

ZUKUNFT BIENE



Endbericht

Stichtag: 20. Juni 2018

Forschungsprojekt Nr. 100972

**Zukunft Biene – Grundlagenforschungsprojekt zur Förderung des
Bienenschutzes und der Bienengesundheit
(Kurztitel: Zukunft Biene)**

Mit Unterstützung von Bund, Ländern und Europäischer Union

 Bundesministerium
Nachhaltigkeit und
Tourismus

Europäische Union 

Dieser Endbericht wurde am 30.Mai 2018 über Dafne (www.dafne.at) zur Approbation eingereicht.

Endbericht

(Stichtag: 30. Mai 2018)

An der Projektabwicklung und Berichtserstellung beteiligte Einrichtungen:

- Karl-Franzens-Universität Graz
 - o Institut für Zoologie
 - o Wegener Center

- AGES
 - o Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz Wien, mit Außenstelle für Pollenanalytik Lunz am See
 - o Institut für Pflanzenschutzmittel
 - o Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling
 - o Fachbereich Daten, Statistik, integrative Risikobewertung

Ansprechpartner für Rückfragen:

Projektleiter: Univ. Prof. Dr. Karl Crailsheim, Karl-Franzens-Universität Graz, Institut für Zoologie, Tel: 0316 380 5616; karl.crailsheim@uni-graz.at

Dr. Rudolf Moosbeckhofer, AGES, Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz Wien, Tel: 050 555 33 121; rudolf.moosbeckhofer@ages.at

Dr. Robert Brodschneider, Karl-Franzens-Universität Graz, Institut für Zoologie, Tel: 0316 380 5602; robert.brodschneider@uni-graz.at

Autoren und Autorinnen des Endberichts:

- Vorwort:** Karl Crailsheim, Robert Brodschneider, Elfriede Kalcher-Sommersguter, Rudolf Moosbeckhofer, Linde Morawetz, Wolfgang Schühly
- Modul (1):** Robert Brodschneider, Elfriede Kalcher-Sommersguter, Simone Klinger
- Modul (2a):** Robert Brodschneider, Matthew Blaise Switaneck
- Modul (2b):** Sabrina Kuchling, Ian Kopacka, Michael Schwarz, Robert Brodschneider
- Modul (3a):** Linde Morawetz, Antonia Griesbacher, Hemma Köglberger, Irmgard Derakhshifar, Josef Mayr, Katharina Etter, Rudolf Moosbeckhofer
- Modul (3b):** Linde Morawetz, Antonia Griesbacher, Hemma Köglberger, Sandra Revilla-Fernández, Irmgard Derakhshifar, Josef Mayr, Katharina Etter, Adolf Steinrigl, Katharina Reisp, Rudolf Moosbeckhofer
- Modul (3c):** Rudolf Moosbeckhofer, Josef Mayr, Linde Morawetz, Hemma Köglberger, Katharina Etter, Irmgard Derakhshifar
- Modul (4a-c):** Wolfgang Schühly, Ulrike Riessberger-Gallé, Javier Hernández López
- Modul (5):** Robert Brodschneider, Josef Mayr, Waltraud Auer, Helmut Heigl, Katharina Etter, Rudolf Moosbeckhofer

Finanzierung

Geplante Laufzeit: 01.03.2014 – 31.01.2017
Laufzeit (mit bewilligter Verlängerung): 01.03.2014 – 30.11.2017

Das 3-Jahres-Projekt wurde im Rahmen der Bund-Bundesländer-Kooperation finanziert durch:

Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft	€ 868.737,00
Biene Österreich	€ 658.700,00
Bundesländer	€ 571.300,00
Eigenmittel Karl-Franzens-Universität Graz	€ 197.712,00
Eigenmittel AGES	€ 183.993,00

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	XVII
Danksagung	XX
Zusammenfassung	1
Project Summary	10
(1) Wintersterblichkeit	
1.1 Zusammenfassung der Untersuchung der Wintersterblichkeit 2013/14 bis 2016/17	19
1.2 Einleitung	20
1.3 Methodik und Ergebnisse	24
1.3.1 Datenerhebung	24
1.3.2 Statistik	25
1.4 Ergebnisse	25
1.4.1 Beteiligung	25
1.4.2 Repräsentativität	26
1.4.2.1 Anonyme Teilnahme versus nicht anonyme Teilnahme	26
1.4.2.2 Online-Antworten versus Papierfragebogen-Antworten	26
1.4.2.3 Betriebsgröße	27
1.4.2.4 Geografische Herkunft	28
1.4.2.5 Bienenstandort	29
1.4.3 Verlustrate in Österreich, den Bundesländern und den Bezirken	29
1.4.3.1 Österreich	29
1.4.3.1.1 Populationsdynamik in Österreich	29
1.4.3.2 Bundesländer	31
1.4.3.3 Ausgewählte Bezirke	34
1.4.4 Symptome	38
1.4.5 Verteilung der Völkerverluste	40
1.4.6 Risikoanalyse	40
1.4.6.1 Betriebsgröße	41
1.4.6.2 Stand- versus Wanderimkereien	42
1.4.6.3 Wabenhygiene	43
1.4.6.4 Trachtangebot	44
1.4.6.5 Seehöhe	47
1.4.6.6 Bekämpfung der Varroamilbe	48
1.4.6.6.1 Bestimmung des Varroabefalls	49
1.4.6.6.2 Zeitpunkt und Häufigkeit der Anwendungen	54
1.4.6.6.3 Auswirkungen der Drohnenbrudentnahme auf die Winterverluste	55
1.4.6.6.4 Ameisensäure-Behandlung	57
1.4.6.6.5 Oxalsäure	59
1.4.6.6.6 Bienenwohl	61
1.4.6.6.7 Thymol	62
1.4.6.6.8 Hyperthermie	64
1.4.6.6.9 Andere biotechnische Methoden (ohne Hyperthermie/Drohnenbrudentnahme)	65
1.4.6.6.10 Königinnen-Probleme	66

1.4.6.6.11 Im Einwinterungsjahr begattete Königin („junge Königin“)	67
1.4.6.6.12 Betriebsweise 2016/17	68
1.4.7 Zusammenfassung von Risikofaktoren – Mehrjahresvergleich	69
1.5 Diskussion	73
(2) Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit	
(2a) Witterung und Winterverluste	83
2a.1 Einleitung	83
2a.2 Material und Methode	84
2a.3 Ergebnisse und Diskussion	86
(2b) Landnutzung und Winterverluste	88
2b.1 Einleitung	88
2b.2 Material und Methode	88
2b.3 Ergebnisse	94
2b.3.1 Modellergebnisse Winter 2010/11	97
2b.3.2 Modellergebnisse Winter 2011/12	98
2b.3.3 Modellergebnisse Winter 2012/13	98
2b.3.4 Modellergebnisse Winter 2013/14	98
2b.3.5 Modellergebnisse Winter 2014/15	99
2b.3.6 Modellergebnisse Winter 2015/16	99
2b.3.7 Ergebnisse Gesamtmodell	100
2b.4 Schlussfolgerungen und Diskussion	101
(3) Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten	
(3a) Basis-Surveillance-Programm zur Erfassung von Völkerverlusten während der Überwinterung und zum Vorkommen bzw. zur klinischen Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten („Beobachtungsstudie“) – Wegweiser	109
3a.1 Einleitung	110
3a.2 Ziele	110
3a.3 Material und Methoden	112
3a.3.1 Auswahl der Bienenstände	112
3a.3.1.1 Grundlage der Auswahl	112
3a.3.1.2 Anzahl kontrollierter Bienenvölker pro Bienenstand	112
3a.3.1.3 Basisgruppe: Zufallsauswahl der ImkerInnen	113
3a.3.1.4 Schwerpunktgruppe: Auswahl der ImkerInnen	115
3a.3.1.5 Absagen von ImkerInnen	116
3a.3.2 Vorgangsweise beim Auftreten anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten	116
3a.3.3 Projektvorbereitung und Schulung der ProbenehmerInnen	117
3a.3.3.1 Auswahl der ProbenehmerInnen	117
3a.3.3.2 Schulung der ProbenehmerInnen	118
3a.3.4 Standbesuche	118
3a.3.4.1 Zeitpunkt der Standbesuche	119
3a.3.4.2 Völkerinspektion	119
3a.3.4.3 Probenahme	120
3a.3.5 Probenlogistik und -lagerung	122

