

# PROJEKT BEEFIRST

## Arbeitspaket 3

**Zeitraum:** 2018-2020

**Stand:** 29/10/2020

**Version / Revision:** v1.0-r002

**Datum:** 29/10/2021

# Zusammenfassung der Ergebnisse des Arbeitspaketes 3: Bio- und Pestizidrückstände im Pollen, Varroa und Winterverluste

<b>Projekt BeeFirst Arbeitspaket 3</b> .....	<b>1</b>
<b>Hintergrund</b> .....	<b>1</b>
<b>Methodisches</b> .....	<b>1</b>
<b>Häufigkeit der Funde</b> .....	<b>2</b>
<b>Veränderungen seit 2012/13</b> .....	<b>2</b>
<b>Konzentrationen</b> .....	<b>2</b>
<b>Anteil belasteter Proben</b> .....	<b>4</b>
<b>Entwicklung des 2012/13 identifizierten Problemfalles Thiacloprid</b> .....	<b>6</b>
<b>Zusätzlich seit 2012/13 untersuchte Pestizide</b> .....	<b>6</b>
<b>Die neuen Top 3 und ihre mutmasslichen Quellen</b> .....	<b>7</b>
<b>Zeitreihenanalysen</b> .....	<b>7</b>
<b>Pflanzen, von denen der Pollen von stark belasteten Proben stammte</b> .....	<b>7</b>
<b>Räumliche Analysen</b> .....	<b>7</b>
<b>Völkerverluste im Winter</b> .....	<b>9</b>
<b>Verluste auf den Testbienenständen</b> .....	<b>9</b>
<b>Verluste in landesweiter Umfrage</b> .....	<b>10</b>
<b>Völkerverluste und Rückstände</b> .....	<b>10</b>
<b>Völkerverluste und Varroa</b> .....	<b>12</b>
<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>12</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>13</b>
<b>Verfügbarkeit der Daten</b> .....	<b>13</b>
<b>Referenz</b> .....	<b>13</b>

## HINTERGRUND

Im Projekt BeeFirst werden Faktoren untersucht, die die Winterverluste von Honigbienenvölkern in Luxemburg beeinflussen können. Im Arbeitspaket 1 wurden landesweite Erhebungen zu Winterverlusten und imkerlichen Praktiken mit Hilfe eines Fragebogens durchgeführt. Im Arbeitspaket 2 wurden Datenblätter für den sicheren Umgang mit Chemikalien, die in der Imkerei zur Bekämpfung von Parasiten und zur Desinfektion eingesetzt werden, erstellt. Im Arbeitspaket 3 wurde der Einfluss von Pestizidrückständen im Pollen sowie der parasitischen Varroa Milbe auf das Überleben von Testbienenvölkern im Winter untersucht. Eine ähnliche Untersuchung wurde bereits in den Jahren 2012/13 durchgeführt. Hier werden die Ergebnisse des Arbeitspaketes 3 vorgestellt und mit den Ergebnissen von 2012/13 verglichen.

## METHODISCHES

Der Pollen wurde von Honigbienen gesammelt, von lokalen Imkern bei -20°C zwischengelagert und jeweils im September der Jahre 2018, 2019 und 2020 an das LIST übergeben. Im Zeitraum April bis August wurde an jeweils 4 Völkern pro Standort jeweils eine Probe in der ersten Monatshälfte und eine Probe in der zweiten Monatshälfte genommen. In den Jahren 2018 und 2019 standen Proben von 7 Standorten zur Verfügung, aus dem COVID-19 Jahr 2020 von 6 Standorten. Am LIST wurden die

Pollenproben auf Rückstände und ausgewählte Abbauprodukte von Bio- und Pestiziden untersucht. Die Methode der chemischen Analytik ist in Beyer et al. (2018) beschrieben. Für die Analysen wurden mindestens 2 Gramm Pollen benötigt. Proben mit geringerer Masse konnten bei den Analysen nicht berücksichtigt werden.

Ausgewählte Proben aus den Jahren 2018 und 2019 wurden zum Institut für Biologischen Pollenanalyse in die Schweiz geschickt. Dort wurden die Pflanzen anhand von Pollenform, Pollenfarbe und Pollengrösse bestimmt, von denen die Pollen stammten. Die Proben wurden so ausgewählt, dass jeweils Pärchen gebildet wurden. Eine Probe war stark belastet und die Herkunft der zweiten Probe des Pärchens war möglichst ähnlich (also z.B. vom selben Standort zur selben Zeit an einem Nachbarvolk genommen oder vom selben Volk kurz vorher oder kurz nachher genommen), aber gering oder gar nicht belastet.

Die Projektimker haben am Varroa-Monitoring des Bienenberaters der *Fédération des Unions d'Apiculteurs* teilgenommen. Aus dieser Aktivität stammen Zahlen zur Belastung der Bienenvölker mit der Varroa Milbe, die in die vorliegenden Analysen einbezogen wurden.

