

Schlussbericht

Referenzsystem für ein vitales Bienenvolk „FIT BEE“ - Modul 3 und 7

Zuwendungsempfänger: Landesanstalt für Bienenkunde, Universität Hohenheim	Förderkennzeichen: 2817100110
Vorhabenbezeichnung: <u>Modul 3:</u> Erfassung des Pflanzenschutzmitteleintrags ins Bienenvolk und Reduktion des Wirkstoffeintrags durch agrartechnische Maßnahmen <u>Modul 7:</u> Entwicklung einer biologischen Bekämpfungsmethode gegen die Varroa-Milbe auf der Basis von Sexualpheromonen	
Berichtszeitraum: 01.04.2011 bis 31.08.2015	

I. Modul 3: Erfassung des Pflanzenschutzmitteleintrags ins Bienenvolk und Reduktion des Wirkstoffeintrags durch agrartechnische Maßnahmen

1. Aufgabenstellung

Modul 3 untergliedert sich in drei ineinander greifende Teilbereiche. Im ersten Abschnitt (Wirkstoffeintrag) soll der Wirkstoffeintrag von heimkehrenden Sammlerinnen bei den gängigen Verfahren im Raps bestimmt werden. Fungizide und bienenungefährliche Insektizide werden in die Blüten von Rapsfeldern gespritzt. Heimkehrende Bienen werden am Flugloch abgefangen und sowohl die Honigmageninhalte wie auch die Pollenhöschen rückstandsanalytisch bearbeitet.

Das technische Arbeitsziel des zweiten Abschnitts (Applikationstechnik) umfasst die Entwicklung und Konstruktion eines Spritzgestänges durch den Kooperationspartner Fa. Lechler, mit dem blühende Rapsschläge befahren werden können und das mit Düsen ausgestattet ist, die möglichst unterhalb des Blütenansatzes der Rapspflanzen Pflanzenschutzmittel im Bestand verteilt. Die Zahl der von Pflanzenschutzmitteln getroffenen offenen Blüten soll dadurch drastisch vermindert werden. Diese Technik wurde vergleichend mit der konventionellen Technik auf den Versuchsbetrieben der Universität Hohenheim und in Halfreilandversuchen auf dem Versuchsbetrieb Höfchen des Kooperationspartners Fa. Bayer CropScience durchgeführt.

Das technische Arbeitsziel des dritten Abschnitts (Repellentien) umfasst die Entwicklung eines verkapselten Wirkstoffs (Input des Kooperationspartners Fa. Syngenta Agro) mit alarmierender oder abschreckender Wirkung auf sammelnde Honigbiene, mit dem blühende Rapsschläge behandelt werden. Der Kontakt zu den kontaminierten Blüten soll dadurch drastisch vermindert werden.

2. Voraussetzungen und Ziele

Die Ziele des Moduls 3 sind wie folgt:

1. Den Einfluss der konventionellen Landwirtschaft (chemischer Pflanzenschutz) bezüglich der Wirkstoffkonfrontation von Bienen und Bienenvölkern zu erfassen. => Wirkstoffeintrag
2. Den Wirkstoffeintrag aus Blütenbehandlungen im Raps durch gerätetechnische Veränderungen zu reduzieren. => Applikationstechnik
3. Durch die Verwendung von geeigneten Additiven den Bienenbeflug in behandelte Flächen zu minimieren. => Repellentien

Winterraps spielt in Deutschland als Nahrungsquelle für Bienenvölker, aber auch als Wirkstoffquelle eine übergeordnete Rolle. Raps ist hoch attraktiv als Pollen- und Nektarspender, auf der anderen Seite sind ackerbauliche Landschaften heute sehr blütenarm geworden, so dass ein zusätzlicher Zwang entsteht, diese Blüten zu befliegen. Der Anteil des Rapspollens in Pollenfallenernten und im eingelagerten Bienenbrot nimmt eine überragende Rolle ein. Folglich muss im Zusammenhang mit der Beflugsintensität dieser Kultur auch mit einer hohen Wirkstoffkonfrontation gerechnet werden.

3. Planung und Ablauf

Die Landesanstalt für Bienenkunde der Universität Hohenheim verfügt über ein modernes DAKKS zertifiziertes Rückstandslabor und hat sich seit 1988 auf die beiden wichtigen Wirkstoffquellen, die Imkerei und den chemischen Pflanzenschutz spezialisiert und eigene Methoden und miniaturisierte Probenaufbereitungsverfahren für die Messung von Honigblaseninhalten entwickelt. Neben der notwendigen imkerlichen Infrastruktur zur Durchführung der Freilandversuche stehen auch die gut ausgestatteten, flexiblen landwirtschaftlichen Versuchsbetriebe der Universität Hohenheim zur Verfügung.

Die Zwischenberichte vom 30.04.2012 (Zeitraum 01.04.2011 bis 30.04.2012), vom 27.05.2013 (Zeitraum 01.05.2012 bis 30.04.2013), vom 30.04.2014 (Zeitraum 01.04.2013 bis 31.03.2014) und vom 30.04.2015 (Zeitraum 01.04.2014 bis 31.03.2015) liefern eingehende Informationen zur Entwicklung des Moduls. Ergebnisse werden in Teil II dieses Berichts vorgestellt.

Alle Versuche konnten an den Versuchsbetrieben der Universität Hohenheim (Heidfeldhof und Ihingerhof), die in erreichbarer Nähe liegen, durchgeführt werden. Die notwendigen Schlepper mit modernen Spritzgeräten sowie geschultes Bedienungspersonal standen zur Verfügung. Bienenvölker wurden durch Landesanstalt für Bienenkunde der Universität Hohenheim bereitgestellt. Die geplanten Pflanzenschutzmittel wurden größtenteils von den Projektpartnern zur Verfügung gestellt.

Der Wirkstoffeintrag von ausgewählten systemischen und nicht systemischen Wirkstoffen wurde durch Rückstandsanalysen im Sammelgut heimkehrender Bienen untersucht.

Dabei wurde die Nektarbelastung durch Analyse des Honigblaseninhalts, die Pollenbelastung durch Messung der abgefangenen Pollenhöschen bestimmt. Die Aufarbeitung sämtlicher Proben erfolgte im Rückstandslabor der Landesanstalt für Bienenkunde, die rückstandsanalytische Bestimmung der Wirkstoffgehalte an der LUFA in Speyer.

In Wahlversuchen am Bienenvolk sollten sowohl Wirkstoffe, die in der Literatur beschrieben sind wie auch, eigene Entwicklungen getestet werden. Die erfolgreichsten Wirkstoffe wurden anschließend in Freilandversuchen ebenfalls als Wahlversuch an freifliegenden Bienen untersucht. Im letzten Schritt wurden die in den Vorversuchen abschreckenden Substanzen auf blühende Felder aufgebracht und der Bienenbeflug bonitiert.

4. Stand der Wissenschaft und Technik

4.1. Wirkstoffeintrag

An der Landesanstalt für Bienenkunde wird seit einigen Jahren intensiv der Frage nachgegangen, mit welchen Wirkstoffeinträgen aus Kulturpflanzen gerechnet werden muss, die während ihrer Blüte mit Pflanzenschutzmitteln behandelt werden. In diesem Zusammenhang wurden hauseigene Methoden entwickelt um heimkehrende Bienen am Flugloch abzufangen und zu konservieren. Diese Methoden basieren auf speziellen Kleinstaubsaugern, die mit 12 Volt Batterien betrieben werden können, CO₂-Schneepistolen, die über tragbare Tauchrohflaschen versorgt werden. Zusätzlich wichtig ist eine Möglichkeit, die tiefgefrorenen Bienen in das Labor zu transportieren. Dafür wurde im Rahmen des FitBee-Projekts ein batteriebetriebener, transportabler Kühlkompressor beschafft (Literaturangaben siehe Anhang).

4.2. Applikationstechniken

Weder eine hängende und nach unten arbeitende Version, wie es im Rahmen des Innovationsprojektes geplant war, noch eine Anwendung in der Rapsblüte wurden jemals in der Literatur beschrieben. Die Erwartungshaltung auf der Ebene der Pflanzenbauer war eher die, dass es gar nicht möglich erschien, blühenden Raps mit Düsenverlängerungen zu durchkämmen, ohne dass es zu dramatischen Schäden am Pflanzenbestand und ggf. auch am Spritzgestänge kommen würde.

4.3. Repellentien

Zur Frage der Repellentien lag eine begrenzte Anzahl von internationaler Literatur vor. Allerdings wurde noch nie beschrieben, potentielle Wirkstoffe in verkapselter Form einzusetzen, um dadurch eine Wirkungsverlängerung zu erreichen.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Laufe des Düsenprojekts wurde mit einer sich ständig erweiternden Anzahl von Institutionen zusammengearbeitet. Vor allem in der Freilandtestphase mit randomisierten Blockanlagen in den Jahren 2013-2015 (siehe Anhang).