3a.3.6 Untersuchungsumfang	124
3a.3.7 Methoden zum Nachweis von Parasiten und Krankheitserregern	125
3a.3.7.1 Pflichtproben	125
3a.3.7.2 Verdachtsproben	127
3a.3.7.2.1 Untersuchung symptomatischer Brutproben	127
3a.3.7.2.2 Ermittlung des Varroabefalls der Bienenbrut	127
3a.3.7.2.3 Untersuchung symptomatischer Bienenproben auf <i>Nosema</i> spp.	128
3a.3.7.2.3.1 Qualitative Untersuchung auf Nosemabefall	128
3a.3.7.2.3.2 Quantifizierung des Nosemabefalls	128
3a.3.7.2.3.3 Identifizierung von <i>Nosema apis</i> bzw. <i>Nosema ceranae</i>	128
3a.3.7.2.4 Qualitative Untersuchung symptomatischer Bienenproben auf Bienenviren	129
3a.3.8 Statistische Auswertung	130
3a.3.8.1 Varroabefall Bienen	130
3a.3.8.2 Prävalenzen der bei der Völkerinspektion am Stand beobachteten Bienenkrankheiten	130
3a.3.8.3 Einflussfaktoren auf den Überwinterungserfolg	131
3a.3.8.4 Art und Durchführung der Varroabekämpfung	132
3a.3.8.5 Kategorisierung der Landnutzung um die Beobachtungsbienenstände	134
3a.4 Ergebnisse	135
3a.4.1 Datenstruktur teilnehmender ImkerInnen und Imkereibetriebe	135
3a.4.1.1 Beschreibung der Imkereibetriebe	135
3a.4.1.2 Dauer der Bienenhaltung und Ausbildung der teilnehmenden ImkerInnen	138
3a.4.1.3 Beschreibung der Landnutzung um die Bienenstände	140
3a.4.2 Ergebnisse der Völkerinspektionen	142
3a.4.2.1 Klinische Prävalenzen anzeigepflichtiger und nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten auf Volksebene	142
3a.4.2.2 Klinische Prävalenzen anzeigepflichtiger und nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten auf Standebene	143
3a.4.2.3 Klinische Prävalenzen anzeigepflichtiger und nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten zu den drei Inspektionsterminen	144
3a.4.2.3.1 Amerikanische Faulbrut	145
3a.4.2.3.2 Kleiner Bienenstockkäfer und Tropilaelaps-Milben	145
3a.4.2.3.3 Varroose	145
3a.4.2.3.4 Europäische Faulbrut	147
3a.4.2.3.5 Sackbrut	147
3a.4.2.3.6 Kalkbrut	147
3a.4.3 Ergebnisse der Untersuchung der Verdachtsproben	148
3a.4.3.1 Anzahl gezogener Verdachtsproben und Art des Untersuchungsmaterials	148
3a.4.3.2 Untersuchung von Brut-Verdachtsproben	149
3a.4.3.2.1 Zusammenhang zwischen beobachteten Symptomen und Erregernachweis bei Brut-Verdachtsproben	149
3a.4.3.2.2 Brutkrankheiten	151
3a.4.3.2.2.1 Amerikanische Faulbrut	151
3a.4.3.2.2.2 Kalkbrut, Sackbrut	151
3a.4.3.2.2.3 Europäische Faulbrut	152

3a.4.3.2.3 Wachsmotten	152
3a.4.3.2.4 Varroabefall der Brut	152
3a.4.3.3 Untersuchung von Bienen-Verdachtsproben	153
3a.4.3.3.1 Zusammenhang zwischen beobachteten Symptomen und Erregernachweis bei Bienen-Verdachtsproben	155
3a.4.3.3.2 Verdachtsproben mit positivem Nachweis von <i>Nosema</i> spp.	156
3a.4.3.3.3 Bienen-Verdachtsproben mit positivem Nachweis für das Akute Bienenparalyse-Virus	157
3a.4.3.3.4 Bienen-Verdachtsproben mit positivem Nachweis für das Chronische Bienenparalyse-Virus	157
3a.4.3.3.5 Bienen-Verdachtsproben mit positivem Nachweis für das Flügeldeformationsvirus	158
3a.4.3.4 Untersuchung von Bienenpuppen mit Krankheitsverdacht	158
3a.4.3.5 Untersuchung von Kot-Verdachtsproben	158
3a.4.3.6 Untersuchung einer Käferlarve	158
3a.4.4 Varroabefall auf Bienen	159
3a.4.4.1 Beurteilung der Höhe des Varroabefalles	159
3a.4.4.1.1 Einzelvolkbeurteilung des Varroabefalles	159
3a.4.4.1.2 Standbeurteilung des Varroabefalles	159
3a.4.4.1.3 Vergleich des Varroabefalles der Bienen zwischen den Standbesuchen	159
3a.4.4.2 Varroabefall der Bienen – erster Standbesuch (Juli/August 2015)	160
3a.4.4.3 Varroabefall auf Bienen – zweiter Bienenstandbesuch (Sept./Okt. 2015)	163
3a.4.4.4 Detailanalyse des Varroabefalls ausgewählter Bundesländer beim ersten und zweiten Standbesuch	165
3a.4.4.4.1 Burgenland	166
3a.4.4.4.2 Kärnten	168
3a.4.4.4.3 Salzburg	170
3a.4.4.4.4 Tirol	172
3a.4.4.4.5 Wien	174
3a.4.4.5 Durchgeführte Maßnahmen zur Reduktion des Varroabefalles	176
3a.4.4.5.1 Medikamentöse Varroabehandlung	176
3a.4.4.5.1.1 Oxalsäure	177
3a.4.4.5.1.2 Ameisensäure	177
3a.4.4.5.2 Biotechnische Maßnahmen	178
3a.4.4.6 Abhängigkeit des Varroabefalls von der Art der Varroabekämpfung	179
3a.4.4.6.1 Behandlungskonzepte der teilnehmenden ImkerInnen	179
3a.4.4.6.2 Biotechnische Methoden im Frühling 2015 und Varroabefall beim ersten Besuch	180
3a.4.4.6.3 Art der Sommerbehandlung und Varroabefall beim zweiten Standbesuch	183
3a.4.4.6.3.1 Ameisensäure	184
3a.4.5 Völkerverluste auf den Beobachtungsständen	187
3a.4.5.1 Völkerverluste im Sommer 2015	187
3a.4.5.2 Völkerverluste im Winter 2015/2016	187
3a.4.5.3 Winterverluste und Standort des Bienenstandes	189
3a.4.5.4 Winterverluste und Struktur des Imkereibetriebes	191
3a.4.5.4.1 Betriebsgröße	191