## HÄUFIGKEIT DER FUNDE

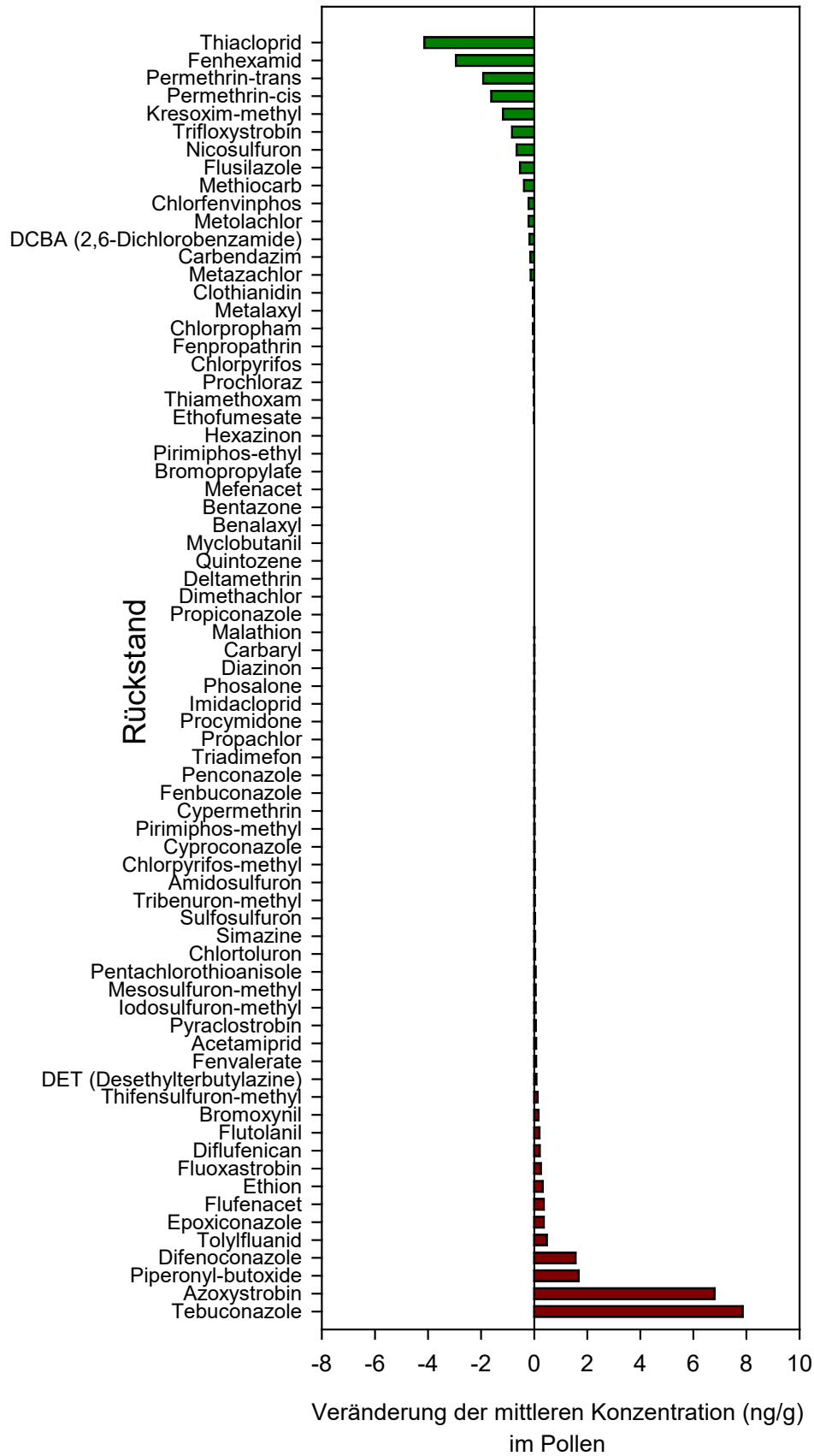
Jede Pollenprobe wurde auf die Anwesenheit von Rückständen von insgesamt 115 Pestiziden untersucht. Im Jahr 2020 wurde ein weiteres Pestizid zur Methode hinzugefügt. Aus der Anzahl der Proben multipliziert mit der Anzahl der untersuchten Pestizide ergibt sich die Anzahl der durchgeführten Messungen. Im Jahr 2018 wurden 21045 Messungen durchgeführt, bei denen 285 (=1.35%) Rückstände gefunden wurden. Im Jahr 2019 wurden 25185 Messungen durchgeführt, bei denen 448 (=1.78%) Rückstände gefunden wurden. Im Jahr 2020 wurden 22040 Messungen durchgeführt, bei denen 376 (=1.71%) Rückstände gefunden wurden.

## VERÄNDERUNGEN SEIT 2012/13

### Konzentrationen

Der stärkste Rückgang der mittleren Belastungskonzentration wurde für Thiacloprid, gefolgt von Fenhexamid, Permethrin-trans, Permethrin-cis, Kresoxim-methyl, Trifloxystrobin, Nicosulfuron, Flusilazol, Methiocarb und Chlorfenvinphos beobachtet (Abb. 1). Weitere Rückgänge waren kleiner als 0,3 ng/g und können unter <https://agriculture.public.lu/de/beihilfen/innovation-forschung/forschungsprojekte-tierproduktion/beefirst-2018-2020.html> nachgesehen werden. Die höchsten Anstiege in der mittleren Belastungskonzentration des Pollens wurden für Tebuconazol, Azoxystrobin, Piperonyl-butoxid, Difenoconazol, Tolyfluanid, Epoxiconazol, Flufenacet, Ethion, Fluoxastrobin und Diflufenican festgestellt. Weitere Anstiege waren kleiner als 0,2 ng/g (Abb. 1).