II. Ergebnisse des Vorhabens

1.1. Wirkstoffeintrag

Im ersten Abschnitt sollten Daten zur Wirkstoffkonfrontation von Sammlerinnen nach Spritzmittelapplikationen im Raps untersucht werden. Diese Daten sind für eine Risikoabschätzung und für Laborstudien wichtig, da sie Anhaltspunkte zur tatsächlichen Wirkstoffbelastung von sammelnden Bienen liefern. Um realistische Versuche, z.B. zum Heimfindeverhalten oder zur Langlebigkeit durchführen zu können, sind solche Daten unverzichtbar.

Die im Arbeitsprogramm gewählten Pflanzenschutzmittel decken den chemischen Charakter der aktuell in der Anwendung befindlichen Wirkstoffgruppen ab. Hydrophil, systemisch bzw. lipophil und nicht systemisch. In den Diagrammen und Tabellen ist die Wirkstoffkonfrontation der Bienen in Blüten, dem Futtevvorräten und dem gesammelten Pollen immer entsprechend der Applikationstechnik vergleichend dargestellt. In allen Matrices wird die gewünschte Wirkstoffreduktion durch das optimierte Verfahren deutlich erkennbar.

Es hat sich bei beiden Matrices herausgestellt, dass die höchsten Wirkstoffgehalte am Tage der Spritzmaßnahme und den beiden Folgetagen auftauchen. Darüber hinaus kann bei systemischen Wirkstoffen über 6-8 Tage nach der Applikation der Wirkstofftransport analytisch verfolgt werden. Die gemessenen Wirkstoffkonzentrationen, teilweise überraschend hohe Konzentrationen, sind abhängig von den chemischen Eigenschaften und der ausgebrachten Wirkstoffmenge. Wirkstoffe mit lipophilen Eigenschaften und geringerer Aufwandmenge (z.B. verschiedene Pyrethroide) tauchen nur kurze Zeit und mit niedrigen Konzentrationen im Nektar, wie auch im Blütenpollen auf. Hydrophile und systemische Wirkstoffe (z.B. Neonikotinoide) werden über den Saftstrom auch in Knospen und Blüten verfrachtet, die zum Zeitpunkt der Applikation noch geschlossen waren.

Im Hinblick auf die entstehende Honigqualitäten aus Rapskulturen, die während der Blüte behandelt worden sind, muss berücksichtigt werden, dass neben dem chemischen Charakter und der Aufwandmenge pro ha, eine Reihe von zusätzlichen Faktoren Einfluss auf die Rückstandssituation im geernteten Honig nimmt. Das sind zum einen zusätzliche Nektarquellen außerhalb der behandelten Kultur (Blumenwiesen, Obstbäume, Ahorn), aber auch Witterungseinflüsse nach der Spritzmaßnahme. Während Schlechtwetterphasen nach der Applikation wird frisch eingetragener Nektar mitsamt den eingetragenen Wirkstoffen im Volk verbraucht. Damit kann bei der klassischen Überkopfapplikation im Raps der hohe Wirkstoffschub am Tag der Spritzmaßnahme und dem Folgetag keine Kontaminationsquelle für den später geernteten Honig mehr sein. Trotz identischer Behandlungsstrategie im blühenden Raps können deshalb stark abweichende Rückstandswerte im Honig gefunden werden. Ein klarer Zusammenhang zwischen der Anbauintensität, der Flächengröße und dem zu erwartenden Rückstandsrisiko für Honig konnte in den Versuchsjahren nicht abgeleitet werden. So muss eine Überkopfspritzung nicht zwangsläufig zu hohen Rückstandswerten in

Honig führen. Auf der anderen Seite führt eine Unterblütenspritzung mit Droplegs offensichtlich immer zu tiefen Belastungswerten in diesem sensiblen Produkt.

1.2. Applikationstechnik

Über verschiedene Zwischenstufen konnte in Zusammenarbeit mit dem Kooperationspartner Fa. Lechler eine innovative Düse, die sogenannte Dropleg^{UL}, bis zur Marktreife entwickelt werden. Diese hochelastische Düse wurde in allen Projektjahren parallel zum konventionellen Verfahren auf den Versuchsbetrieben und in den Zeltversuchen getestet. Die Freisetzung der Spritzbrühe erfolgt durch zwei 90° Flachstrahldüsen Düsen unterhalb der Blütenebene, also etwa 35-40 cm im Bestand. Damit bleiben die Blüten der Rapspflanze, vor allem aber die Nektar- und Pollen liefernden Blütenorgane weitgehend wirkstofffrei. Der Focus lag, neben den zu lösenden technischen Fragen (horizontale bzw. vertikale Wirkstoffverteilung im Pflanzenbestand, Beschädigungen im Pflanzenbestand, auftretende Kräfte am Spritzbalken), bei den bereits beschriebenen Fragen zum Wirkstofftransport, zur Belastung von Honig und Pollen. Es konnte klar gezeigt werden, dass diese optimierte Technik sowohl die Sammlerinnen, wie auch die an der Verarbeitung beteiligten Stockbienen und die Vorräte des gesamten Bienenstocks vor den, beim klassischen Spritzverfahren unvermeidbaren hohen Wirkstoffschüben nach der Applikation, schützen kann. Die Belastung der Blüten des Nektars und des gesammelten Pollens liegt meist um mehrere Faktoren unter den Rückstandswerten der konventionellen Technologie. Honig war in einigen Versuchsjahren nur nahe den Bestimmungsgrenzen, bzw. sogar darunter mit den ausgebrachten Wirkstoffen belastet.

1.3. Repellentien

Die Entwicklung von abschreckenden Substanzen, die Honigbienen davon abhalten sollen, bestimmte Nahrungsquellen, in unserem Fall mit Pflanzenschutzmitteln behandelte blühende Flächen, anzufliegen, wurde schon in Vergangenheit immer wieder aufgegriffen. In der Literatur sind Wirkstoffe beschrieben, die diese Wirkungen haben sollen.

Eine ganze Reihe dieser Substanzen, in der Regel Duftstoffe wurden beschafft und in selbst entwickelten Testverfahren am Bienenstock auf ihre Wirkung überprüft. Die Versuche am Volk wurden mit dem Ziel entwickelt, einfach und schnell möglichst viele Wirkstoffe zu untersuchen.

Zur Bewertung der Repellentwirkung wurde bei beiden Methoden die abgenommene Futtermenge pro Zeit gemessen.

Zusätzliche flüchtige Wirkstoffe wurden mit in die Testreihen aufgenommen und in erweiterten Freilandversuchen und mit Feldapplikationstudien überprüft. Durch die Käfig- und Freilandtests konnten 6 Wirkstoffe identifiziert werden, die für eine Anwendung in einer blühenden Kultur in Frage kamen. Dazu wurden vom Kooperationspartner zunächst aus den flüchtigen, öligen Substanzen pulverförmige WP-Präparate hergestellt. Bei den Freilandtests hat sich herausgestellt, dass es durch Aufsprühen einiger Substanzen tatsächlich gelingt, Bienen vorübergehend nahezu vollständig aus einem attraktiven blühenden Pflanzenbestand

heraus zu drängen. Allerdings hält diese Wirkung aufgrund des flüchtigen Charakters der Testsubstanzen nur etwa 1 Stunde lang an. Durch den Kooperationspartner, die Fa. Syngenta Agro, wurde versucht, einen der interessanten Wirkstoffe zu verkapseln. Dabei hat sich gezeigt, dass der technische Aufwand dafür außergewöhnlich hoch war, so dass der Test der ersten Kapselprodukte erst für die Jahre 2014/15 geplant werden konnte. Ziel der Verkapselung war, die Freisetzung des Wirkstoffs über eine längere Zeitspanne auszudehnen und so die Abschreckung aufrecht zu erhalten.

Die Ergebnisse der Tests mit blühender Phacelia im Frühjahr 2015 waren dann relativ ernüchternd. Die Kapselpräparate erreichten bei weitem nicht den Abschreckungseffekt der unverkapselten Originalwirkstoffe. Vermutlich erfolgt die Freisetzung der Wirkstoffe zu zögerlich. D.h. der Wirkstoffaufwand müsste vermutlich drastisch erhöht werden. Darüber hinaus muss auch berücksichtigt werden, dass sich in nicht angeflogene Blüten allmählich große Nektarmengen ansammeln und der zunächst abschreckende Geruch dann von den Sammlerinnen als Erkennungsmerkmal für besonders attraktive Blüten gewertet wird. Damit würde die ursprünglich angedachte Strategie einer Abschreckung ins genaue Gegenteil umschlagen. Letztendlich kommen Zweifel auf, ob der angedachte Weg, die Entwicklung eines repellenten Additivs zukünftig weiter verfolgt werden sollte.

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die Zuwendungen wurden, wie beantragt, vor allem für Personalkosten und Materialbeschaffung, Reise- und Analysekosten eingesetzt. Die Vorkalkulation hat die später entstandenen Kosten gut abdecken können.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit ergibt sich wie bei den Partner-Modulen aus den hervorragenden Ergebnissen und dem Verwertungsplan.

