auf 300° C, wobei diese Temperatur dann 15 min gehalten wird. Mit einem LC-MS/MS von Shimadzu und Applied Biosystem werden ca. 250 Substanzen analysiert. Dabei erfolgt die Trennung an einer Säule Gemini NX C18 mit 10 cm Länge, 3 mm ID und 3 µm Korngröße. Durch das automatische Probenaufgabesystem wurden 10 µl injiziert. Die Zusammensetzung des Laufmittels war folgendermaßen programmiert: 5 Minuten nach der Injektion läuft der Gradient von 30 % Methanol (mit 5 mmol Ammoniumacetat/70 % Wasser mit 5 mmol Ammoniumacetat und 0,1 % Ameisensäure) auf 100 % Methanol. Die Analysendauer pro Probe betrug insgesamt 13 min.

### 2.6.8 Alternative Wasserquellen für Wassersammlerinnen in Fahrspuren und Wasserpfützen

Generell muss davon ausgegangen werden, dass offene Wasserstellen unterschiedlichen Ursprungs für Bienen als Wasserquelle in Frage kommen. Deshalb wurden in den Hopfengärten auch Pfützen und Wasseransammlungen in verdichteten Fahrspuren beprobt. Insgesamt sind 5 Proben gezogen und analysiert worden.



Abb. 16: Pfütze im Hopfengarten

### 2.6.9 „Strunkwasser“ nach der Ernte

Die Hopfenreben werden zur Ernte in ca. 50 cm Höhe abgeschnitten. Der Hopfen befindet sich zum Zeitpunkt der Ernte noch im physiologischen Wachstum und transportiert Wasser in der Rebe nach oben. Nach dem Abschnitt tritt deshalb noch über ein bis zwei Tage Wasser aus der Restpflanze, sog. Strunkwasser, aus. Ist noch Wirkstoff im Boden, könnte dieser mit dem Wasser eine Gefahr für die Bienen bedeuten. An den Standorten Königsfeld und Hüll wurde in den Kontrollgärten Strunkwasser gesammelt und zur Analytik aufbereitet.



Abb. 17: Entnahme von ausfließendem Wasser aus den abgeschnittenen Hopfenreben

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Landwirtschaftlicher Bereich

##### 3.1.1 Verteilung des Wirkstoffes im Boden

Hauptfrage dieser Untersuchungen war, ob und wenn ja in welchem Umfang der Wirkstoff Thiamethoxam bei punktueller Ausbringung auf dem Hopfenstock im Boden verteilt wird.

Um einen Anhaltswert für die Konzentration im Anwendungsbereich zu erhalten, wurden am Standort „Betrieb 3“ (folgende Tabellen) an den Probennahmeterminen Bodenproben aus der Mitte des Hopfenstockes entnommen. Die Konzentration von Thiamethoxam lag beim ersten Termin bei 2,78 mg/kg und rund einen Monat später bei 2,46 mg/kg Boden. Der Wert hat sich nur unwesentlich verringert.

Tab. 2: Ergebnisse der ersten Bodenuntersuchung am 27.04.2010;  
mg Thiamethoxam/kg Boden

Betrieb	Bodenart	Sorte	Technik	Gießtermin	Kreiseltermin	Neben dem Stock	30 cm entfernt
1	IS	HS	Sehr hoch geschnitten	19.04.	22.04.	0,128	0,077
2	IS	HM	Normal geschnitten	19.04.	20.04.	0,014	0,016
3	IS	HS	Sehr tief geschnitten	27.04.	23.04.	0,391	0,024
4	L	HM	Normal geschnitten	10.04.	27.04.	0,411	0,013

Tab. 3: Ergebnisse der zweiten Bodenuntersuchung am 25.05.2010;  
mg Thiamethoxam/kg Boden



Betrieb	Bodenart	Sorte	Technik	Gießtermin	Kreiseltermin	Neben dem Stock	30 cm entfernt	60 cm entfernt
1	IS	HS	Sehr hoch geschnitten	19.04.	22.04.	1,90	0,081	0,137
2	IS	HM	Normal geschnitten	19.04.	20.04.	1,60	0,025	0,034
3	IS	HS	Sehr tief geschnitten	27.04.	23.04.	0,40	0,023	< 0,010 (NG)
4	L	HM	Normal geschnitten	10.04.	27.04.	2,84	0,019	0,024

Die Analysenwerte zeigen, dass geringe Mengen des Wirkstoffes relativ schnell auf 30 cm Entfernung vom Anwendungsbereich verteilt werden. Auf Betrieb 3 erfolgte die Probenahme am 27.04. wenige Stunden nach der Anwendung. Zwischen Anwendung und Probenahme erfolgte keine Bodenbearbeitung. Während der Ausbringung lag die Windgeschwindigkeit an der nahegelegenen agrarmeteorologischen Messstation bei 0,7 - 2,6 km/Std. (Stundendurchschnitt). Da auf dem sehr trockenen Boden eine Verteilung über Bodenwasser nicht möglich war, müssen die geringen Wirkstoffmengen nahe der Nachweisgrenze in 30 cm Entfernung über Abdrift erfolgt sein.

Bodenart, Schnitttiefe und Gießtermin vor oder nach dem Kreiseln haben keinen erkennbaren Einfluss auf die Höhe der gefundenen Wirkstoffmengen.

Tab. 4: Wirkstoff Thiamethoxam in mg/kg Boden im Durchschnitt von vier Standorten in unterschiedlicher Entfernung vom Anwendungsgebiet

Termin	im Stock (1 Standort)	neben dem Stock	30 cm entfernt	60 cm entfernt
27.04.2010	(2,78)	0,236	0,032	—
25.05.2010	(2,46)	1,685	0,037	0,049

Der Abbau des Wirkstoffes im Anwendungsbereich verläuft relativ langsam (minus 11,5 % zum Ausgangswert). Zwischen den Terminen war es im Durchschnitt für den Monat Mai zu kalt und zu nass. Bei vollständiger Wasserstättigung des Bodens konnten geringe Wirkstoffmengen in Richtung Zwischenfrüchte verlagert werden.

### 3.1.2 Verteilung des Wirkstoffes in Zwischenfrüchten

Bei blühenden Zwischenfrüchten besteht die Gefahr, dass Wirkstoff aufgenommen wird und die Bienen über den Pollen damit in Berührung kommen. Die Probenahme erfolgte in der Vollblüte der Zwischenfruchtpflanzen.

Tab. 5: *Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Zwischenfruchtpflanzen; mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse*



Standort	Bodenart	Sorte	Entwicklung der Zwischenfrucht	Probenahme	Gießtermin	Kreiseltermin	Thiamethoxam	Clothianidin
Geisenhausen	L	PE	Raps, sehr stark entwickelt	11.05.	29.04.	18.04.	<0,001	<0,005
Rohrbach	IS	SR	Raps, z.T. eng am Hopfenstock	11.05.	23.04.	21.04.	0,051	<0,005
Grubwinn	tL	PE	Raps, starker Wiederaustrieb	11.05.	13.04.	26.04.	0,056	<0,005
Königsfeld	IS	HS	Winterroggen, Ährenschieben	25.05.	19.04.	22.04.	0,022	<0,005

An drei von vier Standorten konnten sehr geringe Mengen Thiamethoxam festgestellt werden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass in der Probe nur Pflanzen analysiert werden, die in nächster Nähe zum behandelten Stock gestanden waren. Bei den untersuchten Löwenzahnblüten lagen alle Ergebnisse unter der Nachweisgrenze.

Tab. 6: *Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Löwenzahnblüten; mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse*

	Datum Probenahme	Thiamethoxam	Chlothianidin
Kontrollstandort – Ilmtal	23.04.	<0,001	<0,005
Standort offen zur Sandgrube	23.04.	<0,001	<0,005
Umgeben von Hopfengärten	23.04.	<0,001	<0,005

### 3.1.3 Verteilung des Wirkstoffes im Hopfen

Da die Anwendung des Produktes direkt auf den Hopfenstock erfolgte, war zu erwarten, dass der systemische Wirkstoff von der Hopfenpflanze aufgenommen wird. Die Vertei

lung über die Vegetationsperiode bis zum Erreichen der Gerüsthöhe in der Hopfenpflanze wurde deshalb an vier Standorten zu vier Terminen überprüft.