3a.4.5.4.2 Standgröße	192
3a.4.5.4.3 Bewirtschaftungsart (Bio/Konventionell)	192
3a.4.5.5 Winterverluste und Erfahrung bzw. Ausbildung des Imkers	192
3a.4.5.5.1 Imkerliche Erfahrung	192
3a.4.5.5.2 Ausbildung	193
3a.4.5.6 Völkerverluste und Varroabefall der Völker	194
3a.4.5.6.1 Zusammenhang Varroabefall beim ersten Besuch (Sommer 2015) mit Sommer- und Winterverlusten	194
3a.4.5.6.2 Zusammenhang des Varroabefalls beim zweiten Besuch (Herbst 2015) mit Winterverlusten	196
3a.4.5.6.3 Zusammenhang Winterverluste, Varroabefall und Beprobungsdatum	199
3a.4.5.6.4 Einfluss des Standeffektes auf das Überleben der Völker während der Überwinterung 2015/2016	199
3a.4.5.7 Winterverluste und Eigenschaften der Völker	201
3a.4.5.7.1 Alter der Königin	201
3a.4.5.7.2 Volksstärke	202
3a.4.5.7.3 Wanderungen	202
3a.4.5.7.4 Jungvolk / Wirtschaftsvolk	202
3a.4.5.8 Multivariates Modell der Winterverluste	202
3a.5 Diskussion	205
3a.5.1 Prävalenz von Bienenkrankheiten	206
3a.5.1.1 Prävalenz anzeigepflichtiger Krankheiten	206
3a.5.1.1.1 Amerikanische Faulbrut	206
3a.5.1.1.2 Tropilaelapsmilben und Kleiner Bienenstockkäfer	207
3a.5.1.1.3 Varroose	207
3a.5.1.2 Prävalenz nicht anzeigepflichtiger Krankheiten	208
3a.5.1.2.1 Europäische Faulbrut	208
3a.5.1.2.2 Sackbrut	209
3a.5.1.2.3 Kalkbrut	209
3a.5.1.3 Übereinstimmung zwischen Krankheitssymptomen im Feld und Erregernachweis im Labor	209
3a.5.2 Völkerverluste	211
3a.5.2.1 Sommerverluste	211
3a.5.2.2 Winterverluste	211
3a.5.2.2.1 Winterverluste und Standort des Bienenstandes	211
3a.5.2.2.2 Winterverluste und Eigenschaften des Standes und des Betriebes	212
3a.5.2.2.3 Winterverluste und Varroabefall der Völker	214
3a.5.2.2.4 Winterverluste und Eigenschaften der Völker	215
3a.5.2.2.5 Multivariates Modell	216
3a.5.2.2.6 Einfluss des Bienenstandes	216
3a.5.3 Maßnahmen zur Reduktion des Varroabefalles	217
3a.5.4 Bisheriger Nutzen der Beobachtungsstudie für die Imker	219
3a.6 Zusammenfassung	221

(3b) Ursachenforschung zur Wintersterblichkeit durch Posthoc Untersuchungen ausgewählter Proben auf Bienengesundheit und eine vorangegangene Exposition gegenüber bienengefährlichen Schadstoffen aus unterschiedlichen Quellen	226
3b.1 Einleitung	226
3b.2 Material und Methoden	227
3b.2.1 Völkerauswahl und Probenahmen	227
3b.2.2 Auswahl der zu untersuchenden Proben und Bienenstände	227
3b.2.2.1 Probenplan	227
3b.2.2.2 Zufallsgenerator	228
3b.2.2.3 Mögliche Effekte des fehlenden Bienenbrots auf die Auswahl der Posthoc Studie	230
3b.2.3 Gesundheitsuntersuchungen	230
3b.2.3.1 Untersuchung auf Nosemabefall	230
3b.2.3.1.1 Qualitative Untersuchung auf Nosemabefall	230
3b.2.3.1.2 Quantifizierung des Nosemabefalls	230
3b.2.3.1.3 Identifizierung von <i>Nosema apis</i> bzw. <i>Nosema ceranae</i>	231
3b.2.3.2 Untersuchung auf Virusbefall	232
3b.2.3.2.1 Methodenetablierung und -validierung zum Nachweis von ABPV, CBPV und DWV	232
3b.2.3.2.2 Herstellung eines Homogenates zur Virusidentifizierung und -quantifizierung	232
3b.2.3.2.3 Nukleinsäureextraktion aus Bienenhomogenaten	232
3b.2.3.2.4 Quantitative real-time RT-PCR (RT-qPCR)	233
3b.2.3.2.5 Sequenzierung	234
3b.2.3.2.6 Differenzierung zwischen DWV-A und DWV-B	234
3b.2.4 Rückstandsuntersuchungen	234
3b.2.5 Berechnung des Hazard Quotienten-Bienenbrot	234
3b.2.6 Statistische Auswertungen	237
3b.2.6.1 Prävalenzen	237
3b.2.6.2 Multivariates Modell	237
3b.3 Ergebnisse	238
3b.3.1 Beschreibung der Völker der Posthoc Auswahl	238
3b.3.2 Nosemabefall	240
3b.3.2.1 Qualitativer und Quantitativer Nosemabefund	240
3b.3.2.2 Zusammenhang zwischen Nosema und Volksstärke	240
3b.3.2.3 Nosemabefund und Überwinterungserfolg der Bienenvölker	242
3b.3.3 Ergebnisse der RT-qPCR-Untersuchung auf drei Bienenviren (ABPV, CBPV, DWV)	242
3b.3.3.1 Qualitativer Virusnachweis	242
3b.3.3.2 Quantitativer Virusnachweis	243
3b.3.3.3 Virusbefund und Überwinterungserfolg der Bienenvölker	244
3b.3.3.3.1 ABPV	244
3b.3.3.3.2 CBPV	245
3b.3.3.3.3 DWV	246
3b.3.4 Mehrfachinfektionen	247
3b.3.5 Rückstandsuntersuchungen an Bienenbrot	249
3b.3.5.1 Nachgewiesene Analyten und deren Häufigkeiten	249

3b.3.5.2 Häufigkeit positiver Rückstandsnachweise nach Landnutzungsclustern	253
3b.3.5.3 Hazard-Quotient der Einzelsubstanzen	256
3b.3.5.4 Überwinterungserfolg und Hazard-Quotient Bienenbrot	258
3b.3.6 Multivariates Modell: Zusammenhänge zwischen Winterverlusten, Krankheitsfaktoren und Pestizidbelastung	259
3b.4 Diskussion	264
3b.4.1 Krankheitserreger	265
3b.4.2 Pestizidrückstände	267
3b.4.3 Multivariates Modell	270
3b.5 Zusammenfassung	272
(3c) Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring in Fällen mit Vergiftungsverdacht 2014-2016	277
3c.1 Einleitung	277
3c.2 Material und Methoden	278
3c.2.1 Dokumentation der Völkerverluste und Bienenschäden	278
3c.2.2 Probenmaterial und Probenahmen	278
3c.2.2.1 Völkerverluste und Bienenschäden der Überwinterungsperiode 2013/2014	278
3c.2.2.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2014	281
3c.2.2.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Frühherbst 2014	282
3c.2.2.4 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2014/2015 bis Spätsommer/Frühherbst 2016	282
3c.2.3 Rückstandsanalysen	282
3c.3 Ergebnisse der Untersuchungen von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht	289
3c.3.1 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2013/2014	289
3c.3.1.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2013/2014	289
3c.3.1.2 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2013/2014	290
3c.3.1.3 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2013/2014	292
3c.3.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2014	294
3c.3.2.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2014	295
3c.3.2.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Frühjahr bis Sommer 2014	296
3c.3.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2014	300
3c.3.3.1 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2014	301
3c.3.3.2 Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2014	301
3c.3.4 Völkerverluste und Bienenschäden mit Frevelverdacht im Jahr 2014	304
3c.3.4.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Frevelverdacht	304

3c.3.4.2 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Frevelverdachtsfällen 2014	305
3c.3.4.3 Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Frevelverdachtsfällen 2014	306
3c.3.4.4 Biotest kontaminierter Waben im Kleinkäfigversuch	307
3c.3.5 Gemeldete Fälle von Vergiftungsverdacht 2015	309
3c.3.5.1 Überwinterungsperiode 2014/2015	309
3c.3.5.1.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2014/2015	310
3c.3.5.1.2 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2014/2015	311
3c.3.5.1.3 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2014/2015	313
3c.3.5.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2015	315
3c.3.5.2.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2015	315
3c.3.5.2.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Frühjahr bis Sommer 2015	317
3c.3.5.2.3 Gemeldete Brutschäden mit Vergiftungsverdacht durch kontaminierte Mittelwände im Frühjahr – Sommer 2015	321
3c.3.5.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2015	323
3c.3.5.3.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer bis Herbst 2015	324
3c.3.5.3.2 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2015	325
3c.3.5.3.3 Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2015	325
3c.3.5.4 Völkerverluste und Bienenschäden mit Frevelverdacht im Jahr 2015	326
3c.3.5.4.1 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen im Frevelverdachtsfall 2015	326
3c.3.5.4.2 Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen im Frevelverdachtsfall 2015	326
3c.3.6 Gemeldete Fälle von Vergiftungsverdacht 2016	327
3c.3.6.1 Überwinterungsperiode 2015/2016	327
3c.3.6.1.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2015/2016	328
3c.3.6.1.2 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2015/2016	328
3c.3.6.1.3 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2015/2016	329
3c.3.6.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2016	331
3c.3.6.2.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2016	332
3c.3.6.2.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Frühjahr bis Sommer 2016	334
3c.3.6.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2016	340
3c.3.6.3.1 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2016	340