4. Nutzen und Verwertbarkeit der geleisteten Arbeit

4.1. Wirkstoffeintrag

Eine wichtige Erkenntnis aus den Projektversuchen war, dass es nur in Zeltversuchen gelingen kann, realistische Werte zur Frage der Pollenbelastung nach einer Pflanzenschutzmittelapplikation zu bekommen. Andererseits sind Zeltversuche in der gewählten Dimension offensichtlich nicht immer geeignet die Nektarbelastung oder die Honigbelastung realistisch abzubilden. Dies gelingt deutlich besser in den Freilandversuchen. Aber auch hier sind methodische Schwächen klar erkennbar. Vermutlich spielen zusätzliche Trachtpflanzen in der Umgebung, aber auch der Witterungsverlauf eine wichtige Rolle. Die Rückstandssituation im Honig kann die enorme Konfrontation der Bienen mit den Wirkstoffgehalten in den Blüten am Applikationstag und den beiden Folgetagen nicht sicher abbilden. Auch das war eine wichtige Erkenntnis des Projekts.

4.2. Applikationstechnik

Als Projekterfolg des Modul 3 kann die Entwicklung der Dropleg^{UL} Düse gewertet werden. Diese Düse erlaubt eine innovative Applikationstechnik im Raps und bietet sowohl Vorteile für die Bienenvölker und die Imkerei insgesamt, wie auch für den Rapsanbau. Die Tatsache, dass alle Beteiligten Vorteile bei dieser Düsentechnologie finden können, stellt die Basis für einen wirtschaftlichen Vermarktungserfolg dar. Aktuelle und geplante Verschärfungen bei den zulässigen Höchstgrenzen von Raps-spritzmitteln in Bienenprodukten erzwingen praktisch den Einsatz dieser Düsentechnologie im Raps.

Raps ist eine außerordentlich wichtige Trachtpflanze für die Imkerei in Deutschland und es muss im Interesse der Imkerschaft sein, dass diese Pflanze auf den deutschen Äckern auch weiterhin angebaut wird. Die entwickelte Düse kann selbst durch die verschärften Bedingungen durch die Veränderungen bei den Höchstgrenzen eine Schlüsselrolle für die Zukunft des Rapsanbaus im Land darstellen.

- Die verlängerten Düsen stellen kein Risiko für den Pflanzenbestand dar. Beschädigungen an den Haupttrieben treten nahezu nie, an den Seitentrieben nur in äußerst geringem Umfang auf. Vergleichende Ertragsmessungen im Winterraps zeigen, dass es keine abgesicherten Unterschiede zwischen dem konventionellen und optimierten Blütenbehandlungsverfahren gibt.
- Kraftmessungen und praktische Erfahrungen haben gezeigt, dass es, selbst bei großen Arbeitsbreiten zu keinen kritischen Belastungen an den Spritzgestängen kommt.
- Fahrtgeschwindigkeiten bis zu 12 km/h wurden erfolgreich, d.h. ohne erkennbare Probleme für die neue Technik getestet.
- Für die Dropleg^{UL} Düse liegt bereits eine Anerkennung seitens des JKI vor.
- Bei einem geringen Prozentsatz der in der Praxis befindlichen Spritzgestänge gibt es technische Schwierigkeiten bei der Ausstattung mit diesen Düsen.
- Bei der Wirkstoffverteilung im Pflanzenbestand unterscheiden sich beide Verfahren deutlich. Beim konventionellen Überkopfverfahren benetzt etwa ein Drittel der ausgebrachten Präparate Menge den Blütenbereich, beim optimierten Verfahren sind es dagegen nur wenige Prozent. Dafür ist beim optimierten Verfahren die Wirkstoffanlagerung im Stengelbereich und am Stengelgrund etwa doppelt so hoch wie beim Überkopfverfahren.
- Das Abdrift Risiko ist beim optimierten Verfahren deutlich reduziert, erste Ergebnisse lagen bei Reduktionswerte von über 90%. Damit könnte eine deutlich erhöhte Planungssicherheit für den Pflanzenschutzmittelanwender.
- Aufgrund der Tatsache, dass beim optimierten Verfahren kaum Blüten mit Pflanzenschutzmittel benetzt werden, ist der Werkstoffeintrag mit dem Pollen und dem Nektar aus so behandelten Flächen drastisch reduziert. Vor allem die extreme Wirkstoffkonfrontation der Sammlerinnen am Tag der Spritzmaßnahme und den beiden

Folgetagen bleibt beim optimierten Verfahren aus. Dies spielt auch im Hinblick auf andere Blütenbesucher (Hummeln, Solitärbiene) eine beachtenswerte Rolle.

- Dies mündet letztendlich in einer deutlich reduzierten Rückstandsbelastung des geernteten Raps Honigs und der Pollenvorräte.
- Die entwickelten Düsen können auch in anderen Kulturen einen für Blütenbesucher vorteilhaften Einsatz finden (Mais, Getreide, Soja, Baumwolle).
- Es zeichnen sich Vorteile sowohl für den Pflanzenbau, wie auch für die Imkerei ab und folgt dem politischen Ziel der Reduktion von Pflanzenschutzmitteln und deren optimierter Anwendung.
- Die gewünschte biologische Wirkung gegen Sclerotinia wird auch durch das optimierte Verfahren sicher erreicht.
- Zu wenig gesicherte Ergebnisse gibt es bisher zur Wirkung gegen den Kohlschotenrüssler. Der Befallsdruck der letzten drei Jahre war zu niedrig, um hier sichere Aussagen machen zu können. Allerdings liegen praktische Erfahrungen vor, dass sich der Kohlschotenrüssler durch das spontane Durchrütteln des Pflanzenbestands aus den Blüten fallen lässt und dann vom Spritzstrahl der Dropleg-Düsen erfasst wird.

Die Düse wird derzeit auch für den Flüssigdüngereinsatz erprobt und kann z.B. im Mais, aber auch in Gemüsebaukulturen für die pflanzenschonende Ausbringung von Dünger eingesetzt werden. Wachstumsdepressionen oder Verbrennungen, die von der Überkopfspritzung bekannt sind, können mit dieser Technik vermieden werden.

Erfolgsaussichten nach Projektende

Die positiven Ergebnisse zur Applikationstechnik, die im Rahmen des FitBee Projekt erreicht worden sind, sollten durch förderpolitische Maßnahmen unterstützt werden. Darüber hinaus müssen die Vorteile des Verfahrens, die durchaus für den Anwender erkennbar sind, an die Praxis vermittelt werden. Wichtig wäre auch Exaktversuche, zur Frage der Reduktion des Wirkstoffaufwands im Raps, die im Zusammenhang mit den Droplegs durchaus realistisch erscheint.

Ebenso wichtig wäre es, diesen technischen Ansatz auch in anderen, von Insekten beflogenen Kulturen, zu überprüfen.

Als wichtigster Erfolg dürfte die deutliche Reduktion der Wirkstoffkonfrontation von Honigbienen, Hummeln und anderer blütenbesuchender Nützlinge durch die optimierte Applikationstechnik gesehen werden. Damit einhergehend kann das Rückstandsrisiko für Bienenprodukte minimiert werden. Dies unterstützt die Imkerei im Land durch den qualitativen Vorsprung ihrer Produkte.

Die Messergebnisse zum Wirkstofftransport helfen dem Imker zur richtigen Zeit den Raps an zuwandern. um Rückstände Im Sammelgut zu minimieren. Dies kann im Hinblick auf die Produkthaftung (Höchstgrenzen) wichtig sein.

Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die Erfolgsaussichten für die Dropleg Düsen sind, nicht zuletzt als Drift minderndes Verfahren vielversprechend und werden sicherlich im Bericht des Kooperationspartner Fa. Lechler ausführlich dargestellt.

4.3. Repellentien

Das wissenschaftlich-technische Ergebnis des Abschnitts 2 war, ein vermarktungsfähiges innovatives Produkt (Additiv) zu entwickeln, das Bienen nach einer Pflanzenschutzmittelapplikation in blühende Bestände davon abhält, die Blüten über mehrere Stunden zu befliegen konnte nicht erreicht werden.

- Es wurden zwei Substanzen identifiziert, die spontan und höchst effektiv Bienen aus einem blühenden Pflanzenbestand (*Phacelia tanacetifolia*) vertreiben können.
- Es ist gelungen, daraus Produkte zu entwickeln, die als Suspension auf Pflanzenbestände ausgesprüht werden können.
- Es ist gelungen, einen der Wirkstoffe zu verkapseln und ein transport- und lagerfähiges Produkt zu entwickeln.
- Es konnte eine stark Fraß abschreckende Substanz identifiziert werden.
- Die Produkte können mit gängigen Spritzsystemen ausgebracht werden.
- Die nicht verkapselten Produkte lösen sofort nach der Applikation ihre vertreibende Wirkung aus.
- Diese Wirkung hält allerdings nur kurzfristig an. Spätestens nach einer Stunde ist die ursprüngliche Beflugsstärke wieder erreicht.
- Das verkapselte Produkt führt zu keiner erkennbaren Abschreckung der Sammlerinnen.
- Die stark gebremste Freisetzung des Wirkstoffs aus den Kapseln dürfte die Ursache sein.
- Der Wirkstoffaufwand und die damit verbundenen Kosten für ein Additiv dürften deshalb zu hoch werden.
- In Blüten, die nicht abgesammelt werden, reichern sich sowohl die Nektar-, wie auch die Pollenmengen an. Damit werden diese Blüten für Bienen hoch attraktiv. Es ist damit zu rechnen, dass der ursprüngliche Plan der Abschreckung in das Gegenteil umschlägt und der Geruch des Additivs als Erkennungsmerkmal für besonders interessante Blüten gewertet wird.