Veränderung: 2012/13 - 2018-20

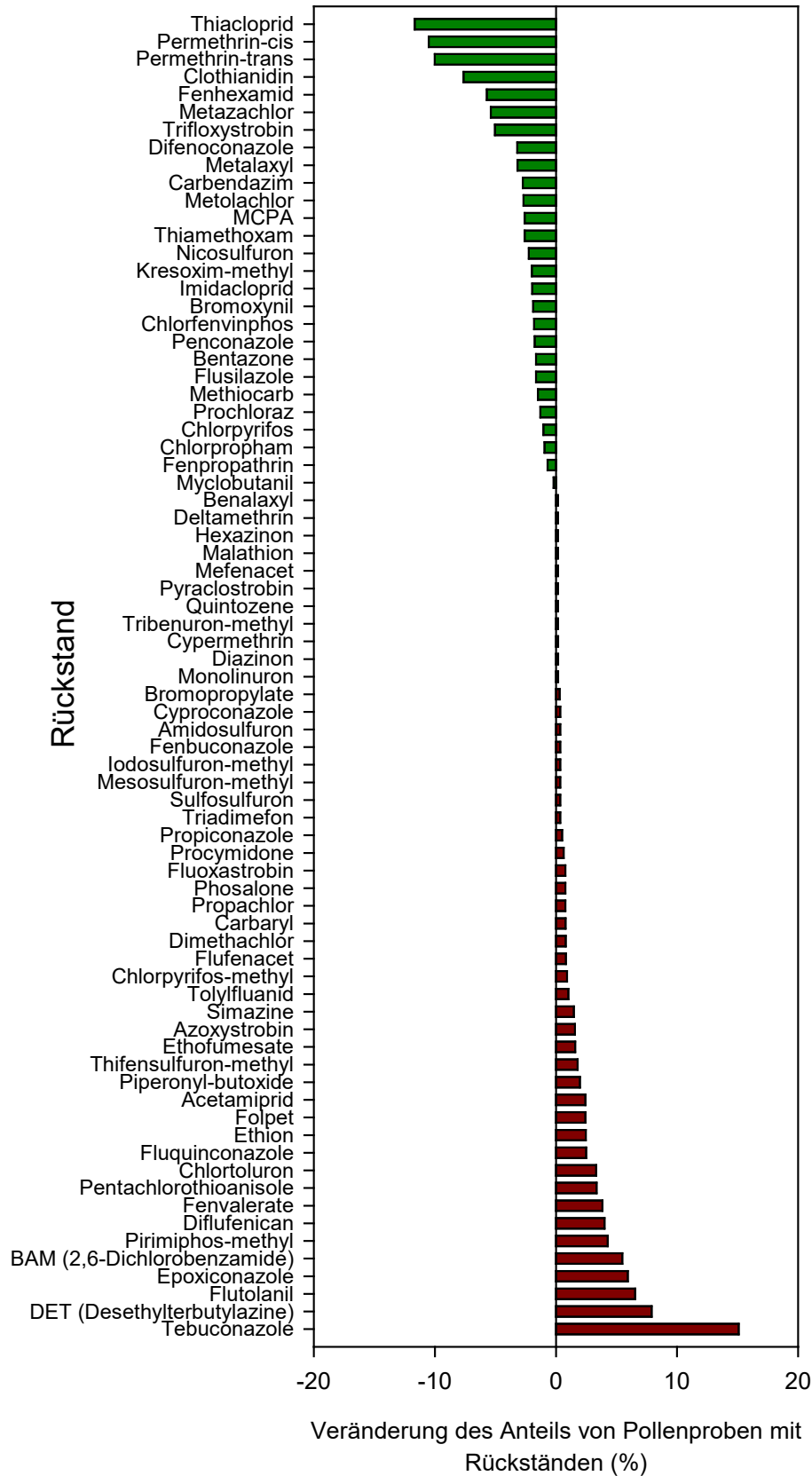


**Abbildung 1:** Veränderung der mittleren Konzentration von Bio- und Pestizidrückständen in Pollenproben, die von Honigbienen gesammelt wurden von 2012-13 bis 2018-20.

## Anteil belasteter Proben

Der stärkste Rückgang im Prozentsatz belasteter Pollenproben wurde für Thiacloprid gefolgt von Permethrin-cis, Permethrin-trans, Clothianidin, Fenhexamid, Metazachlor, Trifloxystrobin, Difenoconazole, Metalaxyl, Carbendazim und Metolachlor beobachtet (Abb. 2). Weitere Rückgänge waren kleiner als 3% und können in den Rohdaten unter <https://agriculture.public.lu/de/beihilfen/innovation-forschung/forschungsprojekte-tierproduktion/beefirst-2018-2020.html> nachgesehen werden. Die höchsten Anstiege im Prozentsatz belasteter Pollenproben wurden für Tebuconazole, DET (Desethylterbutylazine), Flutolanil, Epoxiconazole, BAM (2,6-Dichlorobenzamide), Pirimiphos-methyl, Diflufenican, Fenvalerate, Pentachlorothioanisole und Chlortoluron festgestellt. Weitere Anstiege waren kleiner als 3% (Abb. 2).

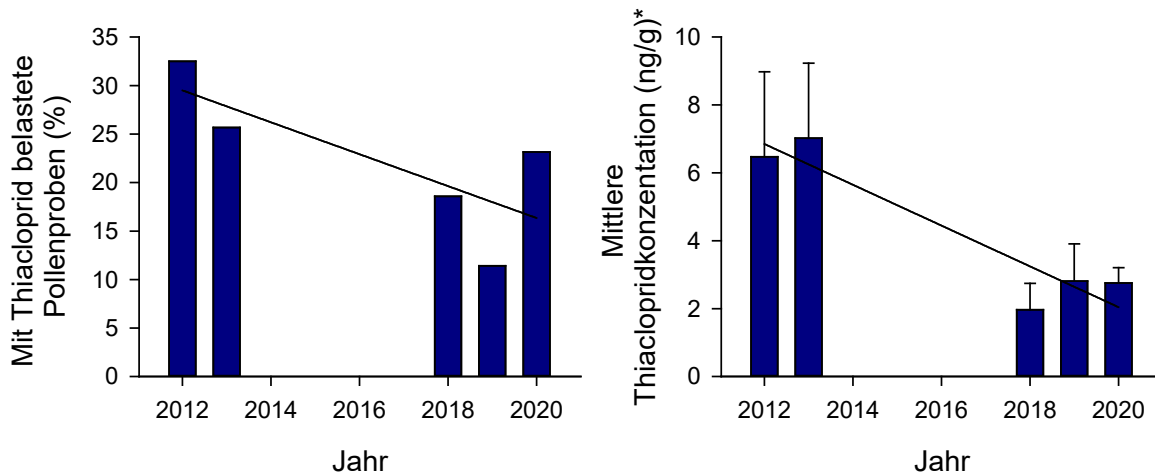
Veränderung: 2012/13 - 2018-20



**Abbildung 2:** Veränderung des Anteils von Pollenproben, die von Honigbienen gesammelt und Pestizidrückständen belastet waren von 2012-13 bis 2018-20.

## Entwicklung des 2012/13 identifizierten Problemfalles Thiacloprid

In der Projektphase 2012/13 konnte mit einer sehr kritischen Methode ein Anhaltspunkt für eine Verkürzung der Lebensdauer der Testbienenvölker durch Thiacloprid nachgewiesen werden. In der Folge wurden die Anwendung von Produkten mit Thiacloprid strenger geregelt.