3c.3.6.3.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchung der Probe aus dem Vergiftungsverdachtsfall – Spätsommer bis Herbst 2016	340
3c.3.7 Nachgewiesene Wirkstoffe und deren Häufigkeiten in den Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen der Jahre 2014 bis 2016	340
3c.3.8 Unterschiede im nachgewiesenen Analytenspektrum in den Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen 2014, 2015 und 2016 in Abhängigkeit von der untersuchten Matrix	344
3c.3.9 Exposition der mit Vergiftungsverdacht gemeldeten Bienenstände gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil	347
3c.4 Diskussion	349
3c.5 Dank	360
3c.6 Zusammenfassung	364
Anhang: Erläuterungen zum Fragebogen	371

(4) Individuelle Schadtoleranz

4.1 Kumulierte Effekte subletaler Vergiftungen, (4b) Physiologische Leistungsprüfung, (4c) Entgiftungsmechanismen	383
4.1 Einleitung	383
4.2 Darstellung der Ergebnisse des Projektes Zukunft Biene, Modul 4 aus den Vorjahren (2014-15)	384
4.2.1 Überlebensrate von Larven, die subletalen Pestiziddosen ausgesetzt wurden	385
4.2.2 Überlebensrate frisch geschlüpfter Bienen bei definierter Pestizidexposition im Labor	386
4.2.3 Untersuchung des Einflusses von Pestiziddosen unterhalb der LD ₅₀ auf die Futtermittelaufnahme in Honigbienen	387
4.2.4 Untersuchung des Proboscis-Extensor-Reflexes (PER) unter dem Einfluss von Pestiziddosen unterhalb der Letaldosis (LD ₅₀)	388
4.2.5 Flugversuche mit Bienen unter dem Einfluss von Pestiziddosen	390
4.2.6 Akute Vergiftung durch Pestizide und deren Kombination bei Hummeln (<i>Bombus terrestris</i>)	392
4.2.7 Überlebensrate von Käfigbienen, die kurzfristig unterschiedliche Dosen von Pestiziden mit oder ohne Beimischung von Gelée royale erhielten	396
4.2.8 Einfluss verschiedener Pestizide in Kombination mit Pathogenexposition auf Hämocyten in Bienenlarven	397
4.3 Darstellung der Ergebnisse aus den Jahren 2016-2017	400
4.3.1 Kutikuläre Kohlenwasserstoffmuster von mit Pestiziden oder Lipopolysaccharid (LPS) behandelten Arbeiterinnen rufen eine Immunaktivierung in Bienenköniginnen hervor	400
4.3.1.1 Einleitung	400
4.3.1.2 Durchführung	402
4.3.1.3 Ergebnisse	402
4.3.2 Pestiziddosen führen über veränderte Kohlenwasserstoffmuster zur aktiven Entfernung pestizidbehandelter Bienenlarven im Bienenstock	407
4.3.2.1 Einleitung	407
4.3.2.2 Durchführung	408
4.3.2.3 Ergebnisse	409
4.3.3 Pestizidnachweis in Gelée royale und zur Pestizidweitergabe durch Ammen	412
4.3.3.1 Einführung	412

4.3.3.2 Ausarbeitung von HPLC-Bestimmungsmethoden für Gelée royale	412
4.3.4 Nachverfolgung von Clothianidin in Ammenbienen	416
4.3.4.1 Einleitung	416
4.3.4.2 Durchführung	417
4.3.4.3 Ergebnisse	418
4.3.4.4 Diskussion	420
4.3.5 Versuche mit radioaktiv markiertem Imidacloprid	420
4.3.5.1 Einleitung	420
4.3.5.2 Versuchsaufbau und Ergebnisse	421
4.3.5.4 Diskussion	422
4.6 Zusammenfassung	423
4.7 Dank	424
(5) Trachtpflanzendiversität	
5.1 Einleitung	425
5.2. Material und Methoden	426
5.2.1 ImkerInnen und Versuchsstandorte	426
5.2.2 Pollensammlung und Farbzurordnung der Pollenladungen	427
5.2.3 Lichtmikroskopische Analyse der Pollenladungen	429
5.3 Ergebnisse Pollenanalysen 2014 und 2015	434
5.3.1 Relative Häufigkeiten der verschiedenen Pollenformen	435
5.3.2 Stadt-Land-Vergleich von zwei Standorten an Hand ihres Pollenspektrums	456
5.3.3 Vergleich von Standorten hinsichtlich der Phänologie und relativen Häufigkeit ausgewählter wichtiger Pollenformen	460
5.3.4 Saisonale Veränderungen in der Anzahl gefundener Pollenformen	469
5.3.5 Unterschiede zwischen Bienenständen und Bienenvölkern in der Anzahl gefundener Pollenformen zu den einzelnen Sammelterminen	470
5.3.6 Saisonale Abfolge der Nutzung ausgewählter Pflanzenarten	479
5.3.7 Saisonale Veränderung der Anzahl Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten von mehr als 50%, mehr als 80% und mehr als 90%	480
5.3.8 Nutzung von Gründüngungspflanzen als Pollenquellen durch die Versuchsvölker	482
5.4 Diskussion	486
Veröffentlichungen und Vortragstätigkeit im Zeitraum der Projektdauer (01. März 2014 bis 17. November 2017)	489
Literaturzitate	502



KARL-FRANZENS-UNIVERSITÄT GRAZ
UNIVERSITY OF GRAZ



Vorwort

Die Imkerei in Österreich floriert und die Honigbiene ist präsenter und beliebter denn je. Im Jahr 2016 wurden laut Imkerdachverband „Biene Österreich“ von 26.609 ImkerInnen etwa 354.080 Bienenvölker gehalten. Insgesamt ist die Anzahl der Bienenvölker in Österreich seit 2003 weitgehend stabil (s. Tabelle). Es war konsequent und vorausschauend, dass das Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, ein Forschungsprojekt ins Leben gerufen hat, das die Biene in den Mittelpunkt stellt. Die Universität Graz wurde mit der Gesamtleitung betraut. Ziel war es, die Situation dieses für die Bestäubung und die Honigwirtschaft wichtigen Insekts in Österreich zu untersuchen. Dies geschah in einer sowohl wissenschaftlichen als auch allgemein gesellschaftlich für Bienen wertschätzenden Atmosphäre und „Zukunft Biene“ war das größte Einzelprojekt, das für dieses ökonomisch dritt wichtigste Nutztier in Österreich öffentlich finanziert wurde. Es kam durch übergreifende Interessen unterschiedlichster Gruppen zustande und wurde vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, den Bundesländern, dem Dachverband der österreichischen Bienenzuchtverbände („Biene Österreich“), der Universität Graz und der AGES (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit) mit 2,48 Mio. € finanziert.

Das Projekt erbringt Resultate mit eindeutigem Österreichschwerpunkt und bereichert darüber hinaus – hochrangig publiziert – unser Wissen über die Honigbienen und ihre Gesundheit. Die zu Projektbeginn gehegte Vermutung, dass die Wintersterblichkeit von Bienenvölkern, welche das gravierendste Problem der österreichischen Bienenwirtschaft darstellt, von einer Vielzahl von teilweise interagierenden Schadmechanismen und -faktoren verursacht wird, konnte weitgehend bestätigt werden.