Am Projektende muss das ursprünglich geplante Vorhaben des Abschnitts 3 (Repellentien) eher kritisch bewertet werden.

Erkenntnisse und Nebenergebnisse

Im Rahmen des Projektes wurden unterschiedliche methodische Ansätze zur Überprüfung der repellenten Wirkung von Substanzen entwickelt und getestet. Dabei hat sich gezeigt, dass Wahlversuche im Bienenvolk nicht geeignet sind, Substanzen mit diesen Eigenschaften sicher zu identifizieren. Weder in aufgesetzten Futterkammern, noch mit Futtereinrichtungen die direkt die Wabengassen bedienen, konnten reproduzierbare Daten gewonnen werden.

Deutlich besser schnitt die Versuchsanordnung im Freiland mit Futterstellen in leeren Bienenkästen und kleinem Einflugloch ab. Für Beflugskontrollen im Freiland wurde ein neues Zählverfahren entwickelt, das es dem Beobachter deutlich erleichtert die Bienenzahl in einer definierten Fläche zu zählen und damit hilft, individuelle Beobachtungsfehler zu minimieren.

5. Erkenntnisse von Dritten

Versuche mit randomisierten Blockanlagen wurden von 2013-2015 in verschiedenen Bundesländern durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen einheitlich, dass der Wirkungserfolg der Dropleg^{UL} Düse gegen Sclerotinia vergleichbar mit der konventionellen Technik ist und dass für den Landwirt keine Ertragsereibußen zu erwarten sind. Allerdings muss er derzeit die Kosten für die Aufrüstung seiner Feldspritze tragen. Hier sollte eine Förderung überdacht werden.

6. Veröffentlichungen

- Wallner, K. (2012) The Bee Book. Returning forager as a tool to measure the pesticide confrontation and transport into the bee colony, Standard methods for toxicology research, S. 29
- Wallner, K. (2012) Pflanzenschutz und Bienenschutz müssen kein Gegensatz sein. Rheinische Bauernzeitung 21: 24-26
- Wallner, K. (2012) Nicht in die Blüte. DBJ 9: 18-19
- Wallner, K. Chr. Maus, M. Tritschler, R. Friessleben (2012): Optimized spray application in oilseed rape – effects on nectar and pollen contamination. 5th European Conference of Apidology: 116
- Wallner, K. (2012) Neues Spritzverfahren für Rapsfelder. Bienenpflege 10: 338-340
- Wallner, K. (2013): Pestizide im Pollen. DBJ 4: 33
- Wallner, K. (2013): Düsen tiefer gelegt. Eine neue Technik soll Bienen vor Spritzmitteln schützen. ADIZ 5: 15-16
- Wallner, K. (2013): Pflanzenschutzmittel im Honig. Kritisch sind die wasserlöslichen Wirkstoffe. Badische Bauernzeitung 45: 22-23
- Wallner, K. (2013): Rückstandsuntersuchungen in Bienenprodukten. Jahresbericht D.I.B. 12/13: 93-94
- Wallner, K. (2013): Blütenbehandlung und Honigqualität. Bienenpflege 12: 449-451
- Wallner, K. (2014): Saubere Blüten mit Droplegs. DLV-Agrarmagazin 1: 1-5
- Wallner, K. (2014): Dropleg – die bienenfreundliche Düse. Gesellschaft der Freunde der Landesanstalt. Hohenheim aktuell 17: 4
- Heinkel, R., J. Morhard, K. Wallner (2014): Neue Ansätze zur Rapsblütenbehandlung mit dem Dropleg^{UL}. Raps 1: 1-3
- Wallner, K. (2014): Dropleg^{UL} – die bienenfreundliche Düse. Innovation 2:4-6
- Wallner, K. (2014): Bienen schützen mit Droplegs. DLZ agrar magazin 3: 52-54
- Wallner, K. (2014): Rückstände im Honig. DBJ 5:8-9

- Wallner, K. (2014): Pflanzenschutz im Raps: Sind Droplegs praxistauglich? Der Pflanzenarzt 4: 13-15
- Wallner, K. (2014): Spannungsfeld entschärfen. Bienenfreundlicher Pflanzenschutz im Rapsanbau. BWagrar Landwirtschaftliches Wochenblatt/Schwäbischer Bauer 11:15-16
- Wallner, K., R. Heinkel, R. Friessleben (2014): A new and bee friendly application technology in oilseed rape. Sixth European Conference for Apidology. Murcia: 207
- Reetz, J.E., K. Wallner (2014): An optimised technique for the preparation of honey sacs of *Apis mellifera* L. Journal of Apicultural Research 53 (4): 500-502
- Wallner, K. (2015): Dropleg^{UL} – eine zukunftsweisende Technologie für den Rapsanbau. Symbiose Imkerei und Landwirtschaft – eine spannende Partnerschaft. Ländliches Fortbildungsinstitut LK Österreich: 55-59
- Wallner/Maus/Friessleben (2015): Tiefergelegter Schutz. Neue Applikationstechnik für Pflanzenschutzmittel schont Bestäuber. BeeNow Edition 1:34-37
- Wallner, K., S. Spiewok (2015): Auf gutem Wege: DBJ 1:18-20
- Wallner, K. (2015): Rapsbestand mit Düsen durchkämmen. Land und Forst 47/15: 7-8
- Wallner, K. (2016): Guter Raps, schlechter Raps. ADIZ 03: 12
- Wallner, K. (2016): Quasi-Verbot für Thiacloprid. DLG-Mitteilungen 3: 73

I. Modul 7: Biologische Varroabekämpfung mit Sexualpheromonen

1. Aufgabenstellung

Die wissenschaftlichen Arbeitsziele beinhalteten schwerpunktmäßig die detaillierte Erfassung sämtlicher Verhaltensabläufe vor, während und nach der Paarung der Varroa-Milben innerhalb der verdeckelten Brutzelle.

2. Voraussetzungen und Ziele

Die Bekämpfung der Varroa-Milbe als permanenter „Stressor“ der Bienenvölker ist eine entscheidende Voraussetzung für ein vitales Bienenvolk. Der Varroa-Befall ist zudem ein entscheidender Faktor für die periodisch auftretenden hohen Winterverluste (siehe „Deutsches Bienenmonitoring“, Genersch et al. 2010). Unser Vorhaben sollte die Möglichkeiten der bisherigen Varroa-Bekämpfungskonzepte dahingehend erweitern, dass über eine biologische Kontrolle das Populationswachstum des Parasiten während der Saison soweit gebremst wird, dass eine für die Gesundheit des Bienenvolkes kritische Schwelle bis zum Zeitpunkt der Herbst- bzw. Winterbehandlung nicht erreicht wird.

3. Planung und Ablauf

Die technischen Arbeitsziele beinhalteten zunächst ein geeignetes Testsystem, um die Effekte spezifischer Substanzen auf den Paarungsverlauf zu screenen und eine Dosis-Wirkungsbeziehung zu untersuchen. Für wirksame Substanzen sollte dann eine geeignete Applikationsmethode entwickelt werden, um die entsprechenden Substanzen sicher und kontrolliert in Brutzellen einbringen zu können.

4. Stand der Technik

Für eine gute Entwicklung der Bienenvölker während der Saison und insbesondere der Aufzucht gesunder Winterbienen muss der Varroa-Befall ganzjährig so gering wie möglich gehalten werden (siehe Review Rosenkranz et al. 2010). Die Varroa-Bekämpfung besteht bisher ausschließlich aus chemischen und biotechnischen Methoden. Diese Verfahren erfordern entweder einen hohen Arbeitsaufwand und/ oder zeigen keine ausreichende Wirkung oder es besteht die Gefahr der Resistenz- und Rückstandsbildung. Ein grundsätzlich effektiver Ansatz für eine nachhaltige Bekämpfung der Varroa-Milbe wäre es, die Reproduktionsrate der Varroa-Weibchen zu reduzieren. Der enorme Einfluss einer solchen Störung wurde in verschiedenen mathematischen Populationsmodellen (Fries et al. 1994; Martin 1998, DeGrandi-Hoffman & Curry 2004) demonstriert. Die Paarungsbiologie der Varroa-Milben bietet hierfür eine realistische Möglichkeit. Varroa-Milben reproduzieren ausschließlich innerhalb der verdeckelten Bienenbrutzelle, wobei die zuvor in die unverdeckelte Brutzelle eingedrungene Muttermilbe zunächst ein männliches und danach mehrere weibliche Eier legt. Das adulte Männchen kopuliert dann mit den adulten weiblichen Nachkommen innerhalb der Brutzelle. Bis vor kurzem gab es keinerlei Informationen darüber, wie die kopulationsbereiten Varroa-Männchen die jungen Weibchen finden. Unsere Arbeitsgruppe konnte erstmals das Kopulationsverhalten der Varroa-Männchen als eine Kaskade distinkter Verhaltensweisen beschreiben (Ziegelmann et al. 2008, Ziegelmann et al. 2013a) und vor allem nachweisen, dass frisch gehäutete Varroa-Weibchen das mit Abstand attraktivste Stadium für kopulationsbereite Männchen darstellen. Durch ein neues Extraktionsverfahren konnten wir durch Säulen-Fraktionierung eine hochaktive polare Fraktion erhalten, die das Kopulationsverhalten auslöst und daraus die Schlüsselsubstanzen (Palmitin-, Stearin- und Ölsäure und die entsprechenden Ethylester) identifizieren, die sowohl einzeln als auch in Kombination das Kopulationsverhalten der Varroa-Männchen auslösen.