**Abbildung 3:** Entwicklung des Anteils von Pollenproben, die mit Thiacloprid belastet waren zwischen 2012 und 2020 (links). Entwicklung der mittleren Konzentration von Thiacloprid in Pollenproben, die von Honigbienen gesammelt wurden zwischen 2012 und 2020 (rechts). \*Für Proben, deren Belastung kleiner als die Nachweisgrenze war, wurde für die Berechnung von Mittelwerten und Standardfehlern eine Belastung von 0,6 ng/g angenommen, was der Nachweisgrenze unter ungünstigen Bedingungen entspricht.

Der Anteil von Pollenproben, die mit Thiacloprid belastet waren, ging zwischen 2012/13 und 2018-20 von etwa 27% auf etwa 17% zurück, wobei sich dieser Rückgang angesichts der hohen Schwankungen zwischen den Jahren zu klein war, um sich statistisch absichern zu lassen. Die mittlere Thiaclopridkonzentration im Pollen nahm zwischen 2012/13 und 2018-20 von etwa 6 ng/g auf etwa 3 ng/g ab (Abb. 2). Der Rückgang in der Belastungskonzentration liess sich mit  $P=0.02$  statistisch absichern.

## Zusätzlich seit 2012/13 untersuchte Pestizide

Im Zeitraum 2018-2020 wurden einige Pestizide gemessen, die im Zeitraum 2012/13 noch nicht berücksichtigt wurden. Diese waren Bifenthrin (nicht gefunden), Boscalid (mittlere Konzentration von 11,53 ng/g), Cyhalothrin-lambda (mittlere Konzentration von 0,09 ng/g), Fluopicolide (mittlere Konzentration von 0,17 ng/g), Folpet (mittlere Konzentration von 1,18 ng/g) und Sulfoxaflor (nicht gefunden). Von den neu untersuchten Stoffen verdient Boscalid als der höchste Neufund weitere Aufmerksamkeit.

## DIE NEUEN TOP 3 UND IHRE MUTMASSLICHEN QUELLEN

Im Folgenden wird nach Anhaltspunkten für mögliche Quellen der im Zeitraum 2018-20 verstärkt gefundenen Rückstände gesucht. Dazu werden die höchsten gefundenen Rückstände von Azoxystrobin, Boscalid und Tebuconazol näher untersucht.

Azoxystrobin ist ein Wirkstoff, der in Produkten zur Bekämpfung von Schadpilzen vorkommt. Azoxystrobin gehört zur Gruppe der Strobilurine, einer Klasse von Naturstoffen und ihren synthetischen Verwandten. Das erste vom Menschen genutzte Strobilurin wurde aus einem Pilz der Gattung *Strobilurus* (Zapfenrübling) isoliert. Die Giftigkeit von Azoxystrobin für Pflanzen und Säugetiere wird als gering beschrieben. Einige Wasserlebewesen reagieren empfindlich auf Azoxystrobin.

Boscalid ist ein Wirkstoff, der in Produkten zur Bekämpfung von Schadpilzen vorkommt. Es ist der erste und damit älteste vom Menschen genutzte Wirkstoff aus der Gruppe der Succinat-Hydrogenase-Hemmstoffe.

Tebuconazol ist ein Wirkstoff, der in Produkten zur Bekämpfung von Schadpilzen vorkommt. Diese Produkte umfassen neben Pflanzenschutzmitteln auch Holzschutzmittel. Tebuconazol gehört zur Gruppe der Demethylase-Hemmstoffe, der wichtigsten Gruppe mit Wirkung gegen giftige Pilze wie *Fusarium*-Arten.

### Zeitreihenanalysen

Die höchsten Azoxystrobinkonzentrationen wurden in den Jahren 2018 und 2020 im Juli gefunden (Abb. 4). Die höchsten Boscalidkonzentrationen wurden im April und Mai gefunden, wobei die meisten Funde aus dem Jahr 2019 stammten. Es gab einen Ausreisser mit relativ hoher Boscalidkonzentration Ende August. Die höchsten Tebuconazolkonzentrationen tauchten Ende April, Ende Mai und Anfang Juni auf, wobei die meisten Funde aus dem Jahr 2018 stammten.

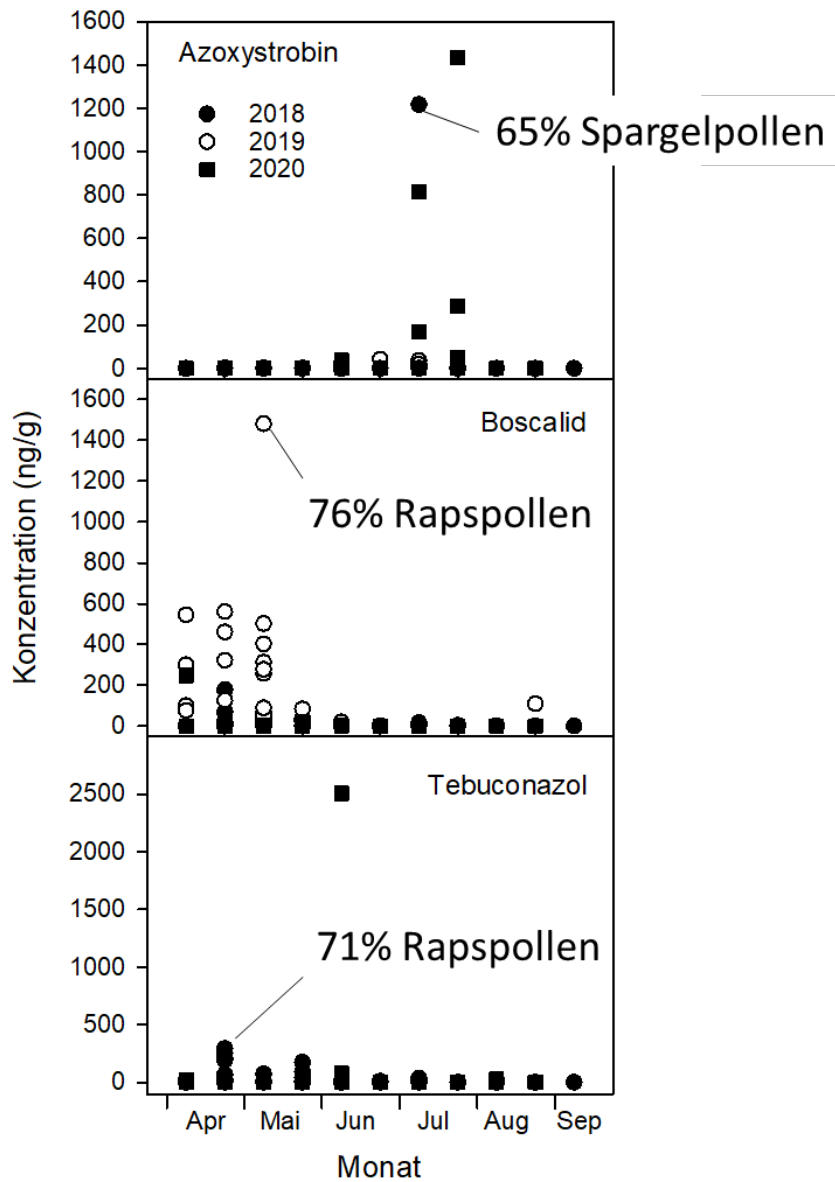
### Pflanzen, von denen der Pollen von stark belasteten Proben stammte