Tab. 7: *Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Hopfenpflanzen zu vier Terminen; mg Wirkstoff/kg Pflanzenmasse*



a) Thiamethoxam

Betrieb	Bodenart	Sorte	Technik	Gießtermin	Kreiseltermin	27.04.; vor Ausputzen	25.05.; 2 m Wuchshöhe	15.06.; 5 m Wuchshöhe	30.06.; 7 m Wuchshöhe
1	IS	HS	Sehr hoch geschnitten	19.04.	22.04.	5,51	1,560	0,753	1,652
2	IS	HM	Normal geschnitten	19.04.	20.04.	2,40	1,646	0,397	0,119
3	IS	HS	Sehr tief geschnitten	27.04.	23.04.	40,14	6,425	1,365	0,696
4	L	HM	Normal geschnitten	10.04.	27.04.	4,49	1,048	0,470	0,380
	L	HM	Schwache Hopfenpflanzen mit z.T. Erdflöhschäden			--	1,706	--	--

b) Clothianidin

Betrieb	Bodenart	Sorte	Technik	Gießtermin	Kreiseltermin	27.04.; vor Ausputzen	25.05.; 2 m Wuchshöhe	15.06.; 5 m Wuchshöhe	30.06.; 7 m Wuchshöhe
1	IS	HS	Sehr hoch geschnitten	19.04.	22.04.	0,138	0,058	0,021	0,029
2	IS	HM	Normal geschnitten	19.04.	20.04.	0,192	0,038	0,018	0,007
3	IS	HS	Sehr tief geschnitten	27.04.	23.04.	0,063	0,286	0,069	0,060
4	L	HM	Normal geschnitten	10.04.	27.04.	0,118	0,022	0,019	0,013
	L	HM	Schwache Hopfenpflanzen mit z.T. Erdflöhschäden			--	0,081	--	--

Wie zu erwarten, wurde der Wirkstoff von der Hopfenpflanze aufgenommen. Der vergleichsweise hohe Wert am 27. April in Betrieb 3 ist darauf zurückzuführen, dass erst wenige Stunden vor der Probenahme der Wirkstoff ausgebracht wurde. Der Abbau und die Verdünnung erfolgt kontinuierlich, ist aber bei Erreichen der Gerüsthöhe noch nicht abgeschlossen. Zum Zeitpunkt der letzten Probenahme hat der Hopfen jedoch erst ca. 30 % der Pflanzenmasse im Vergleich zur Ernte erreicht.

### 3.1.4 Beobachtungen zur Guttation

#### 3.1.4.1 Guttation an Hopfen

Tab. 8: Beobachtungen zur Guttation im Hopfengarten an den Standorten Königsfeld und Hüll

Auhöfe			Hüll			
Datum	Uhrzeit	Wuchshöhe	Bemerkung	Uhrzeit	Wuchshöhe	Bemerkung
22.04.10	6:30	5 - 10 cm		6:45	5 cm	
23.04.10	6:30	5 - 10 cm	Nachtfrost	6:50	5 cm	Nachtfrost
26.04.10	6:10	bis 20 cm		6:40	15 cm	
27.04.10	6:30	bis 25 cm	Frauenmantel guttiert	7:10	0 - 15 cm	Frauenmantel guttiert
28.04.10	6:15	bis 30 cm	Frauenmantel guttiert	7:05	0 - 20 cm	Frauenmantel guttiert
29.04.10	6:15	bis 35 cm	keine Guttation	6:40	0 - 25 cm	keine Guttation
30.04.10	6:20	bis 50 cm		6:45	bis 35 cm	
10.05.10			regennass; vom 30.04. bis 10.05. keine Beobachtungen wegen ständiger Regenfälle			
11.05.10	6:15	70 cm	Frauenmantel guttiert	7:30	60 cm	Frauenmantel guttiert
12.05.10	6:30	70 cm	Frauenmantel guttiert	7:15	60 cm	Frauenmantel guttiert
15.05.10	7:40	100 cm	Frauenmantel guttiert			
17.05.10	6:25	120 cm	etwas Guttation am Frauenmantel	6:40	100 cm	etwas Guttation am Frauenmantel
			Guttationstropfen an der Quecke gefunden			
18.05.10	6:25	140 cm	einzelne Guttationstropfen am Frauenmantel	6:45	120 cm	einzelne Guttationstropfen am Frauenmantel
19.05.10	6:25	160 cm	Guttation am Frauenmantel, Quecke und Roggen	6:50	140 cm	Guttation am Frauenmantel und an den Gräsern
21.05.10	6:25	170 cm	Guttation am Frauenmantel, Gräser und Roggen	7:00	150 cm	Guttation am Frauenmantel und an den Gräsern
23.05.10	8:00		etwas Guttation am Frauenmantel und Roggen			
25.05.10	6:25	180 cm	etwas Guttation am Frauenmantel und Roggen	6:50	170 cm	Guttation am Hopfen an den Kopfspitzen und an den Gräsern
26.05.10	6:30	200 cm	Guttation am Frauenmantel	7:00	180 cm	Guttation am Frauenmantel, frisch beackert, keine Probe
27.05.10	6:30	210 cm	Guttation am Frauenmantel und Gräsern eine Frauenmantelpflanze durchs Ackern zugedeckt	7:10	190 cm	Guttation am Frauenmantel
28.05.10	6:30	220 cm	Hopfenguttation an zwei Blättern in Brusthöhe, am Frauenmantel und an Gräsern	7:15	200 cm	Hopfenguttation auf mehreren Pflanzen in Brusthöhe, sowie am Frauenmantel
31.05.10	06:30	230 cm	einzelne Guttationstropfen an Frauenmantel und Gräsern	07:00	210 cm	kaum Guttation am Frauenmantel und Gräsern
01.06.10	06:30	230 cm	Guttation am Hopfen (wenige Tropfen) und am Frauenmantel	07:15	220 cm	Guttation am Frauenmantel; Abbruch wegen Regen
07.06.10	06:30	300 cm	Guttation am Frauenmantel, einzelne Tropfen am Roggen	07:10	280 cm	Guttation am Frauenmantel; Frauenmantel verätzt durch chemisches Hopfenputzen
08.06.10	06:30	320 cm	Guttation am Frauenmantel	06:55	300 cm	Guttation am Frauenmantel;
09.06.10	06:30	330 cm	Guttation am Frauenmantel, einzelne Tropfen am Roggen	06:55	310 cm	Guttation am Frauenmantel; etwas an den Gräsern
10.06.10	06:30	350 cm	Guttation am Frauenmantel, einzelne Tropfen am Roggen	06:55	320 cm	Guttation am Frauenmantel; an einem Junghopfenblatt
11.06.10	06:30	350 cm	Guttation am Frauenmantel, einzelne Tropfen am Roggen	7.:00	330 cm	Guttation am Frauenmantel;
14.06.10	06:30	400 cm	Guttation am Frauenmantel, einzelne Tropfen am Roggen	07:10	380 cm	Guttation am Frauenmantel;
15.06.10	06:30	450 cm	Guttation am Frauenmantel, geringe Guttation an einzelnen Hopfenblättern	07:20	430 cm	Guttation am Frauenmantel; sehr geringe Guttation an einzelnen Hopfenblättern
18.06.10	06:20	480 cm	Guttation am Frauenmantel; einzelne Tropfen am Hopfen, Roggen wurde gemulcht!	07:00	460 cm	Guttation am Frauenmantel; einzelne Tropfen am Hopfen
21.06.10	06:30	500 cm	Guttation am Frauenmantel; sehr gering am Hopfen	07:15	500 cm	Guttation am Frauenmantel; geringe am Hopfen
23.06.10				08:15	500 cm	Guttation am Frauenmantel;
24.06.10	06:30	520 - 540 cm	Guttation am Frauenmantel	07:15	530 cm	Guttation am Frauenmantel;

Die Frage, ob Hopfen grundsätzlich die Möglichkeit zur Guttation hat, konnte 2010 beantwortet werden. Bei den täglichen, intensiven Kontrollen an jeweils 10 Aufleitungen in einem Hopfengarten konnte an wenigen Tagen geringe Guttation festgestellt werden. Wenn es zur Guttation kommt, sind nur einzelne Pflanzen betroffen und nicht der gesamte Bestand. Wie Abbildung 18 zeigt, können die Tropfen an den Blatträndern eindeutig der Guttation zugeordnet werden. An vier Tagen war es möglich, mit einer Pipette genügend Guttationswasser zu sammeln, um eine Analyse durchführen zu können.