Referenzen:

Fahle N. (2004) Ein Biotest zur Untersuchung der chemischen Kommunikation bei der Begattung der Bienenmilbe *Varroa destructor* (Anderson & Trueman 2000, ehemals *Varroa jacobsoni* Oudemans), Bachelorarbeit der Allgemeinen Agrarwissenschaften an der Universität Hohenheim.

Garrido C., Rosenkranz P. (2003) The reproductive program of female *Varroa destructor* mites is triggered by its host, *Apis mellifera*, Exp. Appl. Acarol. 31, 268-273.

Garrido C., Rosenkranz P. (2004) Volatiles of the honey bee larva initiate oogenesis in the parasitic mite *Varroa destructor*, Chemoecology 14, 193-197.

Genersch E; von der Ohe W; Kaatz H; Schroeder A; Otten C; Buechler R; Berg S; Ritter W; Muehlen W; Gisder S; Meixner M; Liebig G; Rosenkranz P (2010) The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. Apidologie 41, 332-352.

Rosenkranz P., Aumeier P., Ziegelmann B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*, J. Invertebr. Pathol. 103, 96-119.

Ziegelmann B., Steidle H., Lindemayer A., Rosenkranz P. (2008) Sex pheromones trigger the mating behaviour of *Varroa destructor*. Apidologie 29, 598.

Ziegelmann B, Lindemayer A, Steidle J, Rosenkranz P (2013a) The mating behavior of *Varroa destructor* is triggered by a female sex pheromone. Part 1: Preference behavior of male mites in a laboratory bioassay. Apidologie 44: 314-323.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Arbeiten wurden in enger Kooperation mit dem KMU-Partner „Insect Services“ (Berlin) sowie der AG Tierökologie der Universität Hohenheim (Prof. Dr. J. Steidle, Dr. Till Tolasch) durchgeführt, die über langjährige Erfahrungen auf dem Gebiet der chemischen Ökologie von Arthropoden verfügen. Darüber hinaus wurde in Zusammenarbeit mit Dr. W. Armbruster vom Institut für Lebensmittelchemie der Universität Hohenheim eine Methode zur Analyse von Fettsäuren in Wachs etabliert, sowie mit Herrn Dipl. Ing. T. Blum von der Fakultät für Angewandte Chemie der Hochschule Reutlingen quantitative Analysen von Extrakten junger Milben-Weibchen durchgeführt.

II. Ergebnisse des Vorhabens

In Hinblick auf die Entwicklung einer praktischen Anwendung des *Varroa*-Sexualpheromons als biologische Bekämpfung wurden folgende, aufeinander aufbauende Ziele erreicht:

(1) Bestätigung der Pheromonzusammensetzung und Dosis-Wirkungs-Beziehung

In einem Laborbiotest konnten wir bestätigen, dass die von uns identifizierten 6 aktiven Komponenten Palmitin-, Stearin- und Ölsäure sowie deren Ethylester Bestandteil des weiblichen *Varroa*-Sexualpheromons sind. Um die Dosis-Wirkungs-Beziehung zu untersuchen, wurden den *Varroa*-Männchen von jeder Komponente vier unterschiedliche Dosen sowie ein unattraktives Weibchenstadium angeboten. Bei allen Substanzen war die mittlere Dauer der Begattungs-versuche bei 1 ng und 10 ng am höchsten. Signifikante Unterschiede zwischen den Dosen zeigten sich nur für die Hauptkomponente Ölsäure. Es zeigte sich außerdem, dass die Einzelkomponenten das Begattungsverhalten gegenüber einem unattraktivem Weibchenstadium ebenso gut auslösten wie die Gesamtheit aller Substanzen. In Hinblick auf eine Anwendung ist das sehr positiv, da auf Substanzen mit beispielsweise weniger günstigen chemisch-physikalischen Eigenschaften verzichtet werden könnte. (Veröffentlicht in Ziegelmann et al. 2013b)

(2) Störung des Paarungsverhaltens im Laborbiotest

Es wurde dann ermittelt, inwieweit sich das Begattungsverhalten beeinflussen lässt, wenn das Männchen mit unterschiedlich alten Weibchen, wie es auch in der Brutzelle der Fall ist, konfrontiert wird. Hierzu wurden synthetische Pheromonlösungen in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt, die von den 6 aktiven Substanzen jeweils gleiche Mengen enthielten. Für die Versuche wurden natürliche Milben-Familien (bestehend aus Muttermilbe,

einem adulten Sohn, zwei adulten Tochttermilben, sowie zwei noch nicht geschlechtsreifen Weibchen) aus Brutzellen ca. 11 Tage nach der Zellverdeckelung verwendet. Zur Ermittlung der optimalen Dosis wurde das synthetische Pheromon in Dosen von 1-1000 ng pro Substanz auf ein Filterpapier aufgetragen und das Filterpapier in ein Weiselnäpfchen mit den Milben eingehängt. In den Kontrollversuchen wurde das Paarungsverhalten der Männchen ohne zusätzliches Pheromon beobachtet. Während im Kontrollversuch fast ausschließlich Begattungsversuche mit der jüngsten adulten Tochter (2. Tochter) stattfanden, zeigten die Männchen signifikant kürzere Kopulationsversuche mit diesen Weibchen, wenn 100 ng/ Substanz hinzugegeben wurde (Abb. 1). Desweiteren fanden vermehrt Begattungsversuche mit anderen Weibchenstadien statt. (**Veröffentlicht in Ziegelmann & Rosenkranz 2014**)

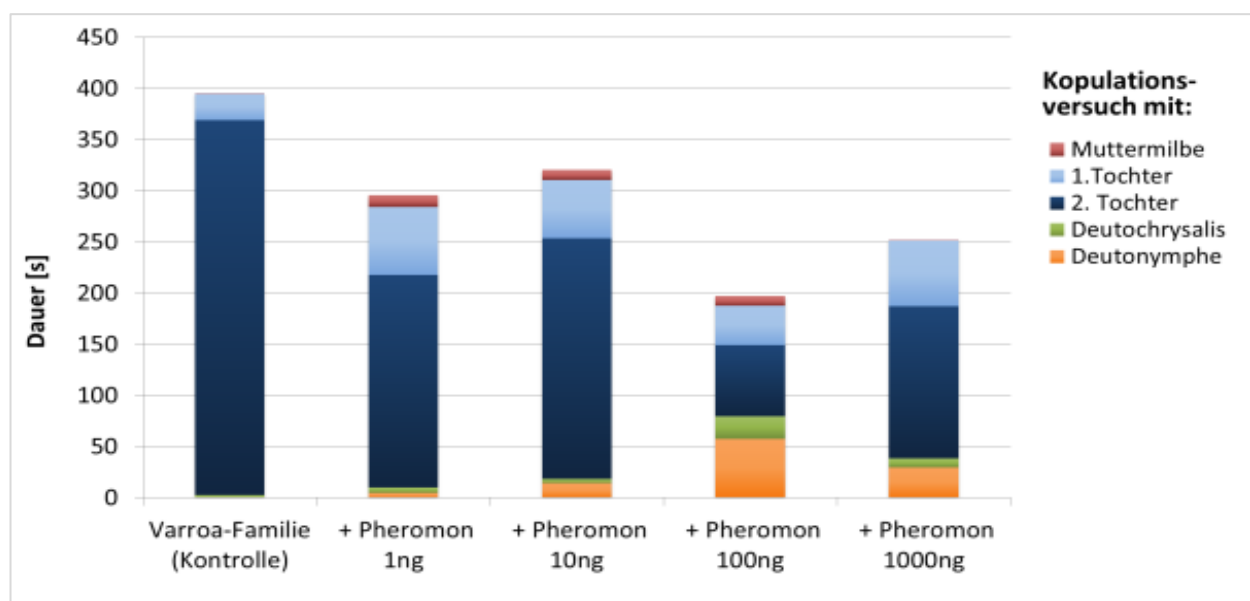


Abb. 1: Mittlere Dauer der Begattungsversuche mit den verschiedenen Weibchenstadien der Varroa-Familie ohne (Kontrolle) und mit synthetischem Pheromon.