Eine Probe mit hoher Azoxystrobinkonzentration enthielt 65% Spargelpollen (Abb. 4). Eine Probe mit hohem Boscalidrückstand enthielt 76% Rapspollen (Abb. 4). Eine andere Probe mit hohem Tebuconazolrückstand enthielt 71% Rapspollen (Abb.4). Analysen ausgewählter Pollenproben aus dem Jahr 2020 sind in der aktuellen Projektphase 2021-23 vorgesehen.

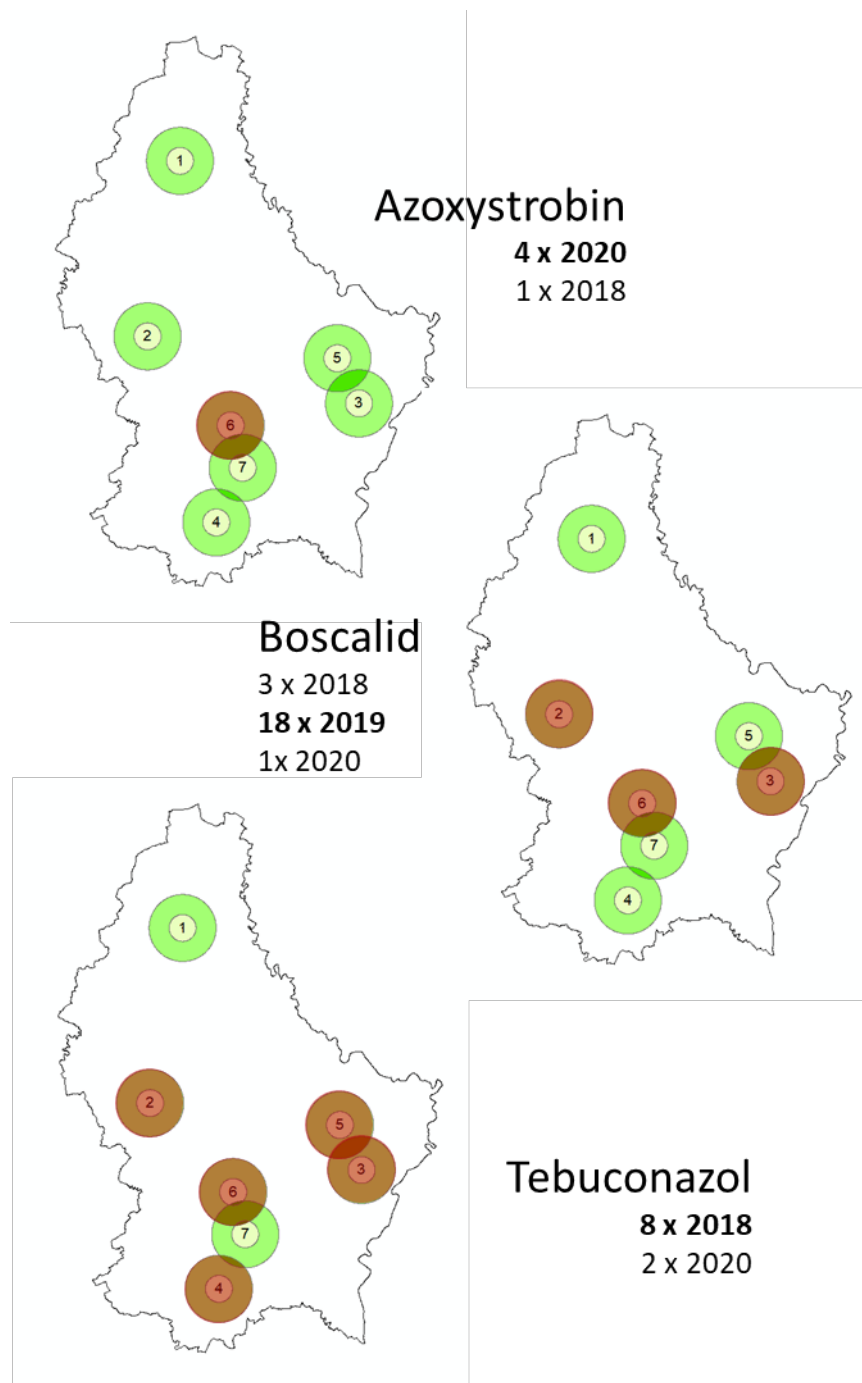
### Räumliche Analysen

Die hohen Azoxystrobinkonzentrationen wurden alle am Standort Luxemburg (2) am nordwestlichen Rand der Hauptstadt gefunden (Abb. 5). Die hohen Boscalidkonzentrationen wurden an den Standorten in den Kantonen Redange, Luxemburg und Grevenmacher gefunden (Abb. 5). Hohe Tebuconazolwerte wurden an allen Standorten ausser im Kanton Clerf und in der Hauptstadt gefunden (Abb. 5).