Abb. 18: Guttationstropfen an Hopfenpflanzen (erstmalig dokumentiert)  
Fotos: Georg Meyr, LfL

Tab. 9: Analyseergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Guttationswasser an Hopfen; ng Wirkstoff/ml Guttationswasser

Herkunft	Probenahme	Thiamethoxam	Clothianidin
Hüll	28.05	114,13	30,38
Königsfeld	06.06.	321,91	30,02
Königsfeld	15.06.	321,91	30,02
Hüll	21.06.	47,62	8,25

In drei von vier Analysen werden 100 ng/ml Thiamethoxam im Guttationswasser überschritten. Es ist jedoch festzustellen, dass das Phänomen Guttation an Hopfen äußerst selten auftritt und immer nur einzelne Reben betroffen sind. Die Gehalte an Thiamethoxam liegen deutlich im bienentoxischen Bereich. **Da der Hopfen aber sehr unzuverlässig an nur einzelnen Pflanzen guttiert, ist eine Gefahr für die Bienen auszuschließen, da nicht erwartet werden kann, dass sich die Bienen auf diese wenigen Tropfen einfliegen würden.**

Die intensiven Beobachtungen zur Guttation wurden 2011 in den zwei Hopfengärten wiederholt. Es wurde an einem Tag Guttation beobachtet.

#### 3.1.4.2 Guttation an Frauenmantel

An den speziell eingepflanzten Frauenmantel als Zeigerpflanze für Guttation, konnte wesentlich häufiger als an Hopfen Guttationswasser gesammelt werden.

Tab. 10: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Guttationswasser an Frauenmantel; ng Wirkstoff/ml Guttationswasser

## a) Thiamethoxam

Standort	Standort	27. 04.	11. 05.	21. 05.	26./27. 05	28.-30. 05.	03. 06.	07./08. 06.	14. 06.	18. 06.	24.-26. 06.	27.-29. 06.
Königsfeld	am Stock	<NG	-	<NG	17,0	<NG	-	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG
	Zwischen	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	-	20,1/22,4	26,1	11,8	<NG	<NG
Hüll	am Stock	<NG	-	<NG	40,0	20,29	-	<NG	<NG	<NG	-	10,2
	Zwischen	<NG	<NG	<NG	<NG	10,21	20,3	<NG	<NG	<NG	69,4	-

## b) Clothianidin

Standort	Standort	27. 04.	11. 05.	21. 05.	26./27. 05	28.-30. 05.	02. 06.	07./08. 06.	14. 06.	18. 06.	24.-26. 06.	27.-29. 06.
Königsfeld	am Stock	106,0	<NG	<NG	<NG	2,1	9,4	23,8/32,3	35,4	21,0	4,8	-
	Zwischen	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	28,1
Hüll	am Stock	32,2	<NG	<NG	<NG	1,9	<NG	<NG	<NG	<NG	-	10,2
	Zwischen	<NG	<NG	<NG	<NG	1,9	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG	<NG

Alle Analysenergebnisse liegen unter 100 ng/ml Guttationswasser; die Höhe der Rückstände ist im Vergleich zu Saatgut-gebeizten Pflanzen (wie z. B. Mais, bei dem Rückstände bis zu 100 mg/l gemessen wurden) als sehr gering einzuschätzen. Die positiven Ergebnisse an Frauenmantel „zwischen“ den Hopfenstöcken zeigen, dass an beiden Standorten (lehmgiger Sand- und Lehmboden) der Wirkstoff im Boden vertikal verteilt wird. Auffällig ist, dass der erste Metabolit Clothianidin in Spuren detektiert wird, und das Ausgangsmolekül nicht vorhanden ist. Dies spricht für eine rasche Metabolisierung des Thiamethoxam unter bestimmten Bodenbedingungen.

## 3.1.4.3 Guttation an Zwischenfrüchten und Begleitvegetation

Tab. 11: Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von Guttationswasser an Begleitflora und Zwischenfrüchten; ng Wirkstoff/100 ml Guttationswasser

Herkunft	Kultur	Probenahme	Thiamethoxam	Chlothianidin
Königsfeld	Zwischenfrucht	08.06	<NG	2,1
	Begleitflora	09.06.	<NG	<NG
	Begleitflora	10.06.	<NG	1,70
	Gras dicht am Hopfen	11.06.	10,8	64.2
	Begleitflora	12.06.	<NG	<NG
	Zwischenfrucht	17.06.	<NG	<NG

Es wurde jede Möglichkeit genutzt, Guttationswasser aus den Beobachtungsgärten auf die relevanten Wirkstoffe zu untersuchen. In einem Fall wurde im Guttationswasser von Gras, das im Bereich der Gießstelle aufgelaufen ist, Thiamethoxam unter dem vorläufigen Grenzwert für Bienen gefunden.

#### 3.1.4.4 Wirkstoffe im Guttationswasser bei Hopfen, der Begleitvegetation und beim Frauenmantel

Vergleicht man die Wirkstoffkonzentrationen, die in den wenigen verfügbaren Hopfenproben gefunden worden sind, mit denen der Begleitflora und des Frauenmantels, dann wird erkennbar, dass beim Hopfen, als direkt behandelte Pflanze erwartungsgemäß die höchsten Konzentrationen auftreten können. Pflanzen, die in Stocknähe gewachsen sind, liefern tendenziell niedrigere Werte. Mit zunehmendem Abstand zur Gießstelle verringern sich die Konzentrationen dann deutlich und liegen unter den derzeit als kritisch angesehenen Werten.

### 3.1.5 Alternative Wasserquellen

Fünf Wasserproben aus Staunässebereiche in behandelten Hopfengärten sind auf die relevanten Rückstände untersucht worden. In zwei Proben wurden für Bienen relativ geringe Konzentrationen von Thiamethoxam und in einer Probe Clothianidin im Bereich der Bestimmungsgrenze gefunden worden. Offensichtlich kann Regen einen Teil des eingesetzten Wirkstoffs in andere Bereich des Hopfengarten verlagern.

Tab. 12: *Detektierbare Wirkstoffe im Wasser aus Pfützen (ng/ml)*

Wirkstoff Probenahme	Thiamethoxam	Clothianidin
13.05.2010	20,9	-
13.05.2010	4,2	-
03.06.2010	-	2,0
15.06.2010	-	-
23.06.2010	-	-

### 3.1.6 „Strunkwasser“ nach der Ernte

Tab. 13: *Analysenergebnisse auf Thiamethoxam und Clothianidin von „Strunkwasser“; ngWirkstoff/100 ml Wasser*

Standort	Bodenart	Gießtermin	nach der Ernte
Königsfeld	IS	27.04	< NG
		ohne	< NG
Hüll	L	10.04.	< NG
		ohne	< NG

Zum Zeitpunkt der Ernte sind im Pflanzensatz keine Rückstände der gesuchten Wirkstoffe vorhanden.

## 3.2 Totenfall am Flugloch

### 3.2.1 Vergleich der Standorte Hopfen-Zentral, Hopfen-Alternative und Kontrolle

Über den gesamten Zeitraum der Probenahme wird erkennbar, dass der Totenfall sich an allen drei Standorten auf einem vergleichbaren, geringem Niveau befand. In der Abb. 19 ist der Mittelwert der Standorte pro Kalenderwoche für acht Völker aufsummiert angegeben; der Totenfall pro Volk und Kalenderwoche beträgt somit nur ein Achtel der Werte in der Grafik. Die Höhe des durchschnittlich gemessenen Totenfalls ist als gering und normal zu bezeichnen und liegt im Rahmen des natürlichen Totenfalls für Wirtschaftsvölker. Die auf äußere Umstände, wie beispielsweise klimatische Einflüsse zurückzuführenden Schwankungen zwischen den Kalenderwochen sind deutlich größer als zwischen den Varianten innerhalb einer Kalenderwoche. Nur in den Kalenderwochen 19 war der Totenfall am Standort Kontrolle deutlich höher im Vergleich zum Standort Hopfen/Zentral und zum Standort Alternative.