(3) Überprüfung von „Nebenwirkungen“ einer Pheromonbehandlung auf Brut und Bienen

Um Nebenwirkungen auf Brut und Bienen zu untersuchen, wurden zwei Versuche durchgeführt:

(a) Die Mortalität und Entwicklung von Brut in behandelten Brutzellen wurde analysiert. Hierzu wurde mit einer Spritze eine hohe Dosis der Pheromonlösung (10 000 ng/Substanz) in Brutzellen unterschiedlichen Alters hineingegeben. Von 500 behandelten Zellen wurden nur ca. 3 % ausgeräumt. Die Brut entwickelte sich normal und auch die adulten Bienen zeigten keine Verhaltensänderungen gegenüber den behandelten Brutzellen.

(b) Die Lebensdauer von Bienen, die sich in behandelten Waben entwickelten, wurde dokumentiert. Für diesen Versuch wurden leere Brutwaben vor Eiablage der Bienenkönigin mit der Pheromon-Hauptkomponente Ölsäure so eingesprüht, dass jede Brutzelle mit ca. 100 000 ng benetzt wurde. Insgesamt wurden 99 Bienen, die sich darin entwickelt hatten, nach dem Schlupf abgesammelt und individuell markiert. Die markierten Jungbienen wurden dann

in ihr Ursprungs-volk gegeben. In regelmäßigen Abständen wurde erfasst, welche Bienen noch am Leben waren. Die so ermittelte Lebensdauer wurde mit der von Bienen aus nicht behandelten Waben verglichen. Es zeigte sich, dass beide Gruppen eine fast identische Lebenskurve aufweisen.

Beide Versuche lassen darauf schließen, dass negative Effekte auf Verhalten und Entwicklung von Brut und Bienen durch die Pheromonbehandlung unwahrscheinlich sind.

(4) Entwicklung eines Tests zur Störung der Paarung im Bienenvolk

Ob das „Verschwenden wertvoller Zeit mit den falschen Weibchen“ tatsächlich zu weniger erfolgreichen Paarungen führt, sollte dann im Bienenvolk untersucht werden. Um den Begattungserfolg einzelner Milben im Bienenvolk zu quantifizieren, wurde zunächst ein Versuchsdesign entwickelt, um Brutzellen individuell mit Milbenweibchen zu infizieren, um später deren Tochtermilben auf Spermien zu untersuchen. Dabei zeigte sich, dass exaktere Ergebnisse erzielt werden, wenn die Tochtermilben erst bei Schlupf der Biene und nicht schon an Tag 11 nach Verdeckelung entnommen werden. Da die Spermien vor der Präparation noch eine Reifezeit benötigen und die Mortalität bei Haltung im Brutschrank zu hoch war, wurde hierfür ein spezielles Haltungssystem für die Tochtermilben entwickelt. Die Weibchen wurden dabei bis zur Präparation in modifizierten Eppendorfgläsern im Bienenvolk aufbewahrt. Die Mortalität konnte so auf wenige Prozent gesenkt werden und es konnten mehr Tochtermilben zur Spermienzählung präpariert werden. Zusätzlich konnte das neue Haltungssystem für weitere projektbezogene Fragestellungen verwendet werden. Schließlich wurde eine Applikationsmethode entwickelt mit der zunächst nachgewiesen werden sollte, ob eine Paarungsstörung unter den Bedingungen im Bienenvolk überhaupt möglich ist. Während die Pheromonlösung zu Beginn auf bzw. in die infizierten Zellen appliziert wurde, erwies sich das im nächsten Schritt getestete Sprühverfahren als geeigneter. In den damit durchgeführten Vorversuchen konnte dann erstmals eine Reduktion der übertragenen Spermien nachgewiesen werden.

(5) Störung der Paarung im Bienenvolk mit modifiziertem Versuchsdesign: Evaluation verschiedener Applikationsformen, der Wirkdauer, des Effekts in Abhängigkeit von der Dosis sowie Vergleich von Einzelkomponenten gegenüber Gesamtheit der Pheromonkomponenten

Um zu ermitteln, in welchem Dosisbereich es unter Volksbedingungen zu einer Störung der Paarung kommt, wurden unterschiedlich konzentrierte Ölsäure-Lösungen hergestellt. Die Lösungen wurden dann auf leere Brutwaben aufgesprüht, so dass jede Brutzelle mit 2-200 µg Ölsäure benetzt wurde. Die Brutzellen wurden kurz nach Zellverdeckelung mit phoretischen Milbenweibchen infiziert. Bei Schlupf der Bienen wurden die Tochtermilben entnommen, für 2 Tage in Eppendorfgläsern gehalten und dann präpariert. In Tochtermilben unbehandelter Kontrollwaben wurden im Mittel 34 Spermien pro Weibchen gezählt (vgl. Literatur: 35 Spermien). Ab einer Dosis von 20 µg Ölsäure/Brutzelle war die Anzahl der Spermien im Vergleich zur Kontrolle signifikant reduziert. Der stärkste Effekt wurde mit einer Dosis von 200

μg Ölsäure/Brutzelle mit durchschnittlich 24 Spermien erreicht. Während in der Kontrolle lediglich 1 % der Weibchen gar keine Spermien aufwiesen, reichte der Anteil unbegatteter Weibchen aus den behandelten Waben von 9-18 %. Auch hier war der stärkste Effekt bei 200 μg Ölsäure/Brutzelle zu beobachten.

In weiterführenden Versuchen wurden dann verschiedene Applikationsvarianten ausprobiert. Da die zuvor durchgeführten Versuche zeigten, dass der Effekt bei hohen Dosen stärker ist, wurde die Ölsäure bei diesen Versuchen in Mengen von 100 μg eingesetzt. Die Ölsäure wurde dann entweder (I) beim Gießen der Mittelwände dem geschmolzenen Wachs zugegeben, (II) auf Mittelwände aufgesprüht, (III) auf ausgebaute Waben oder auf (IV) verdeckelte Brutwaben gesprüht. Am besten eignete sich dabei das Sprühen auf die Mittelwände. Der Effekt war hier im Vergleich zur Kontrolle am höchsten (Abb. 2). Die Zahl der übertragenen Spermien war signifikant reduziert und knapp 20 % der Weibchen waren unbegattet. Das Sprühen von Ölsäure auf verdeckelte Brutzellen hatte keine Wirkung – vermutlich weil das Pheromon nicht durch den Wachsdeckel dringen kann. Es wurde außerdem die gesamte Pheromonmischung getestet (Abb. 2), die auf leere Brutwaben aufgesprüht wurde. Auch hier war ein Effekt sichtbar. Um herauszufinden, wie lange der Effekt nach Sprühen auf die Mittelwand anhält, wurde die Wirkung über drei aufeinanderfolgende Brutzyklen beobachtet. Es zeigte sich, dass die Wirkung mit jedem Brutzyklus ein wenig nachlässt und wieder mehr Spermien übertragen werden (Abb. 3). Dies liegt vermutlich daran, dass die Nymphenhäutchen, die nach Schlupf der Bienen in den Zellen verbleiben, eine Barriere bilden. (**Ziegelmann & Rosenkranz in Vorbereitung**)

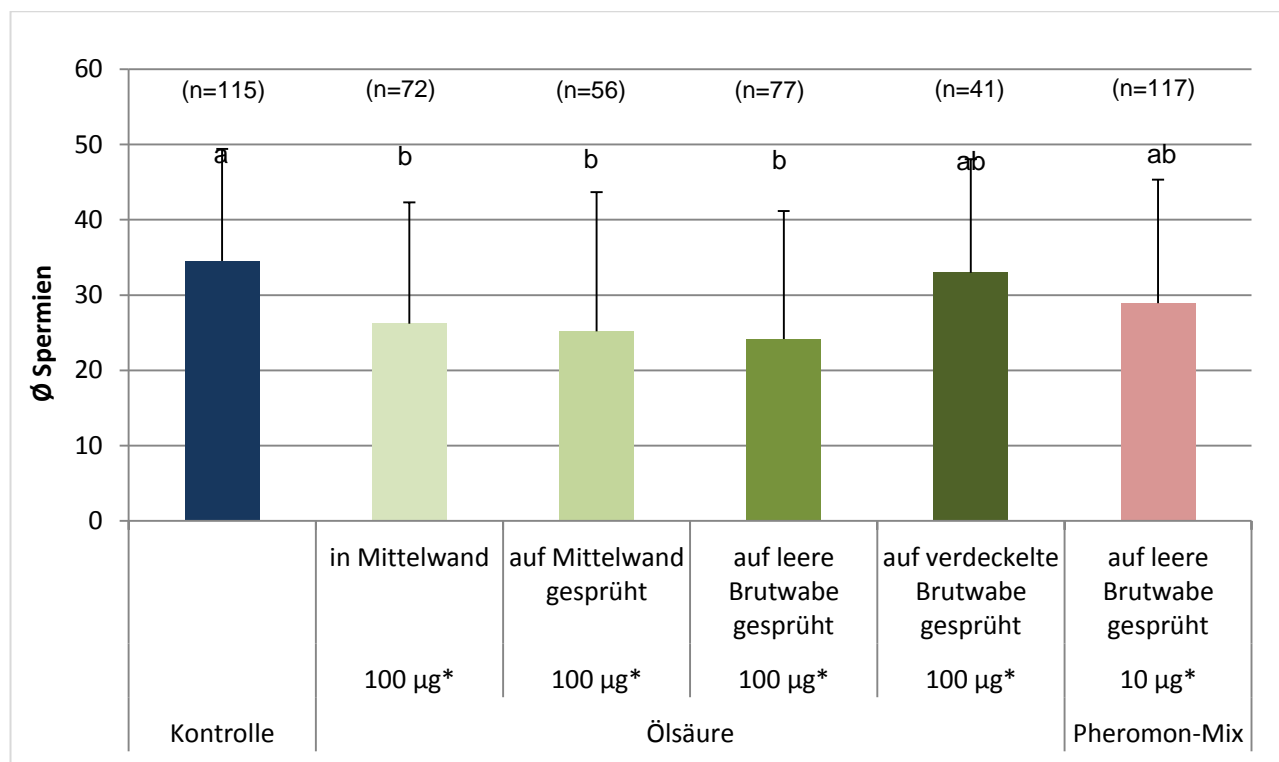


Abb. 2: Durchschnittliche Anzahl übertragener Spermien bei unterschiedlicher Applikationsweise von Ölsäure im Vergleich zur Kontrolle und der aufgesprühten Pheromonmischung. (Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant)