**Abbildung 4:** Zeitlicher Verlauf der Konzentrationen von Azoxystrobin, Boscalid und Tebuconazol in Pollenproben, die im Zeitraum 2018 bis 2020 in Luxemburg von Honigbienen gesammelt wurden.



**Abbildung 5:** Räumliche Verteilung der hohen Belastungen (>50 ng/g) von Pollenproben mit Azoxystrobin, Boscalid und Tebuconazol. Zahlen stellen die im Projekt verwandte Identifikationsnummer der Bienenstände dar.

## VÖLKERVERLUSTE IM WINTER

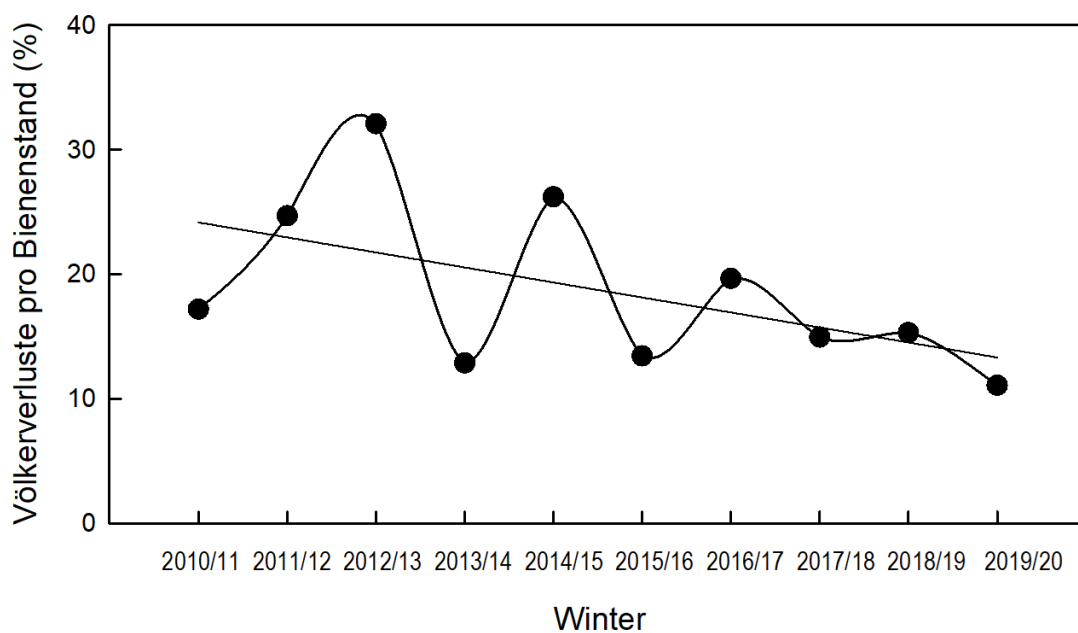
### Verluste auf den Testbienenständen

Von den 28 Testvölkern sind im Winter 2018/19 vier verstorben, im Winter 2019/20 eines und im Winter 2020/21 drei. Am Standort 6 ist im ersten Projektwinter ein Volk verstorben; es war jedoch im Frühjahr

nicht mehr zweifelsfrei nachvollziehbar, welches Volk. Dieser Sonderfall wird in der weiteren Auswertung berücksichtigt, indem vier Rechnungen durchgeführt werden. Die erste Berechnung nimmt an, dass das erste Volk betroffen war, die zweite Rechnung nimmt an, dass das zweite Volk betroffen war und die dritte Rechnung nimmt an, dass das dritte Volk betroffen war und die vierte Rechnung nimmt an, dass das vierte Volk betroffen war. Die jährliche Verlustquote im Versuch lag zwischen 4 und 14%. Im Durchschnitt der Jahre lagen die Verluste im Versuch bei 9,5%. Völker, die verstorben sind, wurden durch neue Völker ersetzt.

## Verluste in landesweiter Umfrage

Die Verluste pro Bienenstand lagen im Zeitraum 2012/13 bei grossen jährlichen Schwankungen bei etwa 28% und sind seitdem unter Abnahme der jährlichen Schwankungen auf etwa 14% im Zeitraum 2018-20 gefallen (Abb. 6).



**Abbildung 6:** Durchschnittliche Völkerverluste (%) pro Bienenstand in Luxemburg laut BeeFirst Umfrage zwischen dem Winter 2010/11 und dem Winter 2019/20.