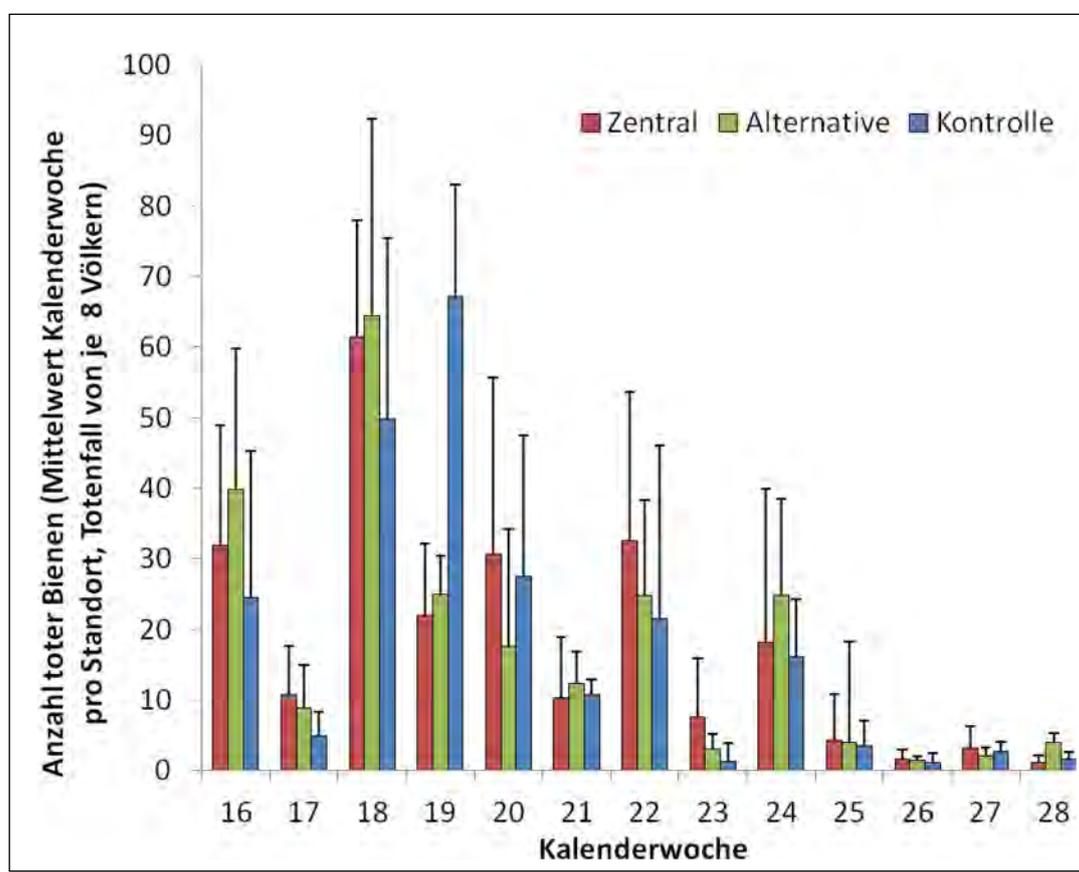


Abb. 19: Anzahl toter Bienen pro Standort

Tab. 14: Übersicht der Rückstände von Thiamethoxam, Clothianidin und Chlorpyrifos im Totenfall

Datum	Standort Hopfen					Standort Alternative					Standort Kontrolle				
	Totenfall Hopfen	Probe	Clothianidin	Thiamethoxam	Chlorpyrifos	Totenfall Alternative	Probe	Clothianidin	Thiamethoxam	Chlorpyrifos	Totenfall Kontrolle	Probe	Clothianidin	Thiamethoxam	Chlorpyrifos
19.04.10	84	141/10-01	2	1	0	159	141/10-02	2	10	0	64	141/10-03	2	1	0
21.04.10	59	141/10-04	4	1	0	50	141/10-05	4 1	13 5	1	65	141/10-06	5	1 0	0
23.04.10	81	141/10-07	0	0	0	70	141/10-08	3	8	3 4	43	141/10-09	3	1 4	0
05.05.10	294	141/10-10	3	1	3	228	141/10-11	1	0	2	194	141/10-12	1	0	3
07.05.10	92	141/10-13	0	0	0	193	141/10-14	0	0	1	122	141/10-15	0	0	3
14.05.10	54	141/10-16	0	0	0	90	141/10-17	0	0	0	340	141/10-18	0	0	1
03.06.10	83	141/10-19	0	0	0	134	141/10-20	0	0	0	98	141/10-21	0	0	0
04.06.10	107	141/10-22	0	0	0	30	141/10-23	0	0	0	38	141/10-25	0	0	0
18.06.10	89	141/10-24	0	0	0	102	141/10-26	0	0	0	86	141/10-27	0	0	0

Rückstände in µg/kg

Tab. 15: Übersicht der Rückstände von Thiamethoxam, Clothianidin von lebenden, am Flugloch abgefangenen Bienen

Variante	Probenmaterial	Datum	Nachweisbare Wirkstoffe
Hopfen	Lebend abgefangene Bienen	20.04.10	n.n.
Hopfen	Lebend abgefangene Bienen	11.05.10	n.n.
Hopfen	Lebend abgefangene Bienen	12.05.10	n.n.
Kontrolle	Lebend abgefangene Bienen	14.05.10	n.n.
Kontrolle	Lebend abgefangene Bienen	27.04.10	n.n.
Kontrolle	Lebend abgefangene Bienen	20.04.10	n.n.
Kontrolle	Lebend abgefangene Bienen	23.04.10	n.n.
Kontrolle	Lebend abgefangene Bienen	30.04.10	n.n.
Alternative	Lebend abgefangene Bienen	20.04.10	0.3 µg/kg Thiamethoxam
Alternative	Lebend abgefangene Bienen	23.04.10	n.n.
Alternative	Lebend abgefangene Bienen	27.04.10	n.n.
Alternative	Lebend abgefangene Bienen	30.04.10	n.n.

### 3.2.2 Betrachtung der einzelnen Standorte

#### Standort Hopfen-Zentral

Da die Totenfallen an drei Tagen in der Woche beprobt wurden, ist bei der Interpretation der Grafiken der einzelnen Standorte zu berücksichtigen, dass ein Balken immer den Totenfall von je acht Völkern verteilt auf zwei Tage darstellt.

Der Totenfall am Standort Hopfen ist an den meisten der beprobten Tage mit weniger als zehn Bienen pro Volk im Rahmen des natürlichen Totenfalls und als gering einzustufen. Auch die Tage mit erhöhtem Totenfall sind nicht alarmierend und liegen im Rahmen der natürlichen Schwankungen des Totenfalls. Am 05.05. wurde in den Totenfallen im Vergleich zu den Standorten Alternative und Kontrolle ein erhöhter Totenfall festgestellt. An den Tagen vorher war witterungsbedingt der Totenfall gleich Null. Am 03.06. und 18.06. wurde in allen Varianten ein etwas höherer Totenfall festgestellt. Insgesamt wurden vom Standort Hopfen neun Totenfall-Proben für weitere Rückstandsanalysen ausgewählt.

Um die Ursachen der Schwankungen des Totenfalls genauer zu untersuchen, wurde der Totenfall von Tagen mit höherer Mortalität für weitere Rückstandsanalysen ausgewählt und mit der Multi-Methode des JKI auf etwa 250 verschiedene zugelassene und nicht zugelassene Pflanzenschutzmittel (Pflanzenschutzmittelwirkstoffe, Biozide und Varroazide) bei einer Nachweisgrenze vom 0,3 µg/kg für Clothianidin und Thiamethoxam untersucht. Die für die Rückstandsanalytischen Untersuchungen ausgewählten Proben sind in der Grafik mit Pfeilen gekennzeichnet.

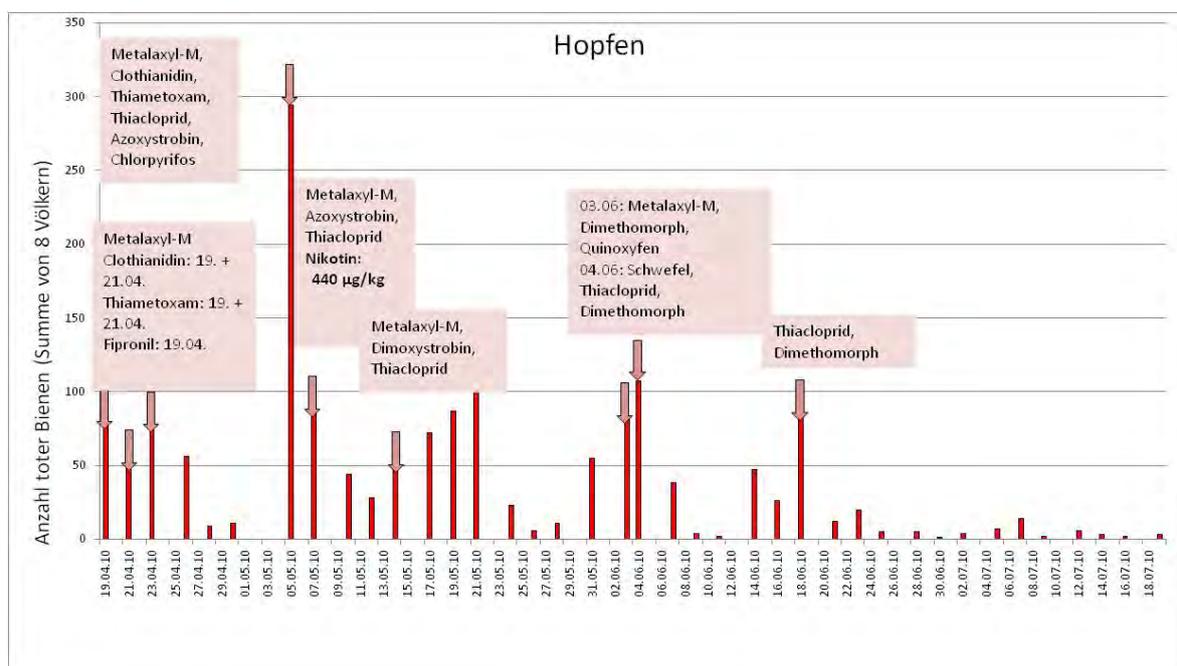


Abb. 20: Gesamtüberblick über gefundene Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln im Totenfall am Standort „Hopfen-Zentral“

In der Analyse des Totenfalls vom 05.05. wurden die fungiziden, untoxischen Wirkstoffe Metalaxyl-M und Azoxystrobin neben den für Bienen stark toxischen insektiziden Wirkstoffen Clothianidin, Thiamethoxam und Chlorpyrifos festgestellt.