Diese Wintersterblichkeit variiert in Österreich, wie auch in anderen europäischen Ländern, über die Jahre sehr stark. In die Projektlaufzeit fielen sowohl der Winter mit der höchsten (28,4% der Bienenvölker überlebten den Winter 2014/15 nicht) als auch der Winter mit der geringsten (8,1% im Winter 2015/16) je wissenschaftlich erhobenen Sterblichkeit. Die im Winter abgestorbenen Völker können je nach Höhe der Winterverluste üblicherweise im Laufe des nächsten Jahres durch die Arbeit der Imkereien ganz oder teilweise wieder aufgebaut oder nachgeschafft werden.

Durch vergleichbare Daten aus unseren Nachbarländern sehen wir, dass dieses Phänomen kein rein österreichisches ist. Ein eindeutiger Zusammenhang konnte in Österreich zwischen den Winterverlusten und der Varroabelastung während der vorangegangenen Periode, der Art der Landschaft und Vegetation und bestimmten Klimabedingungen nachgewiesen werden. So hatten beispielsweise höhere Regionen weniger Verluste zu vermelden als niedrig gelegene. Klar zeigt sich jedoch auch, dass der Varroabefall allein keine vollständige Erklärung für die Winterverluste darstellt. Weitere Faktoren wie das Königinnenalter, die Erfahrung des Imkers / der Imkerin und die Volksstärke bei der Einwinterung beeinflussen den Überwinterungserfolg des Volkes ebenfalls. Manche Fälle der Wintersterblichkeit sind eindeutig auf einen einzelnen Faktor wie Futtermangel zurückzuführen. Der Großteil der Fälle erlaubt aber keine so einfache Zuordnung und stützt die von uns vertretene und auch international anerkannte Theorie des Zusammenwirkens mehrerer Faktoren. Speziell die Bedeutung der Varroamilbe und deren Bekämpfung wurden in zwei unabhängigen Untersuchungsteilen gezeigt. Es waren dies einerseits die in der Saison 2015/16 durchgeführte Beobachtungsstudie, bei der ungefähr 200 partiell randomisierte Imkereien (repräsentativ für Parameter wie Bundesländer, Regionen, Gefährdung) beprobt und begleitet wurden, um bei eventuell auftretenden Verlusten durch Posthoc-Analysen Klarheit über den

Schadensfall zu gewinnen. Diese erbrachten ein sehr detailliertes Datenspektrum u.a. hinsichtlich des Verlaufes der Varroabelastung, des Vorkommens von Krankheitserregern und von chemischen Substanzen (z.B. Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel, etc.). Andererseits zeigten die alljährlich durchgeführten Wintersterblichkeitsuntersuchungen samt den von den Imkern berichteten Maßnahmen, z.B. Häufigkeit und Arten der Varroa-Bekämpfungsmaßnahmen, ebenfalls die Bedeutung dieses Bienenschädlings auf.

Zusammenfassend ergab die Posthoc-Studie im Großen und Ganzen ein positives Bild des Gesundheitszustandes der untersuchten Bienenvölker in Österreich. Die in der Posthoc-Studie vertretenen Völker waren frei von Vergiftungssymptomen und die Mehrzahl auch frei von klinischen Krankheitssymptomen.

Zwischen der Pestizidbelastung des Bienenbrottes von 210 untersuchten Völkern im Herbst 2015 und nachfolgenden Winterverlusten bei diesen Völkern konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Die Pestizidbelastung lag in den meisten Fällen deutlich unterhalb den bei Vergiftungsverdacht gemessenen Vergleichswerten. Es wurden vereinzelt auch nicht oder nicht mehr in der EU als Pflanzenschutzmittel, aber zum Teil für andere Zwecke (z.B. Biozide, Tierarzneimittel) zugelassene Pestizide in den Bienenbrotproben aus unauffälligen Völkern, die in Österreich in Gebieten mit unterschiedlicher Landnutzung standen, nachgewiesen. Durch die Einbindung von ImkerInnen in die Forschung („Citizen Science“-Ansatz, für den wir auch beim österreichischen Citizen Science Award 2017 ausgezeichnet wurden) und deren intensive Beteiligung an unseren Befragungen, der Beobachtungsstudie und der Studie zur Trachtpflanzen-diversität, wurde die Interaktion und gegenseitige Wertschätzung zwischen den beteiligten ImkerInnen und WissenschaftlerInnen intensiviert. Dies sollte in Zukunft die Akzeptanz von aus dem Projekt in die Praxis fließenden Informationen erhöhen.

Ein weiteres Teilprojekt hat sich mit Vergiftungsverdachtsfällen beschäftigt. Alle österreichischen ImkerInnen hatten die Möglichkeit, derartige Fälle zu melden und Proben kostenlos untersuchen zu lassen. Im Zeitraum des Projektes wurden 145 Bienenstände mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Davon konnten 122 Stände, von denen geeignetes Probenmaterial verfügbar war, rückstandsanalytisch untersucht werden. Die vorliegenden Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen bestätigten einerseits für die Projektjahre 2014 bis 2016, dass sich seit dem EU-Teilverbot der Verwendung der Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil für bestimmte Kulturarten und Anwendungen der Anteil exponierter Bienenstände signifikant reduziert hat, verglichen mit den Jahren 2009 bis 2012. Andererseits hat sich in Fällen aus der Periode Frühjahr bis Spätherbst – mit größtenteils zeitlich und mengenmäßig begrenzten Bienenverlusten – der Vergiftungsverdacht durch den Nachweis anderer bienengefährlicher Wirkstoffe zum Teil bestätigt, dies auch in Fällen von Verdacht auf Bienenfrevell.

Für Honigbienen sind mehrere Arten der Ernährung von Bedeutung. Einerseits das natürliche Trachtangebot, andererseits die Ergänzung dessen, was in diesem natürlichen Angebot fehlt und das, was der Mensch den Bienen als Ersatz für den gewonnenen Honig zur Verfügung stellt. Es konnte im Rahmen des Projektes gezeigt werden, dass Bienen je nach Jahreszeit und Landnutzung mit sehr einseitiger Pollennahrung auskommen müssen, die bekanntermaßen die Gesundheit der Honigbienen schädigen kann. Hieraus ergeben sich weitere Fragen über die Qualität der vor allem im Spätsommer vorherrschenden Blütenpollen zur Aufzucht gesunder und langlebiger Winterbienen. Der Mensch ist hier gefragt, so weit als möglich gegebenenfalls Abhilfe zu schaffen, indem beispielsweise für ein kontinuierliches und diverses Trachtangebot gesorgt wird.

Weitere Schwerpunkte des Projektes waren Laborversuche, die beweisen, dass bestimmte Insektizidkombinationen besonders stark wirken können und dass bereits während der Larvenentwicklung unterschiedliche Stressoren (zum Beispiel eine bakterielle Infektion und ein Insektizid) für die Bienen negativ zusammenwirken können. Dies führt zu einer stärkeren Verminderung der Lebensfähigkeit als dies durch die Addition der beiden Schädigungen zu erwarten wäre. Bienen reagieren auf durch Gift geschädigte Larven sehr ähnlich wie auf durch Infektionen geschädigte: sie beseitigen diese, was für die Völker einen Populationsverlust und für den Imker / die Imkerin einen Ertragsverlust darstellt.

Eine Besonderheit der Honigbienen ist ihre Sozialität, das Zusammenarbeiten und Zusammenleben verschiedener temporärer Kasten und Generationen. Dies geht einher mit einer ganz anderen Art des Immunsystems bei diesen Tieren. Basierend auf Vorarbeiten, welche den positiven Effekt einer „Impfung“ der Königin in Bezug auf die Krankheitsresistenz ihrer Nachkommen zeigten, konnte weiterhin gezeigt werden, dass sich die Königin auch selbst schützt, wenn sie im Volk von Ammen über deren kutikulares Kohlenwasserstoffmuster Information über Krankheiten im Stock erhält. Dies versetzt die Königin in die Lage, ihr eigenes Immunsystem zu aktivieren, bereits bevor sie selbst mit dem Krankheitserreger in Berührung gekommen ist.