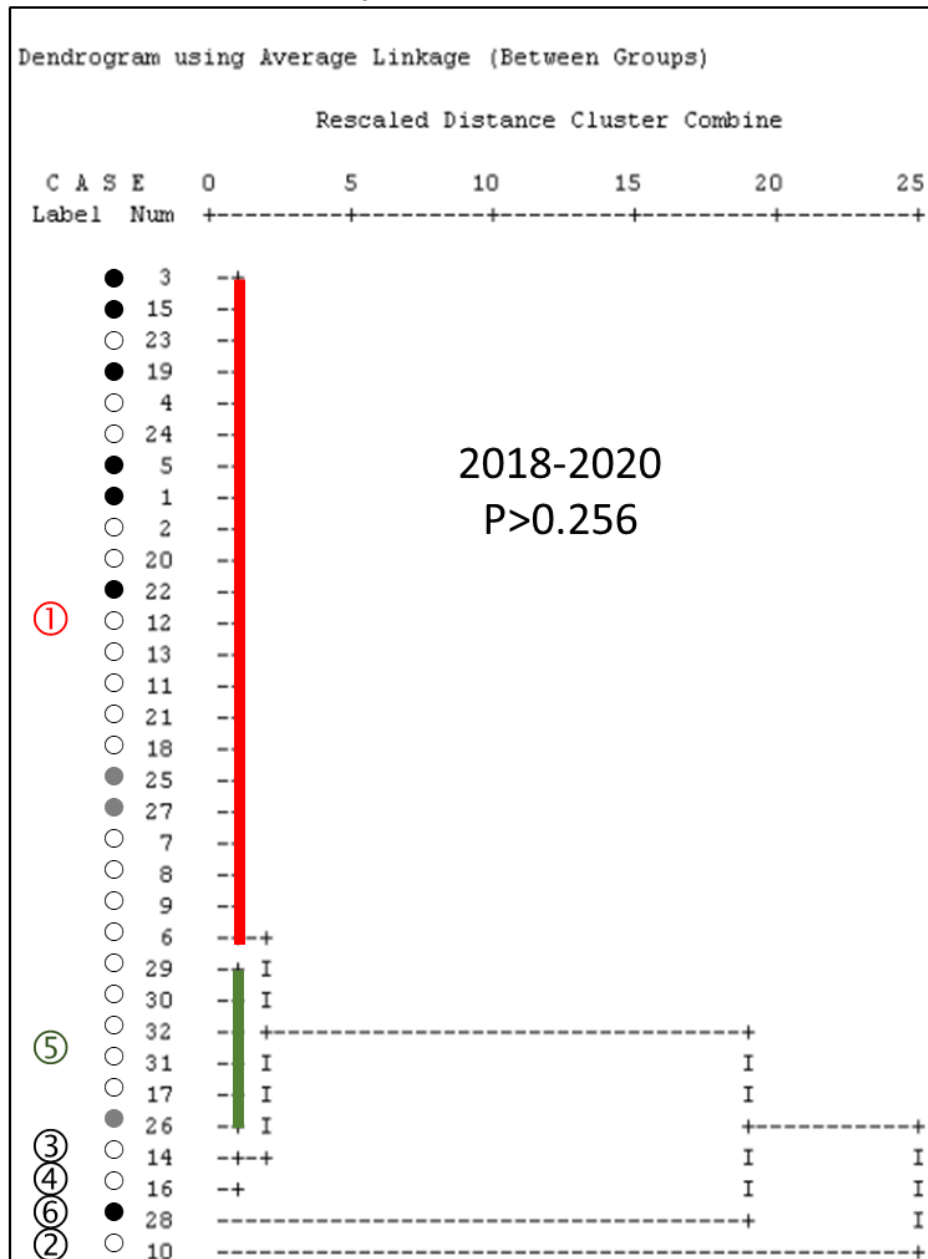
## Völkerverluste und Rückstände

Um die Hypothese, dass die hier nachgewiesenen Pestizidrückstände mit dem Überleben der Völker in einem Zusammenhang standen, so kritisch wie auf der Basis der verfügbaren Messwerte möglich zu testen, wurde von jedem Wirkstoff nur die höchste Konzentration, die für jedes Volk im Projektzeitraum nachgewiesen wurde, für die weitere Datenanalyse zurück behalten. Diese Vorgehensweise nimmt einerseits das pessimistischste messtechnisch hier nachweisbare Szenario an, macht andererseits das Übersehen von Effekten unwahrscheinlich.

Um mögliche Kombinationswirkungen abzubilden, wurde die Methode der hierarchischen Clusteranalyse verwendet, um die Bienenvölker nach Ähnlichkeit im Hinblick auf die im Laufe der Zeit maximal gemessenen Pestizidrückstände zu sortieren. Diese Methode wurde in identischer Form bereits auf die Daten aus den Jahren 2012/13 angewendet (Beyer et al. 2018). Bei der Analyse der Pollendaten wurden wie im Zeitraum 2012/13 wiederum zwei Gruppen und einige Einzelfälle gefunden (Abb. 7). Die erste Gruppe (Ⓛ, Abb. 7) umfasste 22 Völker, von denen 6 gesichert gestorben sind und 14 gesichert überlebt haben. Zwei Völker dieser Gruppe stammten vom Standort 6, an dem nur bekannt ist, dass im ersten Jahr eines von 4 Völkern verstorben ist, aber nicht welches. Die zweite Gruppe umfasste 6 Völker (Ⓞ), von denen 5 gesichert überlebt haben und eines vom Standort 6, bei dem das Überleben fraglich ist. Volk

Nr. 1 vom Standort 6 ist im dritten Jahr verstorben und wird daher gesichert als gestorben aufgeführt. Die Hypothese, dass die Toten in einer Gruppe überrepräsentiert waren, wurde mit einem Chi-Quadrat-Test für den Fall getestet, dass das erste Volk vom Standort 6 verstorben ist, dann für den Fall, dass das zweite Volk am Standort 6 verstorben ist, u.s.w.

Im Gegensatz zur ersten Untersuchungsperiode 2012/13 liess sich für den Zeitraum 2018-20 unter keinem Szenario ein Anhaltspunkt für eine Korrelation zwischen Pestizidrückständen auf dem Überleben der Bienenvölker im Winter mehr absichern. Die kleinste Irrtumswahrscheinlichkeit, die auftrat, lag bei 25,6%, was etwa fünfmal höher ist als die in den Biowissenschaften üblicherweise als akzeptabel angesehene Irrtumswahrscheinlichkeit von 5%



**Abbildung 7:** Gruppierung der Testbienenvölker nach der Ähnlichkeit der Pestizidrückstände, die sie im Laufe des Projektes mit dem Pollen gesammelt haben. Für die Analyse wurde von jedem Pestizid nur die höchste im Laufe der Zeit beobachtete Konzentration benutzt, um (a) mögliche Kombinationen so kritisch wie möglich abzubilden und (b) die Wahrscheinlichkeit des Übersehens eines Effektes zu minimieren. „Num“ stellt die Nummer der Völker im Versuch dar. Völker, die mit einem schwarzen Punkt gekennzeichnet sind, sind im Laufe der Versuchsdauer von 3 Jahren verstorben; Völker, die mit einem weissen Punkt gekennzeichnet sind, haben die Projektlaufzeit überlebt. Völker, die mit einem grauen Punkt gekennzeichnet sind, stammen vom Standort 6, an dem nicht bekannt ist, welches Volk im ersten Winter verstorben ist. Die Hypothese, dass die Toten in einer Gruppe überrepräsentiert waren, wurde

für den Fall getestet, dass das erste Volk vom Standort 6 verstorben ist, dann für den Fall, dass das zweite Volk am Standort zwei verstorben, ist u.s.w.