An vereinzelt Tagen (19.4., 21.4., 05.05 ) wurde in den Proben insektizide Wirkstoffe wie die bienentoxischen Thiamethoxam und den Wirkstoff Clothianidin, der auch Metabolit von Thiamethoxam ist, sowie Fipronil, Chlorpyrifos sowie der mäßig toxische Wirkstoff Thiacloprid nachgewiesen. Darüber hinaus wurden auch einige fungizide Wirkstoffe, die für Bienen nicht toxisch sind, nachgewiesen. Da Thiamethoxam und Clothianidin immer in denselben Proben nachgewiesen wurden, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass Clothianidin hier Metabolit von Thiamethoxam war. Der erhöhte Totenfall (~37 Bienen/Volk) am 5.5. lässt sich jedoch nicht allein durch die nachgewiesenen Werte an Thiamethoxam und Clothianidin und den ebenfalls nachgewiesenen Wert von Chlorpyrifos erklären. Auch in den Varianten Alternative und Kontrolle wurden ähnlich hohe oder sogar höhere Werte an Thiamethoxam und Clothianidin nachgewiesen, die nicht mit hohem Totenfall einher gehen (z. B. Kontrolle 21.4. und 23.4.). Auch ist anzumerken, dass am 5.5. der Totenfall in allen Varianten-Hopfen, Alternative und Kontrolle gleichermaßen erhöht war (summierter Totenfall von 8 Völkern 194 - 294 Bienen). Witterungsbedingt wurden am 1.5. und 3.5. in keiner der Varianten Totenfall gefunden. Da die Bienen den Totenfall im Unterboden erst bei Flugwetter ausräumen, ist dieser Totenfall zum Teil auch den vorherigen Terminen zuzurechnen.

Zur weiteren Klärung der Herkunft der Wirkstoffe wurden zusätzlich heimkehrende Bienen, die am Flugloch abgefangen worden waren, auf Rückstände von Thiamethoxam, Clothianidin und Imidacloprid analysiert, um zu klären, ob die Rückstandsfunde von in Totenfallen gefundenen toten Bienen auch in lebenden Bienen nachgewiesen werden können. Am Standort Hopfen-Zentral waren Proben von heimkehrenden Bienen vom 20.4., 11.5. und 4.6.2010 verfügbar. In keiner der analysierten Proben konnten neonicotinoide Wirkstoffe nachgewiesen werden.

### **Standort Hopfen-Alternative**

Auch in der Variante Alternative war der Totenfall an den meisten der beprobten Tage mit weniger als zehn Bienen pro Volk in den Totenfallen als sehr gering und im Rahmen des natürlichen Totenfalls einzustufen. Insgesamt wurden vom Standort Alternative neun Totenfall-Proben für weitere Rückstandsanalysen ausgewählt.

Besonders auffällig ist die Analyse vom 21.04.10 (Probe 141/10-05). Hier wurden überraschend hohe Rückstände von Thiamethoxam (135 µg/kg) und Clothianidin (41 µg/kg) gemessen. Der Totenfall in der Totenfalle war an diesem Tag im Vergleich mit anderen Tagen nicht auffällig erhöht, und war mit sieben Bienen pro Volk als sehr gering zu bezeichnen. Wären eine größere Anzahl an Bienen mit solchen Rückständen konfrontiert worden, wäre eine deutlich höhere Mortalität feststellbar. Es ist jedoch davon auszugehen, dass entweder wenige einzelne Bienen mit sehr hohen Rückständen belastet waren oder dass Bodestaubpartikel auf die Bienen in der Totenfalle gelangt sind. Bei der nächsten Beprobung am 23.04. waren die Rückstände von TMX und CLO bereits deutlich geringer, auch hier war der Totenfall nicht deutlich erhöht. Die Verdriftung von Erdstaubpartikeln könnte möglicherweise auf das Kreiseln am 20., 22. und 23.04. zurückzuführen sein, das nach der Gießapplikation von Thiamethoxam am 19.4. erfolgte. Die Verdriftung wirkstoffhaltiger Partikel kann wirksam unterbunden werden, wenn das Kreiseln vor der Gießapplikation erfolgt. Im Rahmen der Anwendungsbestimmungen und Beratung ist sicher zu stellen, dass das Kreiseln künftig vor der Gießapplikation durchzuführen ist.

Am Standort Alternative waren Proben von heimkehrenden Bienen vom 20.04., 23.04., 27.04. und 30.04. verfügbar. In einer der analysierten Proben, der Probe vom 20.04. wurden 0,3 µg/kg Thiamethoxam nachgewiesen.

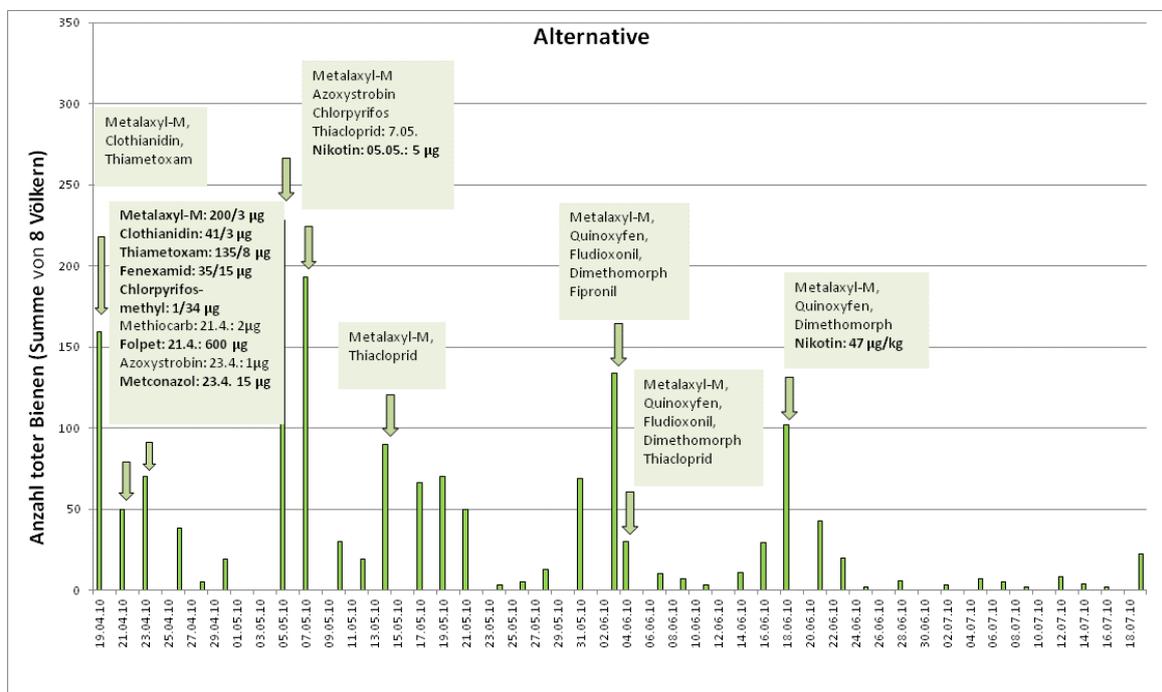


Abb. 21: Gesamtüberblick über gefundene Wirkstoffe von Pflanzenschutzmittel im Totenfall am Standort „Hopfen-Alternative“

### Standort Wiese-Kontrolle

Der Totenfall ist auch am Standort Kontrolle an den meisten der beprobten Tage mit weniger als zehn Bienen pro Volk im Rahmen des natürlichen Totenfalls und somit als gering einzustufen. Insgesamt wurden auch vom Standort Kontrolle neun Totenfall-Proben für weitere Rückstandsanalysen ausgewählt.