Die Ergebnisse dieses Projektes legen nahe, sich in Österreich weiterhin intensiv mit der Wintersterblichkeit auseinanderzusetzen und hierbei ein großes Augenmerk auf die Bekämpfung der Varroamilbe samt den von ihr verbreiteten Viren, sowie auf bedarfsgerechte Nahrungsressourcen, zu richten. In einer nachhaltigen Reduktion der Wintersterblichkeit von Bienenvölkern liegt der größte Hebel zur Verringerung der hohen wirtschaftlichen Verluste in der Imkerei und somit zur Sicherung des Bienenbestandes und der Bestäubungsleistung durch Honigbienen für die darauf angewiesenen Wild- und Kulturpflanzen.

Karl Crailsheim, Projektleiter
Graz, am 24. Mai 2018

Danksagung

An erster Stelle danke ich allen Geldgebern, nämlich dem Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus sowie der *Biene Österreich*, den neun Bundesländern, der Universität Graz und der AGES für die finanzielle Unterstützung, die es ermöglichte, diese Untersuchungen im Rahmen des Projektes *Zukunft Biene* durchzuführen. Ein herzlicher Dank gilt den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern von *Zukunft Biene* am Institut für Zoologie und am Wegener Zentrum an der Karl-Franzens-Universität Graz, sowie der AGES für ihre ausgezeichnete Arbeit. Auch den nicht im Rahmen des Projektes finanzierten KollegInnen aus allen Häusern sei für ihre Unterstützung und ihre Ratschläge gedankt.

Bedanken möchte ich mich auch bei den MitarbeiterInnen des Forschungsservices der Karl-Franzens-Universität Graz für ihre kompetente Beratung in rechtlichen und administrativen Fragen. Ich bedanke mich im besonderen bei den MitarbeiterInnen des Bundesministeriums für Nachhaltigkeit und Tourismus für die Begleitung dieses Projekts.

Unser ganz spezieller Dank gebührt jedoch den unterstützenden Imkerinnen und Imkern für ihr außerordentliches Engagement. Ohne ihre aktive Mitwirkung hätten viele der hier präsentierten Untersuchungen, wie zum Beispiel die Erhebung der Winterverluste, die Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten sowie das lichtmikroskopische Analysieren von Pollenproben nicht durchgeführt werden können.

Herzlich sei auch unzähligen Kollegen und Kolleginnen aus Wissenschaft und praktischer Imkerei gedankt, die in vielen Gesprächen und Diskussionen die Qualität unserer Forschung positiv beeinflusst haben.

Die aus dieser Zusammenarbeit entstandenen Erkenntnisse zeigen das große Potential unseres kooperativen Ansatzes, den wir auch bei zukünftigen Untersuchungen weiterverfolgen sollten.

Karl Crailsheim
Projektleiter *Zukunft Biene*

Zusammenfassung

Statistische Kenngrößen des österreichischen Imkersektors

Tabelle: Entwicklung der Imkereiwirtschaft in Österreich (Daten der „Biene Österreich“ 2017)

Jahr	Anzahl Imker	Anzahl Völker	mittlere Völkerzahlen
2003	24421	327346	13,4
2006	23000	311000	13,5
2010	24451	367583	15,0
2011	24490	368183	15,0
2012	25099	376485	15,0
2013	25492	382638	15,0
2014	25277	376121	14,9
2015	26063	347128	13,3
2016	26609	354080	13,3

Modul 1 und 2: Zusammenfassung der Untersuchung der Wintersterblichkeit 2013/14 bis 2016/17 sowie epidemiologische Untersuchungen

In Österreich werden seit zehn Jahren die Winterverlusten von Honigbienenstöcken erfasst. Die Ergebnisse der Winter 2013/14 bis 2016/17 werden hier präsentiert. Die Verlusten der eingewinterten Stöcke reichen von 8,1% (Winter 2015/16) bis 28,4% (Winter 2014/15). Vom Winter 2013/14 bis zum Winter 2016/17 wurden über den gesamten Untersuchungszeitraum 5227 Datensätze betreffend 83.850 eingewinterten Bienenstöcken auf ihre Repräsentativität, die geografische Verteilung der Verluste, Begleitsymptome der Winterverluste und die imkerliche Betriebsweise hin untersucht. Besonderes Augenmerk lag auf dem Einfluss der Varroa-Behandlungsmethoden auf die Wintersterblichkeit.

Es konnte ein negativer Zusammenhang zwischen der Winterverlustrate und der Seehöhe der aufgestellten Stöcke gefunden werden. Ebenfalls negativ korreliert war die Betriebsgröße der Imkerei mit deutlich geringeren Verlusten bei Betrieben mit mehr als 50 Stöcken gegenüber solchen mit weniger als 20 Stöcken. Wanderimkerei bleibt ohne Einfluss auf die Winterverlustrate, jedoch stellen Mais, aber auch Raps und Buchweizen als Trachtpflanzen einen Risikofaktor dar. Im Untersuchungszeitraum neutral verhielten sich wabenhygienische Maßnahmen, wie das Entfernen oder Ersetzen alter, ehemals bebrüteter Waben durch neue. Bei der Varroabekämpfung wurde Ameisensäure als häufigste Methode im Sommer angewandt. Klare Vorteile fanden sich bei alleiniger Anwendung einer Ameisensäure-Langzeitbehandlung gegenüber einer alleinigen Ameisensäure-Kurzzeitbehandlung. Oxalsäure-Behandlung zur Restentmilbung blieb ohne Auswirkung auf den Überwinterungserfolg im jeweiligen Winter. Behandlung mittels Hyperthermie sowie eine einmalige Thymolbehandlung zeigten keine klaren positiven oder negativen Effekte auf die Verlusten im jeweiligen Winter. Die Bestimmung des Varroabefalls zahlte sich in drei von vier Wintern im Hinblick auf geringere Verlusten aus. Fraglich im Hinblick auf den Überwinterungserfolg bleibt die von über 60% der Teilnehmer angewandte Drohnenbrutentnahme. Die Anwendung von anderen biotechnischen Methoden (z.B. Fangwabe, Bannwabe oder totale Arbeiterinnenbrutentnahme) erwies sich vor allem in den zwei Wintern mit hohen Verlusten als positiv für den Überwinterungserfolg.

Die im Rahmen dieses Projektteils gesammelten Daten bildeten die Grundlage für die Untersuchungen des Moduls „Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit“. Hier konnte mittels komplexer Modellrechnungen gezeigt werden, dass die Wintersterblichkeit eine gewisse Korrelation mit den vorherrschenden klimatischen Bedingungen zeigt, so z.B., dass die mittlere Maximaltemperatur im Monat September mit erhöhten Verlustraten im dann folgenden Winter korreliert. Die Ergebnisse bieten jedoch nicht die Möglichkeit, anhand kurzfristiger Klimabeobachtungen Prognosen über zu erwartende Winterverluste abzugeben. Mittels hierarchischer Clusteranalyse erstellte Landnutzungscluster (wobei Cluster verschiedener Landnutzungen gebildet wurden), wurden mit den Winterverlusten in diesen Clustern in Bezug gesetzt; die Ergebnisse legen die Annahme nahe, dass in naturnaher Umgebung (Wald, Gebirge) gehaltene Bienenvölker geringere Winterverluste erleiden. Die Ergebnisse zeigen jedoch eine große Variationsbreite zwischen den unterschiedlichen Jahren, sodass ein genereller Zusammenhang von Clusterzugehörigkeit und Wintersterblichkeit über alle Jahre hinweg aus den Ergebnissen nicht abgeleitet werden kann.

Modul 3a: Beobachtungsstudie Sommer 2015 bis Frühjahr 2016

Ziel des Moduls 3a war es, an einer Stichprobe von 200 über Österreich verteilten Bienenständen durch Feldinspektion Informationen zur klinischen Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten zu gewinnen und die Völkerverluste während der Überwinterung 2015/16 zu erfassen. Dazu wurden die entsprechenden Stände insgesamt drei Mal untersucht und beprobt. Letztlich konnten so 188 Stände über den gesamten Versuchszeitraum begleitet werden.