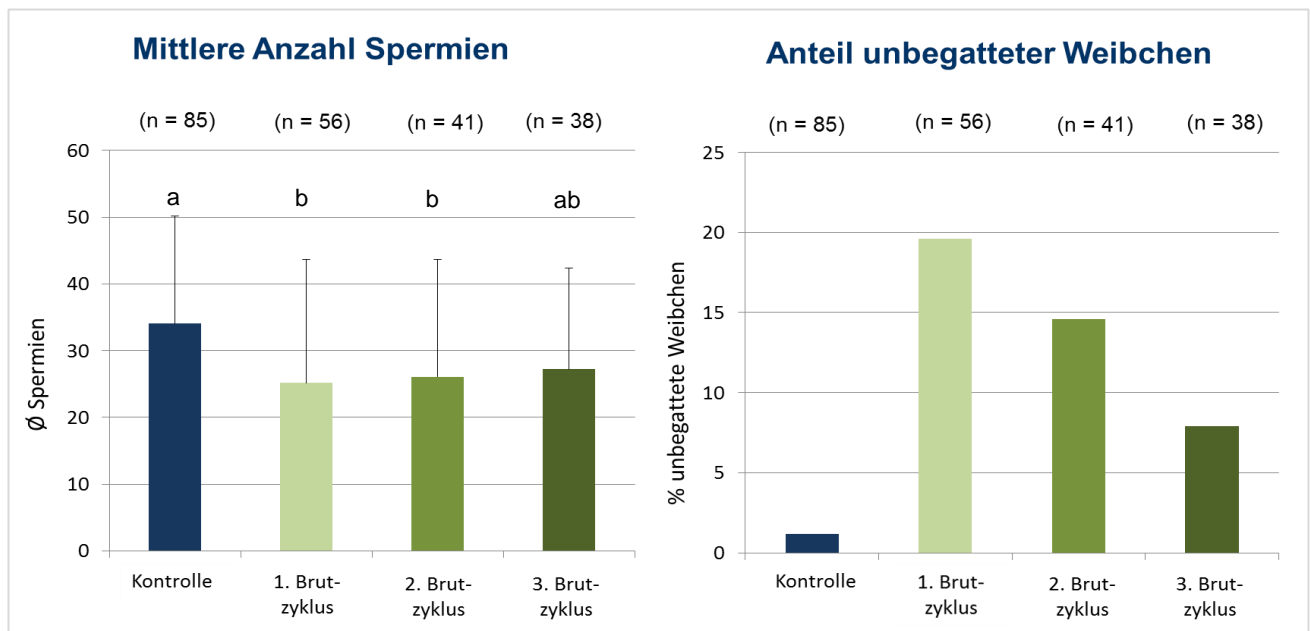


Abb. 3: Durchschnittliche Anzahl übertragener Spermien und Anteil unbegatteter Weibchen in drei aufeinanderfolgenden Brutzyklen nach einmaliger Ölsäureapplikation im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle (Gruppen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant.)

(6) Auswirkungen einer einmaligen Applikation auf das Varroa-Populationswachstum

Da es äußerst unwahrscheinlich ist, dass unbegattete Weibchen später noch begattet werden, würden diese Weibchen nicht weiter zum Wachstum der Varroa-Population beitragen können. Ob sich die Pheromonbehandlung tatsächlich auf die Entwicklung der Milbenpopulation auswirkt, wurde daher in einer Gruppe von 5 Pheromon-behandelten und 6 unbehandelten Völkern (Kontrolle) getestet. Die Völker hatten durch künstliche Infektion mit jeweils 80 Varroa-Milben zu Versuchsbeginn einen ähnlichen hohen Anfangsbefall. Die Behandlung erfolgte durch Besprühen sämtlicher Waben mit Ölsäure. In regelmäßigen Intervallen wurden die Volksstärke, der natürliche Milbenfall sowie der Bienenbefall dokumentiert. Zum Abschluss erfolgte im Herbst eine Behandlung mit Oxalsäure. Leider zeigte sich, dass beide Versuchsgruppen einen ähnlich hohen Endbefall mit Varroa-Milben hatten und sich der erhoffte Effekt durch das Pheromon in diesem Versuch nicht nachweisen ließ. Trotzdem konnten wir in zusätzlichen Biotests mit den behandelten Brutwaben nachweisen, dass bei der von uns verwendeten Applikation zumindest im ersten Brutdurchgang ein eindeutig negativer Effekt auf das Begattungsverhalten der Männchen vorhanden war. Allerdings nimmt die Pheromonwirkung nach ein bis zwei Brutzyklen ab. Als Ursache für das insgesamt unbefriedigende Gesamtergebnis zum Ende des Versuches vermuten wir zum einen die nachlassende Pheromonwirkung auf den Brutwaben sowie versuchsbedingte Störungen durch das Sperren der Königin auf die behandelten Waben. Nachdem wir nun wissen, dass die Wirkung mit der Zeit nachlässt und eine einmalige Applikation des Pheromons wohl nicht ausreicht, haben wir Ideen entwickelt, wie wir das Pheromon wiederholt applizieren bzw. länger wirksam machen können. Aus diesem Grund haben wir bereits konkret eine Wiederholung des Versuches mit verbessertem Versuchsdesign geplant (siehe auch Fortschreibung des Verwertungsplans).

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die Zuwendungen wurden, wie beantragt, vor allem für Personalkosten und Materialbeschaffung, Reise- und Analysekosten eingesetzt. Die Vorkalkulation hat die später entstandenen Kosten gut abdecken können.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit ergibt sich aus den hervorragenden Ergebnissen und dem Verwertungsplan.

4. Nutzen und Verwertbarkeit der geleisteten Arbeit

Ziel unseres Moduls war es, für den wichtigsten Parasiten der Honigbiene, *Varroa destructor*, ein biologisches Verfahren auf der Basis von Sexualpheromonen zu entwickeln, das erstmals zum „biologisch richtigen“ Zeitpunkt, nämlich der Vermehrungsphase des Parasiten, eingesetzt werden kann. Ein solches Verfahren steht derzeit nirgends zur Verfügung, obwohl die Varroose weltweit die wirtschaftlich bedeutsamste Bienenkrankheit darstellt. Ein Bekämpfungsverfahren, das ohne die Gefahr von Rückständen in Bienenprodukten eingesetzt werden kann, wäre weltweit von hoher wirtschaftlicher Bedeutung. In der EU gibt es aktuell ca. 12.000.000 Bienenvölker, davon weit über 700.000 in Deutschland (siehe: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QA/E>; Zugriff am 18. Februar 2016). Da jedes dieser Völker von der Varroa-Milbe befallen ist, gibt es allein in Europa einen enormen Bedarf an wirksamen, nachhaltigen und einfach anzuwendenden Varroa-Bekämpfungsmitteln und somit ein entsprechend hohes Marktvolumen. Die von uns dargestellten Ergebnisse zeigen deutlich, dass es auch unter praxisnahen Bedingungen möglich ist, den Paarungserfolg der Milben verringern. Obwohl unsere Versuche darauf hinweisen, dass eine einmalige Applikation des Pheromons vermutlich nicht ausreicht, schätzen wir die Erfolgsaussichten unserer Methode weiterhin als positiv ein, da realistische Chancen bestehen diese technische Hürde zu überwinden und werden dazu in der nächsten Saison einen weiteren Anlauf starten. Unsere bisherigen Ergebnisse zur Wirkung von *Varroa*-Sexualpheromonen im Bienenvolk werden außerdem andere Arbeitsgruppen dazu animieren, diese Aspekte weiter zu untersuchen und modifizierte Arten der Anwendung dieser Substanzen zu erforschen.