Am 14.05. wurde ein im Vergleich zu den anderen Erhebungstagen erhöhter Totenfall (~22 Bienen/Volk/Tag) festgestellt. In der Probe wurde der bienentoxische Wirkstoff Chlorpyrifos in geringer Menge sowie Spuren des mäßig toxischen Wirkstoffs Thiacloprid und der untoxischen Fungizide Azoxystrobin und Dimoxystrobin festgestellt. Ein Zusammenhang des Anstiegs des Totenfalls mit der Ausbringung von Thiamethoxam in Hopfengärten kann somit mit Sicherheit ausgeschlossen werden. An den restlichen Tagen wurde in den Totenfallproben zwar immer wieder Rückstände verschiedener Wirkstoffe, jedoch nicht von Thiamethoxam oder dem Metabolit Clothianidin festgestellt.

Am Standort Kontrolle waren Proben von heimkehrenden Bienen vom 20.04., 23.04., 27.04., 30.04. und 14.05. verfügbar. In keiner der analysierten Proben konnten neonicotinoide Wirkstoffe nachgewiesen werden.

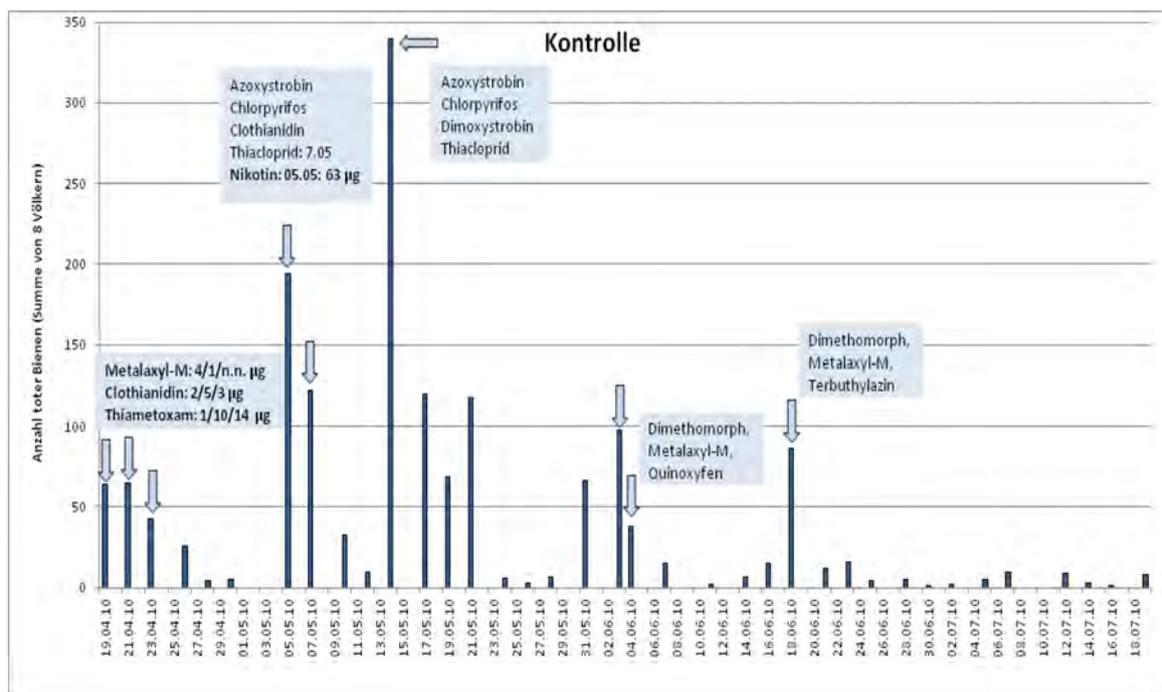


Abb. 22: Gesamtüberblick über gefundene Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln im Totenfall am Standort „Wiese-Kontrolle“

### Schlussfolgerung:

Der Totenfall im Versuchszeitraum war insgesamt bei allen Varianten als gering zu bezeichnen. Die Schwankungen zwischen den Wochen sind deutlich größer als zwischen den Varianten. Es wurden keine signifikanten Unterschiede im Verlauf des Totenfalls zwischen den Standorten Kontrolle, Alternative und Hopfen festgestellt. Es wurde kein Zusammenhang zwischen den an einzelnen Erhebungstagen gegenüber dem Durchschnitt erhöhtem Totenfall und der Gießanwendung mit Thiamethoxam in Hopfen festgestellt. In einzelnen Bienenproben wurden im Zeitraum vom 19.4. bis 5.5. Rückstände von Thiamethoxam und dem Abbauprodukt Clothianidin nachgewiesen und waren bei den folgenden Probennahmen nicht nachweisbar. Aufgrund der in den Proben nachgewiesenen Rückstände und der Höhe des Totenfalls ist jedoch davon auszugehen, dass nur eine sehr geringe Menge an Bienen mit Rückständen von Thiamethoxam und Clothianidin konfrontiert wurde, da sonst stark erhöhter Totenfall in den Totenfallen sichtbar wäre. Darüber hinaus wurden Rückstände verschiedener Pflanzenschutzmittelwirkstoffe vor allem untoxischer Wirkstoffe, die in bienenungefährlichen Mitteln enthalten sind, festgestellt, aber auch vereinzelt Rückstände anderer für Bienen toxischer Insektizide. Dennoch war auch an diesen Tagen der Totenfall nicht stark erhöht.

Es ist davon auszugehen, dass die hohen Rückstandswerte von Thiamethoxam und Clothianidin auf die Verdriftung wirkstoffhaltiger Partikel zurückzuführen ist. Diese Verdriftung kann künftig wirksam unterbunden werden, wenn das Kreiseln vor der Gießapplikation erfolgt. Im Rahmen der Anwendungsbestimmungen und Beratung ist daher sicher zu stellen, dass das Kreiseln künftig vor der Gießapplikation durchgeführt wird.

### 3.3 Verhalten und Entwicklung der Bienenvölker

Die Volksentwicklung der Bienenvölker ist in Abb. 23 dargestellt. Die Völker hatten im April eine Stärke von 8000 – 10000 Bienen. Diese verhältnismäßig geringe Volksstärke ist auf die kalten Überwinterungsstandorte im Voralpenland und im Bayerischen Wald zurückzuführen.

Die Volksentwicklung verlief zunächst etwas schleppend, Ende Mai hatten die Völker aber eine Bienenzahl von knapp 27.000 Individuen und 13.000 Brutzellen erreicht. Im Juli nahm die Bienenzahl wieder auf knapp 18.000 Tiere ab. Signifikante Unterschiede zwischen den Bienenständen konnten zu keinem Zeitpunkt nachgewiesen werden (H-Test nach Kurskal-Wallis,  $p > 0,05$ ). Die Völker am Standort Wiese waren geringfügig stärker, was vermutlich auf die bessere Trachtsituation in den Ilmwiesen zurückzuführen ist. Der Schwarmtrieb hielt sich in einigen Völkern bis Ende Juni, was im wesentlichen auf die Völkerführung (keine Entnahme von Brut und Bienen) zurückzuführen ist. Auffälligkeiten an den Bienenvölkern wurden nicht beobachtet. Am Bienenstand Hopfen wurden die Daten eines Volkes auf Grund von Drohnenbrütigkeit (Verlust der Königin) nicht ausgewertet, die Stichprobenzahl bei den Angaben zur Volksentwicklung und zum Honigertrag reduziert sich daher auf sieben.