Amerikanische Faulbrut wurde im Sommer 2015 auf 1,0%, im Herbst 2015 auf keinem Stand und im Frühjahr 2016 auf 0,5% der besuchten Stände gefunden. Die entsprechenden Werte auf Volksebene waren 0,2%, 0,0% und 0,1%. Sackbrutsymptome an der Bienenbrut waren beim ersten, zweiten und dritten Standbesuch bei 1,3%, 0,2% und 0,2% der Völker und auf 7,3%, 1,6% und 1,6% der Stände nachweisbar. Gleichermäßen wurden Kalkbrutsymptome bei 3,5%, 0,7% und 2,0% der Völker und auf 14,0%, 4,2% und 10,4% der Stände nachgewiesen. Europäische Faulbrut, Tropilaelapsmilben und der Kleine Bienenstockkäfer wurden nicht gefunden. Symptome der Varroose (Varroamilben auf Bienen sichtbar, Bienen mit verkrüppelten Flügeln, Varroamilben eingebaut in Zelldeckeln) wurden beim ersten und zweiten Standbesuch 2015 auf jeweils rund 22% der Bienenstände angetroffen, beim dritten Standbesuch im Frühjahr 2016 auf 8,7% der Stände.

Die Varroamilbe war – mit einer Ausnahme – auf jedem Bienenstand in den beprobten Völkern anzutreffen. Im September gemessene hohe Varroabefallswerte (> 3% Befall der Bienen) sind prognostisch ungünstig für den Überwinterungserfolg. Hierbei ist zu beachten, dass bei hohem Varroabefall (Krankheitsbild der Varroose) auch mit einem Befall durch das Flügelverkrüppelungsvirus zu rechnen ist.

Neben der Höhe des Varroabefalls gehören zu den statistisch signifikanten, den Überwinterungserfolg beeinflussenden Faktoren die Erfahrung des Imkers, das Alter der Königin, sowie die Volksstärke im Herbst. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Volk abstarb war umso höher, je weniger Erfahrung ein Imker hatte, je älter die Königin war und je schwächer ein Volk war.

Die Ergebnisse der Erhebungen zur Art und Durchführung der Varroabekämpfung zeigen die große Vielfalt eingesetzter Maßnahmen und deren unterschiedliche Anwendungszeitpunkte. Mehrheitlich setzen die Imker kombinierte Maßnahmen zur Varroabekämpfung ein. Bei den nicht-

medikamentösen Maßnahmen waren dies die Entnahme verdeckelter Drohnenbrut (knapp 70% der Betriebe), die totale oder teilweise Brutentnahme (37%) – zum Teil in Kombination mit einer Oxalsäureanwendung –, und in geringer Anzahl die Wärmebehandlung. Bei den medikamentösen Maßnahmen war Oxalsäure der am häufigsten eingesetzte Wirkstoff (98% der Betriebe), gefolgt von Ameisensäure (85%) und Thymol (23%). Andere Wirkstoffe wurden nur in Einzelfällen genannt. Die Behandlungskonzepte der ImkerInnen dieses Moduls ähneln den in der COLOSS-Studie in Modul 1 genannten Konzepten stark. Dies lässt darauf schließen, dass beide Studien, die durch unterschiedliche Datenerhebung zustande kamen, die typischen Behandlungskonzepte der österreichischen Imkerschaft abbilden.

Ameisensäure und Thymol kamen am häufigsten im Sommer zur Anwendung. Oxalsäure wurde überwiegend im Winter und in geringerem Umfang auch im Sommer eingesetzt. Auf 82% der Stände wurde die Oxalsäure durch Träufeln appliziert, auf 36% der Stände durch Verdampfung und nur selten durch Versprühen oder Vernebeln (7%). Der Einsatz der Ameisensäure erfolgte entweder als Kurzzeit- oder Langzeitanwendung mit verschiedenen Verdunstungssystemen. Nach Durchführung der Hauptentmilbung mit Ameisensäure-, Oxalsäure- oder Thymolpräparaten gab es beim zweiten Standbesuch im September 2015 keine signifikanten Unterschiede in den Medianwerten des Varroabefalls der Bienenproben zwischen diesen Behandlungsgruppen. Somit wurde mit diesen drei eingesetzten Wirkstoffen das Ziel einer starken Absenkung des Varroabefalles vor der Entstehung der Winterbienen erreicht.

Bei einer Langzeitanwendung der Ameisensäure zur Hauptentmilbung hatte die verabreichte Menge einen Einfluss auf den Varroabefall der Bienen im darauffolgenden Herbst. Die Wirksamkeit der Ameisensäure war bei Langzeitbehandlung signifikant besser, wenn über 100 mL pro Volk eingebracht worden waren, verglichen mit einer Menge von unter 100 mL pro Volk. Bei der Kurzzeitanwendung bestand dieser mengenbezogene Unterschied nicht. Es war wichtiger, dass genug Ameisensäure in einem kurzen Zeitraum in das Volk eingebracht wurde. Hier reduzierte sich der Varroabefall der Bienen im Herbst mit steigender Menge der pro Woche eingebrachten Ameisensäure signifikant. Das heißt, um eine entsprechende Wirkung zu erzielen, ist bei Kurzzeitanwendung eine Mindestmenge von 25-50 mL pro Volk und Woche erforderlich.

Modul 3b: Zusammenfassung der Posthoc-Studie

Ziel der Posthoc-Studie war es, mit Hilfe retrospektiver Untersuchungen an Probenmaterial (Bienen-, Bienenbrotproben) aus über den Winter abgestorbenen bzw. überlebenden Bienenvölkern, kritische Überlebensparameter und Risikofaktoren (Krankheitserreger, Parasiten, mögliche Rückstände bienengefährlicher Wirkstoffe) für Völkerverluste zu identifizieren. Die Grundlage dafür bildeten die im Zuge der Standvisiten an den lebenden Völkern gezogenen Bienen- und Bienenbrotproben des zweiten Standbesuches der Beobachtungsstudie im Herbst 2015, da dieser zeitlich am nächsten zur Einwinterungsperiode lag.

Von 915 Völkern aus 1980 eingewinterten Völkern lag sowohl ein vollständiges Probenset (Herbst: Bienenprobe für Varroabefallsermittlung, Bienenprobe für Krankheitserreger, Bienenbrotprobe für Rückstandsanalysen; Frühling: Bienenprobe für Krankheitserreger) als auch die Information über den Überwinterungserfolg vor. Aus diesen 915 Völkern wurden 210 Völker (60 über den Winter abgestorbene und 150 überlebende) für die Posthoc-Studie ausgewählt. Dabei wurden alle 60 toten Völker mit vollständigem Probensatz in die Auswertungen aufgenommen, um ein detailliertes Bild des Gesundheitszustandes der abgestorbenen Völker kurz vor der Einwinterung zu erhalten. Die untersuchte Gruppe von 150 überlebenden Völkern wurde nach der Auswinterung mit Hilfe

eines Zufallsgenerators aus den insgesamt 855 überlebenden Völkern mit vollständigem Probensatz ausgewählt.

Die Proben wurden auf Nosemabefall hin untersucht, bei positiven Proben wurde molekularbiologisch zwischen *Nosema ceranae* und *N. apis* differenziert.

Für die drei Virusspezies ABPV, CBPV und DWV wurde sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Analyse der Proben vom zweiten Besuch durchgeführt. DWV-positive Proben wurden in die beiden Virustypen DWV-A und DWV-B differenziert.

Die rückstandsanalytische Untersuchung des Bienenbrotes umfasste ein breites Spektrum von rund 300 Analyten und ermöglichte die Ermittlung einer allfälligen Exposition der Bienenvölker gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Bioziden, Tierarznei- oder Schädlingsbekämpfungsmitteln und Altlasten aus lange zurückliegenden Anwendungen.