Zusätzlich wurden folgende Nebenergebnisse erzielt, die zum Teil neue Ansatzmöglichkeiten für eine Bekämpfung der Varroa-Milbe bieten:

(1) Identifizierung der männlichen Sinnesorgane zur Pheromonwahrnehmung

In einem aufwendigen Laborversuch konnten die männlichen Sinnesorgane zur Pheromonwahrnehmung identifiziert und veröffentlicht werden (**Häußermann et al. 2015**).

(2) Verlauf der Spermienreifung im Weibchen und Bedeutung der phoretischen Phase

Die vom Männchen übertragenen Spermien müssen im Genitaltrakt der Weibchen noch reifen. Die morphologischen Veränderungen und der zeitlichen Verlauf dieses Vorgangs sowie dessen Bedeutung für den Reproduktionserfolg der Milben wurde zur Veröffentlichung eingereicht (**Häußermann et al. 2016, eingereicht**). Möglicherweise ergeben sich hier weitere Ansatzpunkte für eine Bekämpfung durch eine Störung der Spermienreifung.

(3) Biologische Aktivität von Carbonsäuren, die nicht Bestandteil des Pheromons sind

Wir testeten zusätzlich die Aktivität weiterer Carbonsäuren wie Capron- und Myristinsäure, die ebenfalls das Begattungsverhalten auslösen konnten. Die männlichen Rezeptoren sind also sensitiv für die Säure- bzw. Ester-Gruppe und nicht spezifisch für einzelne Substanzen. Dies eröffnet die Möglichkeit weitere Substanzen zur Paarungsstörung einsetzen zu können.

(4) Effekt von unterschwellig dosierter Ameisensäure auf die Paarung der Milben

Ameisensäure (AS) tötet als zugelassenes Bekämpfungsmittel sowohl Milben auf den Bienen als auch in der Brutzelle ab. Da AS ebenfalls eine Carbonsäure ist, könnte neben dem toxischen Effekt auch eine Pheromonwirkung vorhanden sein. Wir konnten zeigen, dass bereits bei einer Dosis von 100 µg AS (also unterhalb einer toxischen Wirkung) die Begattungsdauer signifikant reduziert war (**Masterarbeit J. Fidyka 2015**).

Dies wurde in einem ersten Praxisversuch an Bienenvölkern bereits bestätigt, bei dem die AS-Anwendung auch bei subletaler Konzentration (und damit Vermeidung jeglicher Nebenwirkung auf die Bienenbrut) die Kopulation weitgehend verhindert (**Masterarbeit S. Nicodemus 2016**). Damit eröffnen sich weitere spannende Möglichkeiten für eine modifizierte Anwendung von AS mit einer ähnlichen Zielrichtung wie bei unserem Sexualpheromon.

(5) Rückstandsanalysen

In Kooperation mit Dr. Wolfgang Armbruster des Instituts für Lebensmittelchemie der Universität Hohenheim wurde eine Methode zum Nachweis der relevanten Fettsäuren im Wachs entwickelt. Bei der Aufarbeitung erfolgt eine Veresterung der Fettsäuren zu Fettsäuremethylestern, die dann mittels Gaschromatographie analysiert werden. Die entwickelte Methode bietet die Möglichkeit zur Quantifizierung der Fettsäuregehalte mit einer Wiederfindungsrate von >99 %. Es zeigte sich, dass bereits unbehandelte Kontrollwaben messbare Mengen an Palmitin- und Ölsäure als natürliche Bestandteile besitzen. Diese Mengen lösen aber kein Begattungsverhalten aus, wie wir in Kontrollversuchen bestätigen konnten. Vermutlich sind diese natürlich enthaltenen Substanzen so im Bienenwachs gebunden, dass sie nicht biologisch aktiv sind. Die gemessenen Mengen bei unseren behandelten Waben waren dagegen wie erwartet deutlich erhöht. Damit besteht für weitere Versuche nun auch die Möglichkeit, den Gehalt an appliziertem Pheromon zu überprüfen.

5. Erkenntnisse von Dritten

Während der Durchführung des Vorhabens sind keine Ergebnisse zu Varroa-Sexualpheromonen und deren Einsatz als Biologische Varroa-Bekämpfung bekannt geworden.

6. Veröffentlichungen

Ziegelmann B, Tolasch T, Steidle J, Rosenkranz P (2013) The mating behavior of *Varroa destructor* is triggered by a female sex pheromone - Part 2: Identification and dose-dependent effects of components of the *Varroa* sex pheromone, *Apidologie* 44(4), 481-490

Ziegelmann B, Rosenkranz P (2014) Mating disruption of the honeybee mite *Varroa destructor* under laboratory and field conditions. *Chemoecology*, DOI:10.1007/s00049-014-0155-4

Häußermann CK, Ziegelmann B, Bergmann P, Rosenkranz P (2015) Male mites (*Varroa destructor*) perceive the female sex pheromone with the sensory pit organ on the front leg tarsi. *Apidologie* 46:771-778 DOI: 10.1007/s13592-015-0367-9

Ziegelmann B (2015) Verführt und manipuliert – Ein neuer Ansatz in der biologischen *Varroa*-Bekämpfung. *ADIZ* 4, 26-27

Geplante/ingereichte Veröffentlichungen:

Ziegelmann B, Rosenkranz P: Mating disruption of the honeybee mite *Varroa destructor*: Evaluation of different application techniques and the duration of action (in Vorbereitung)

Häußermann CK, Ziegelmann B, Rosenkranz P – Spermatozoa capacitation in female *Varroa destructor* and its influence on the timing and success of female reproduction (ingereicht bei *Experimental and Applied Acarology*)

Zeitschriften- und Fernsehbeiträge:

Stern (2013) Summ, summ. Bald stumm? Ausgabe 35, 93-94

Spektrum der Wissenschaft (2014) Dem Bienenparasiten den Sex vermessen, Ausgabe 50

Journal Culinaire (2015) Bienensterben und Varroamilbe–Eine globale Krise der Imkerei. Ausgabe 21, 82-94

Nano Spezial (2015) Bienen im Dauerstress: Der Bienen-Parasit

Beiträge auf Fachtagungen

5. Eurbee Konferenz in Halle, 4.-6. September 2012, Häußermann C, Ziegelmann B, Bergmann P, Rosenkranz P: With which sensory organ do male mites of *Varroa destructor* percept the female sex pheromone?

5. Eurbee Konferenz in Halle, 4.-6. September 2012, Ziegelmann B, Rosenkranz P: The female sex pheromone of *Varroa destructor* – prospects for a biological control?

59. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Bonn, 27.-29. März 2012, Häußermann C, Ziegelmann B, Rosenkranz P: „Cherchez la femme” – mit welchem Sinnesorgan erkennen die *Varroa*-Männchen (*Varroa destructor*) attraktive Weibchen?
59. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Bonn, 27.-29. März 2012, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Mating disruption by the female sex pheromone – an option for a biological *Varroa* control?
60. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Würzburg 19.-21. März 2013 Ziegelmann B, Rosenkranz P: Mating disruption of *Varroa destructor* in a laboratory bioassay
61. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Marburg, 25.-27. März 2014, Häußermann C, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Paarungsverhalten der *Varroa*-Männchen (*Varroa destructor*) in Abhängigkeit vom Alter der Männchen, dem Begattungsstatus der Weibchen sowie der Zusammensetzung des weiblichen Sexualpheromons
61. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Marburg, 25.-27. März 2014, Häußermann C, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Beobachtung der Spermatophoren-Übertragung bei *Varroa destructor* und erfolgreiche Spermienübertragung unter Laborbedingungen
61. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Marburg, 25.-27. März 2014, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Mating disruption of *Varroa destructor* under colony conditions
6. Eurbee Konferenz in Murcia, 9.-11. September 2014, Rosenkranz P: Parasite-host-interactions during the reproductive cycle of the honey bee mite *Varroa destructor* (Hauptvortrag)
6. Eurbee Konferenz in Murcia, 9.-11. September 2014, Häußermann C, Ziegelmann B, Rosenkranz P: The effect of mating and spermiogenesis on the reproduction of female *Varroa destructor*
6. Eurbee Konferenz in Murcia, 9.-11. September 2014, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Mating disruption of *Varroa destructor* under colony conditions: a first approach for a biological mite control
62. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Münster, 24.-26. März 2015, Fidyka J, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Effects of subliminal dosages of formic acid on reproduction, mating behavior and mortality of the honey bee mite *Varroa destructor*
62. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung in Münster, 24.-26. März 2015, Ziegelmann B, Rosenkranz P: Mating disruption of *Varroa destructor*: a potential tool for a biological spring treatment?

Sonstige Tagungen:

Innovationstage der BLE in Bonn, 15.-16. Oktober 2014, Rosenkranz P: Referenzsystem für ein vitales Bienenvolk (FIT BEE)

41. Weissacher Imkertag, 23. April 2014, Rosenkranz P: Es bleibt das Thema Nummer eins: Aktuelles zur Varroabekämpfung

Württembergischer Imkertag 12.-13. April 2014, Rosenkranz P: „Neues aus Hohenheim“

42. Weissacher Imkertag, 23. April 2015, Rosenkranz P: Erfahrungen aus der Varroa-Bekämpfung 2014 – Brauchen wir neue Strategien?