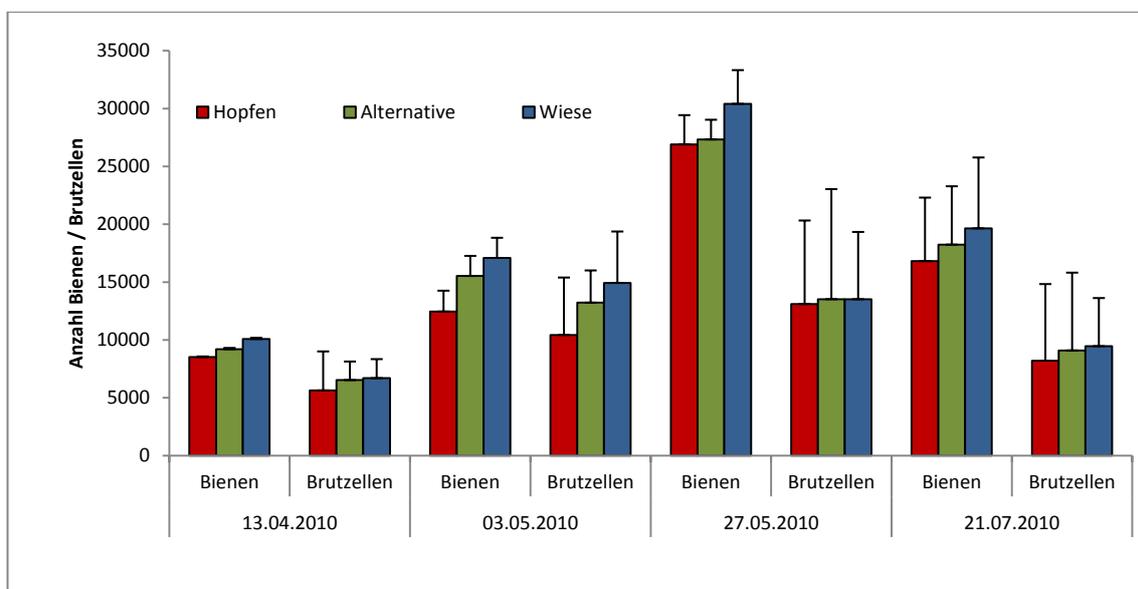


Abb. 23: Die Volksstärke der Bienenvölker (Anzahl Bienen und Brutzellen) ermittelt nach der Liebefelder Methode zu den verschiedenen Beobachtungszeiten im Versuch. Dargestellt sind die Mittelwerte ( $n = 8$ , für Hopfen  $n = 7$ ) und Standardabweichungen.

In der zweiten Junihälfte wurde die Brutmortalität an fünf Völkern je Bienenstand bestimmt. An den Bienenständen Wiese und Hopfen wurden Brutmortalitäten von 7 bzw. 10 Prozent ermittelt. Diese Werte sind als normal einzustufen, da bei der Durchführung der Folienprotokolle die Brut auskühlt und es so zu Verlusten von 10 bis 15 Prozent kommen kann. Die Mortalität am Stand Alternative war mit 22 Prozent erhöht und gegenüber der Kontrolle (Wiese) sind diese Unterschiede auch mit  $p = 0,032$  signifikant (U-Test nach Mann und Whitney,  $U = 2,000$ ;  $z = -2,193$ ,  $n = 5$ ). Eine Erklärung für diese erhöhte Brutmortalität lässt sich aus den vorliegenden Daten nicht herleiten, Effekte auf die Volksentwicklung sind jedoch nicht erkennbar.

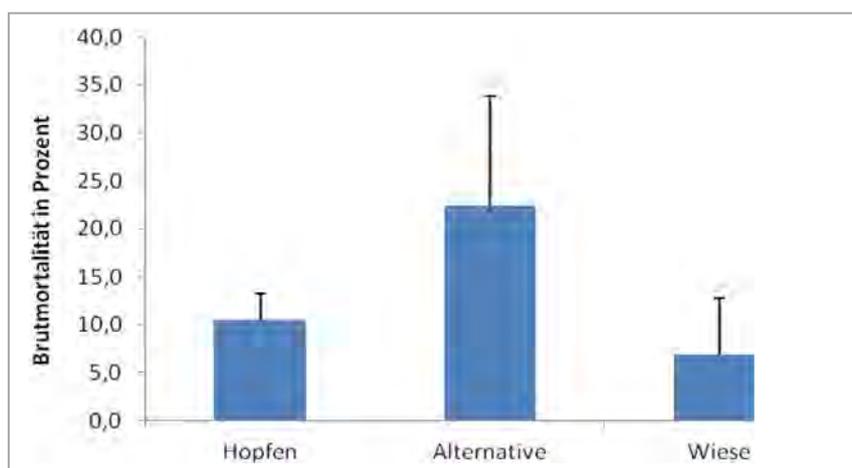


Abb. 24: Die Brutmortalität an den verschiedenen Bienenständen in Prozent. Dargestellt sind die Mittelwerte ( $n = 5$ ) und Standardabweichungen.

Die Ergebnisse der Honigernten sind in der Abb. 24 dargestellt. Es konnte nur relativ wenig Frühtracht geerntet werden, im Mittel 7 kg (Hopfen) bis 11 kg (Alternative und Wiese). Diese geringe Ernte ist einerseits auf die kühle Witterung zurückzuführen und andererseits auf die geringe Stärke der Völker im Frühjahr. Ein Teil des eingetragenen Honigs wurde von den Völkern zur Entwicklung benötigt und verbrütet. Die Sommertracht war mit knapp 30 kg je Volk und Bienenstand gut. Unterschiede zwischen den Ständen gab es nicht. In keiner Honigprobe ( $n = 6$ ) konnte Thiamethoxam oder ein Metabolit nachgewiesen werden (Befund LUFA Speyer).

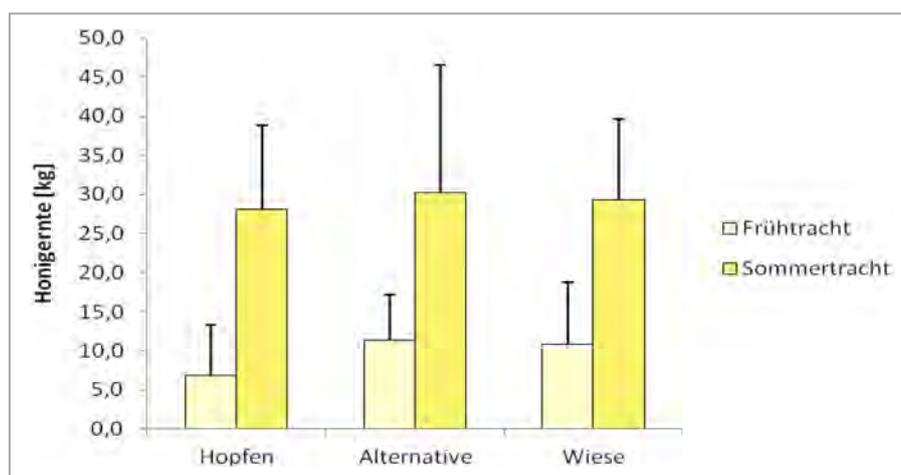


Abb. 25: Honigerträge aus der Früh- und Sommertrachternte an den einzelnen Bienenständen. Dargestellt sind Mittelwerte ( $n = 8$ , für Hopfen  $n = 7$ ) und Standardabweichung.

Auch in den Bienenbrotproben konnte kein Thiamethoxam nachgewiesen werden (siehe Tab. 17). Allerdings wird deutlich, dass die Bienenvölker mit einer Vielzahl von Pflanzenschutzmitteln in Kontakt gekommen sind. Insbesondere Fungizide und Herbizide waren nachweisbar. Diese Daten spiegeln die landwirtschaftliche Praxis in der Region wieder.

Tab. 16: Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen des Bienenbrottes (Quelle: Befund der LUFA Speyer)

Konzentration [mg/kg]		Hopfen		Alternative		Kontrolle	
		171	131	45	272	274	393
Thiacloprid	B4; I		0,018	0,006	0,016	0,021	0,026
Azoxystrobin	B4; F			0,006		0,007	0,007
Boscalid	B4; F					0,005	0,008
Carbendazim	B4; F	0,006					
Cyprodinil					0,393		
Dimethomorph	B4; F	0,039	0,038	0,041	0,028	0,017	0,017
Fenhexamid	B4; F	0,017					
Metalaxyl	B3, F	0,01					
Metolachlor		0,02		0,013	0,011		
Pethoxamid	B4, H	0,047					
Prosulfocarb	B4, H		0,009	0,01		0,007	0,016
Terbuthylazin	B4, H	0,064		0,018		0,01	0,006

### 3.4 Pollenuntersuchungen

Die Ergebnisse der Pollenproben sind nicht mit denen des Bienenbrottes gleichzusetzen. Im Bienenbrot gibt es eine größere Summe an eingetragenem Pollen, der über einen längeren Zeitraum gesammelt wird. Die hier vorliegenden Pollenproben geben lediglich Auskunft über den am Morgen gesammelten Pollen. Bei den Ergebnissen ist weiter darauf zu achten, dass aufgrund der teils sehr geringen Einwaagen die Bestimmungsgrenzen unterschiedlich sind. Bei geringem Probenumfang konnte entsprechend unempfindlicher gemessen werden. Untersuchungen der Landesanstalt für Bienenkunde ergaben, dass die 100 Pollenhörschen von 50 Bienen im Schnitt 0,85 g wiegen. Daraus lässt sich ein Gewicht von 0,0085 g pro Pollenhörschen bzw. 0,017 g pro Biene ermitteln.