## Völkerverluste und Varroa

Am Standort mit den höchsten Völkerverlusten wurde der höchste Befall mit der parasitischen Varroamilbe beobachtet (Abb. 8). Der Zusammenhang über alle Standorte zwischen Varroa-Befall und den insgesamt geringen Völkerverlusten liess sich im Zeitraum 2018-20 statistisch jedoch nicht absichern (Abb. 8).

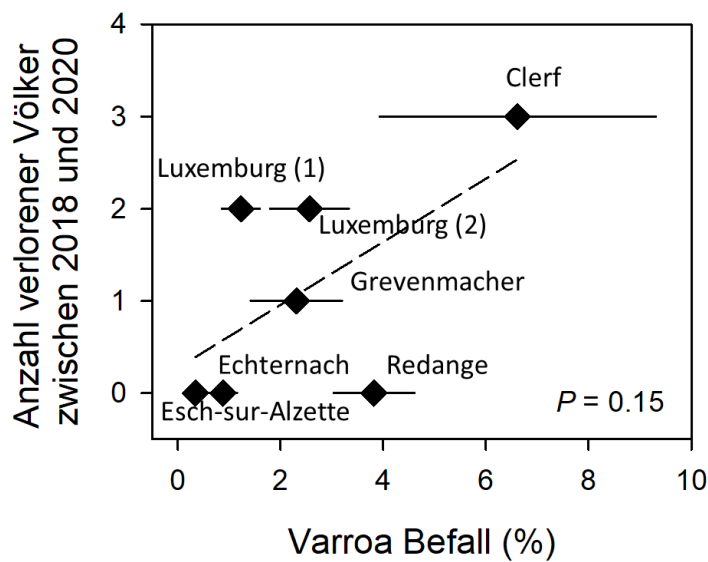


Abbildung 8: Varroa Befall und Anzahl verlorener Völker.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Völkerverluste von Honigbienen im Winter sind bei grossen Schwankungen von Jahr zu Jahr aktuell rückläufig. Von 2012/13 bis 2018-20 haben sich die Verluste von etwa 28% pro Jahr auf etwa 14% halbiert. Dieser Trend wurde auch mit den 28 Versuchsvölkern des Projektes beobachtet, wo lediglich 9,5% Verluste pro Jahr eintraten. Im Zeitraum 2012-13 wurde das Insektizid Thiacloprid mit Hilfe einer sehr kritischen Methode als problematisch für das Überleben von Bienenvölkern erkannt und seine Anwendung daraufhin strenger reguliert. Die mittlere Thiaclopridkonzentration im Pollen nahm zwischen 2012/13 und 2018-20 von etwa 6 ng/g auf etwa 3 ng/g ab. Thiacloprid gehört damit nicht mehr zu den Spitzenreitern unter den Belastungen im Pollen. Die höchsten Belastungen im Zeitraum 2018-2020 wurden durch die Fungizide Azoxystrobin, Boscalid und Tebuconazol ausgelöst. Die höchsten Azoxystrobinkonzentrationen wurden in den Jahren 2018 und 2020 im Juli gefunden. Die höchsten Boscalidkonzentrationen wurden im April und Mai gefunden, wobei die meisten Funde aus dem Jahr 2019 stammten. Die höchsten Tebuconazolkonzentrationen tauchten Ende April, Ende Mai und Anfang Juni auf, wobei die meisten Funde aus dem Jahr 2018 stammten. Eine Pollenprobe mit sehr hoher Azoxystrobinkonzentration wies 65% Spargelpollen auf. Weitere Pollenproben mit hohen Boscalid- und Tebuconazolkonzentrationen wiesen 76 und 71% Rapspollen auf. Die relativ geringe Anzahl verstorbener Völker hat die Untersuchung potentieller Ursachen für Sterblichkeit erschwert. Einflüsse der im Zeitraum 2018-2020 gefundenen Pestizidrückstände auf die relativ geringe Sterblichkeit der Bienenvölker liessen sich statistisch nicht absichern. Gleiches galt für den Einfluss der Varroa-Milbe. Die aktuell vorliegenden Daten zeigen eine Verschiebung in der Pollenbelastung weg von Insektiziden hin zu Fungiziden. Die Pestizidrückstände im Pollen sind damit von 2012/13 bis 2018-20 tendenziell weniger bienengefährlich geworden. Die hier beobachteten zeitlich und örtlich eng begrenzten Vorkommen hoher Pestizidkonzentrationen im Pollen deuten auf kurzzeitige Punktquellen hin.

## DANKSAGUNG

Wir danken den Imkern, ohne deren Pollensammlung der Erkenntnisgewinn aus diesem Arbeitspaket nicht möglich gewesen wäre, Dr. Carlo Georges (Veterinärverwaltung) für die Hilfe bei der landesweiten Umfrage, Andreas Reichart für das Varroa Monitoring und dem Ministerium für Landwirtschaft, Weinbau und ländliche Entwicklung für finanzielle Unterstützung.

## VERFÜGBARKEIT DER DATEN

Die Rohdaten der hier vorgestellten Untersuchung sind unter <https://agriculture.public.lu/de/beihilfen/innovation-forschung/forschungsprojekte-tierproduktion/beefirst-2018-2020.html> verfügbar.

## REFERENZ

Beyer M, Lenouvel A, Guignard C, Eickermann M, Clermont A, Kraus F, Hoffmann L (2018): [Pesticide residue profiles in bee bread and pollen samples and the survival of honeybee colonies—a case study from Luxembourg](#). Environmental Science and Pollution Research 25: 32163–32177