Die von uns gesuchten Neonicotinoide konnten in den vorhandenen Proben nicht nachgewiesen werden. Von der Familie der Neonicotinoide wurde lediglich Thiacloprid, ein Spritzmittel aus dem Obst- und Gemüsebau, gefunden. Auffallend war der Fund von Methiocarb, einem Beizmittel von Mais, bei allen drei Standorten resultierend aus den gepoolten Proben der KW 16 und einer hohen Konzentration Dimethoat, einem Phosphorsäureester. Weiter nachgewiesen werden konnten Fungizide und ein Herbizid aus dem Raps-, Obst- und Gemüsebau. Als Ergebnis lässt sich zusammenfassen, dass die Bienen in Kontakt mit Pflanzenschutzmitteln anderer Kulturen kommen, aber mit den hier relevanten Wirkstoffen, Thiamethoxam und Clothianidin, nicht bzw. in geringem Ausmaß, da sie unter der Bestimmungsgrenze liegen.

Tab. 17: Pollenanalysergebnisse auf Pflanzenschutzmittel

Probe	Einwaage in g	Bestimmungs- grenze in µg/kg	Insektizide						Fungizide					Her- bizid
			TMX	Clothianidin	Imidacloprid	Dimethoat	Thiacloprid	Methiocarb	Metalaxyl	Bitertanol	Azoxystrobin	Dimethomorph	Fenhexamid	
H1	0.0130	1154	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
H2	0.3815	39	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
H3	0.0253	593	<BG	<BG	<BG	7907	432	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	1907
H4	0.0562	267	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
H5	0.0455	330	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
H6	0.3574	42	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	43	<BG	<BG	<BG	<BG
H7	0.8780	17	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	53	16	253	<BG	<BG	<BG	<BG
A8	0.0093	1613	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	268
A9	1.2359	12	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	118
A10	0.0784	191	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	145
A11	0.5270	28	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	31	<BG	<BG
A12	0.8718	17	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	38	<BG	88	<BG	<BG
A13	0.0055	2727	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
A14	0.7548	20	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	30	<BG	<BG	<BG	<BG
A15	0.9714	15	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	67	22	49	<BG	<BG	35
A16	0.0162	938	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
K17	0.5962	25	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	165	<BG	<BG	<BG	<BG
K18	0.0024	6250	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
K19	1.7426	9	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	21	15	16	<BG	<BG	<BG
K20	0.4584	33	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	65	140
K21	1.1233	13	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	13	<BG	<BG	<BG	<BG
K22	0.2488	60	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	58	<BG	<BG	<BG	<BG
K23	1.3402	11	<BG	<BG	<BG	<BG	134	<BG	<BG	<BG	14	<BG	<BG	119
K24	0.0372	403	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
K25	0.1066	141	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
K26	0.0135	1111	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG

Im Rahmen des Projekts wurde untersucht, ob nach der Gießanwendung von Actara® (Wirkstoff Thiamethoxam) eine Belastung der Bienen und der Bienenprodukte mit Rückständen aus der Behandlung und negative Auswirkungen auf die Mortalität, das Verhalten, die Brut- und Populationsentwicklung der Bienenvölker auftreten können.

Da der Wirkstoff von der Hopfenpflanze aufgenommen wird, ist eine Verlagerung des systemischen Wirkstoffs in Guttationstropfen und zu einem gewissen Teil auch im Boden zu erwarten. Im Rahmen der Untersuchungen wurde festgestellt, dass das Phänomen Gut-

tation an Hopfen äußerst selten auftritt und immer nur einzelne Pflanzen betroffen sind und die Rückstände im Vergleich zu anderen Kulturen wie z. B. Mais nur in vergleichsweise sehr geringen Konzentrationen nachweisbar waren. Es ist höchst unwahrscheinlich, dass Bienen sich auf diese wenigen Tropfen einfliegen würden; die potentielle Gefährdung für die Bienenvölker ist daher als sehr gering einzuschätzen. Geringe Rückstände konnten auch in blühenden als Zwischenfrüchten eingesäten Rapspflanzen direkt am Hopfenstock, nicht jedoch in Löwenzahnblüten nachgewiesen werden.

Für die Untersuchung der Auswirkungen auf Bienenvölker wurde je 8 Bienenvölker an 3 Standorten aufgestellt und über die Dauer von mehreren Monaten intensiv beobachtet und regelmäßig beprobt.

Es wurden zahlreiche Rückstandsuntersuchungen von Pollen, Bienenbrot, frisch eingetragem Nektar und Wasser, reifem Honig sowie Bienen aus Totenfallen und am Flugloch abgefangener lebender Bienen durchgeführt. Die Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen von Pollen und Bienenbrot zeigen, dass die Bienen in Kontakt mit Pflanzenschutzmitteln anderer Kulturen kommen, aber nicht mit Rückständen aus der Gießanwendung von Actara® im Hopfenbau. In sämtlichen Pollen- und Bienenbrotproben lagen die hier relevanten Wirkstoffen, Thiamethoxam und Clothianidin unterhalb der Nachweisgrenze. Auch im Honig waren keinerlei Rückstände von Thiamethoxam bzw. Clothianidin nachweisbar.

In den toten Bienen aus den Totenfallen wurden in nur wenigen Proben Rückstände von Thiamethoxam und Clothianidin nachgewiesen. Der Totenfall war jedoch auch an Tagen mit erhöhten Rückstandsfunden nicht erhöht. Zudem konnten in Bienen, die am gleichen Tag lebend am Eingang zum Bienenstock abgefangen wurden, keine Rückstände dieser Wirkstoffe gefunden werden. Bei den toten Bienen sind die Rückstände daher mit hoher Wahrscheinlichkeit auf mögliche Staubverfrachtungen nach dem Kreiseln oder nach Bodenbearbeitungsmaßnahmen zurückzuführen. Diese Belastungen kann künftig wirksam ausgeschlossen werden, indem das Kreiseln vor der Gießapplikation erfolgt. Der Totenfall im Versuchszeitraum war insgesamt bei allen Varianten als gering zu bezeichnen und lag auf vergleichbarem Niveau. Es wurden keine signifikanten Unterschiede im Verlauf des Totenfalls zwischen den Standorten Kontrolle, Alternative und Hopfen festgestellt. Es wurde kein Zusammenhang zwischen den an einzelnen Erhebungstagen gegenüber dem Durchschnitt erhöhtem Totenfall und der Gießanwendung mit Thiamethoxam in Hopfen festgestellt.

Auch die Volks- und Brutentwicklung der Bienenvölker verlief im gesamten Beobachtungszeitraum normal, signifikante Unterschiede sind zu keinem Zeitpunkt aufgetreten. Auffälligkeiten wurden nicht beobachtet.

Nach der Gießanwendung von Actara® im Hopfen wurde kein Wirkstofftransport in das Bienenvolk, keine Kontamination des Honigs und keine Beeinträchtigung oder Gefährdung der Bienenvölker festgestellt. Die Anwendung von Actara in Hopfengärten stellt somit eine erfolgsversprechende Pflanzenschutzmaßnahme zur Bekämpfung von Bodenschädlingen dar, ohne dass Bienenvölker geschädigt werden.

## 4 Schlussbemerkung

Ein sensibles Thema konnte sachlich nach wissenschaftlichen Methoden bearbeitet werden. Die zu Beginn des Projektes offene und ehrliche Diskussion zwischen Vertretern der Hopfenwirtschaft, Imkern, amtlichen Beratern auf beiden Seiten und Wissenschaftlern aus vier verschiedenen Institutionen hat eine Plattform gebracht, auf der sich alle bestens vertreten fühlten. Ein Musterbeispiel der Zusammenarbeit zwischen Praktikern und Wissenschaftlern. Allen Beteiligten ein „herzliches Danke“.

## Literaturverzeichnis

Imdorf A., Buehlmann G., Gerig L., Kilchenmann V. (1987): Überprüfung der Schätzmethode zur Ermittlung der Brutfläche und der Anzahl der Arbeiterinnen in freifliegenden Bienenvölkern.

Apidologie: 18 (2): 137 - 146.

Reetz, J. E., S. Zühlke, M. Spiteller, K. Wallner (2011): Neonicotinoid insecticides translocated in guttated droplets of see-treated maize and wheat: a threat to honeybees? Apidologie DOI 10.1007/s13592-011-0049-1

Wallner, K. (2011): Beizmittelwirkstoffe im Guttationswasser von Nutzpflanzen. ADIZ/db/IF 2:9-10