Nosema ceranae war die mit Abstand vorherrschende Nosema-Art. Sie war in allen 42 positiven Proben (20%) vom zweiten Besuch und allen 42 positiven Proben (26%) vom dritten Besuch vorhanden. *N. apis* war nur in jeweils einer der Proben vom zweiten und vom dritten Besuch nachweisbar. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen über den Winter abgestorbenen und erfolgreich überwinterten Völkern im Anteil der Nosema-positiven Proben im vorangegangenen Herbst (17% der toten Völker; 21% der lebenden Völker). Auch in der Sporenmenge pro Biene bestand kein signifikanter Unterschied zwischen toten und lebenden Völkern.

Wie die Virusuntersuchungen der Bienenproben vom Herbst 2015 auf ABPV, CBPV und DWV zeigten, bestanden im Anteil befallener Völker beträchtliche Unterschiede. ABPV war das am häufigsten nachweisbare Virus, gefolgt von DWV und CBPV.

Für ABPV gab es zwischen toten und überlebenden Völkern keine signifikanten Unterschiede im Anteil positiver Proben. Für DWV war der Anteil positiver Proben bei den über den Winter abgestorbenen Völkern signifikant größer als bei den überlebenden Völkern. Für CBPV war bei den überlebenden Völkern der Anteil positiver Proben höher als bei den abgestorbenen. Worauf dieses unerwartete Ergebnis zurückzuführen ist, lässt sich aus den Daten des untersuchten Probenkollektivs nicht ableiten.

Mehrfachinfektionen durch mehr als einen der drei untersuchten Erreger oder *Nosema ceranae* kamen in 90 der 210 untersuchten Bienenproben vor. Der Anteil der abgestorbenen Völker war bei jedem Pathogen in der Paarung mit DWV am höchsten und in der Paarung mit CBPV am geringsten. Die mit Abstand höchsten Winterverluste (47%) wurden bei der Paarung von DWV und ABPV erreicht. Dabei starben jene Völker signifikant öfter ab, die eine Doppelinfektion mit ABPV und DWV aufwiesen als jene, die nur mit ABPV infiziert waren.

Bei den Untersuchungen auf chemische Substanzen (Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel, Stoffe aus Altlasten, etc.) an 210 Bienenbrotproben aus Einzelvölkern waren in 42 Proben (20%) keine Rückstände der rund 300 untersuchten Analyten nachweisbar (20% aller lebenden Völker, 22% aller toten Völker ohne Rückstände). In den positiven Proben wurden insgesamt 48 Analyten nachgewiesen (Tabelle 3.40 mit Angabe der Wirkungstypen). Die drei am häufigsten nachgewiesenen Wirkstoffe waren in absteigender Reihenfolge Fludioxonil (62 positive Proben), Piperonylbutoxid (57 positive Proben) und tau-Fluvalinat (43 positive Proben). Mit Abstand folgten dann Esfenvalerat (22 positive Proben) und Thiacloprid (21 positive Proben). Bei dieser Reihenfolge überrascht, dass Piperonylbutoxid in 57 Proben nachgewiesen wurde. Da dieser Stoff zusammen mit Pyrethrum oder Pyrethroiden in Pflanzenschutzmitteln, aber auch in Biozidprodukten eingesetzt wird, stellt er einen Expositionsmarker dar, auch wenn Pyrethrum in keiner

Probe und Pyrethroide nur in einer geringen Zahl der untersuchten Proben nachgewiesen werden konnten.

Von den vier unter das EU-Teilverbot für bestimmte Kulturarten und Anwendungsformen fallenden Wirkstoffen waren Clothianidin und Thiamethoxam in keiner Probe nachweisbar, Imidacloprid in sieben und Fipronil in zwei Proben (jeweils eine Probe pro Stand). Damit waren von den 210 untersuchten Völkern 7 Völker (= 3%) einer Exposition durch Imidacloprid und 2 Völker (= 1%) einer Exposition durch Fipronil ausgesetzt. Von den Metaboliten dieser Wirkstoffe war der Imidacloprid-Hydroxy-Metabolit in einer Probe nachweisbar und der Imidacloprid-Olefin-Metabolit in drei Proben. An Clothianidin-Metaboliten waren TZMU in 13 Proben und TZNG in einer Probe nachweisbar. Der Fipronilmetabolit Fipronilsulfon war in keiner Probe nachweisbar. Vereinzelt waren im Bienenbrot auch Analyten nachweisbar, die in der EU nicht oder nicht mehr als Wirkstoffe für Pflanzenschutz Zwecke zugelassen sind (Bioallethrin, Biphenyl, Brompropylat, Chlorfenvinphos, DDD, DDT, Dichlofluanid, Permethrin, Propargit, Quinalphos und 4,4-Methoxychlor). Als mögliche Kontaminationsquellen kommen in diesen Fällen andere Einsatzgebiete (z. B. Holzschutz, Parasiten- und Ungezieferbekämpfung) oder Altlasten in Frage. Dies zeigt, dass ein systematisch durchgeführtes Bienenbrotmonitoring – zusätzlich zu einer umfassenden rückstandsanalytischen Untersuchung von Vergiftungsverdachtsfällen – ein hilfreiches Werkzeug für die Ermittlung der aus unterschiedlichen Quellen stammenden Pestizidexposition darstellt.

In einem getesteten multivariaten Modell war im Untersuchungszeitraum der Posthoc-Studie der Bienenbefall mit Varroamilben im Herbst 2015 der Haupteinflussfaktor für die Wintersterblichkeit 2015/16.

Bei der Gesamtinterpretation der Ergebnisse der Posthoc-Studie ist sowohl in Bezug auf die Prävalenzen der untersuchten Krankheitserreger und Parasiten als auch in Bezug auf die ermittelten Rückstände chemischer Substanzen (Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel, Stoffe aus Altlasten, etc) zu berücksichtigen, dass sich die Daten nur auf die Erhebungsperiode Herbst 2015 beziehen. In der darauf folgenden Überwinterungsperiode wurden die niedrigsten Winterverluste seit Beginn der Datenaufzeichnung 2007/08 registriert. Um Unterschiede zwischen den Jahren zu erfassen, wären über mehrere Jahre laufende Untersuchungsprogramme erforderlich. Dies gilt auch für die Frage einer Gleichgewichtsverschiebung im Auftreten unterschiedlich virulenter Virusstämme im Verlauf der Jahre, bzw. in Abhängigkeit des Varroabefalles und der durchgeführten befallsmindernden Maßnahmen.

Zusammenfassend ergab die Posthoc-Studie im Großen und Ganzen ein positives Bild des Gesundheitszustandes der untersuchten Bienenvölker in Österreich. Die in der Posthoc-Studie vertretenen Völker waren frei von Vergiftungssymptomen und die Mehrzahl auch frei von klinischen Krankheitssymptomen.

In den 210 untersuchten Bienenproben, die im Herbst 2015 entnommen worden waren, war das für Bienen schädliche Flügelverkrüppelungsvirus (DWV) mit deutlich geringerer Häufigkeit nachweisbar als in früheren Erhebungen aus Österreich, bzw. europäischen Vergleichsdaten. Da eine Infektion mit dem DWV eng mit dem Auftreten von Varroose – dem Symptombild bei hohem Varroabefall – verknüpft ist, zeigt dieses Ergebnis, dass ein Großteil der Imker und Imkerinnen der Beobachtungsstudie die Varroamilbe im Jahr 2015/16 gut im Griff hatte. Ein weiteres Indiz dafür sind auch die geringen Winterverluste dieser Periode.

Zwischen der Belastung des Bienenbrotes mit den untersuchten chemischen Substanzen (Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel, Stoffe aus Altlasten, etc.) im Herbst 2015 und nachfolgenden Winterverlusten konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Die

Pestizidbelastung lag in den meisten Fällen deutlich unterhalb der bei Vergiftungsverdacht gemessenen Vergleichswerte.

Da sich sowohl in der Posthoc- als auch der Beobachtungsstudie die erfolgreiche Kontrolle der Varroamilbe als ausschlaggebender Faktor für die erfolgreiche Überwinterung der Bienenvölker herauskristallisiert hat, ergibt sich daraus die Möglichkeit, durch gezielte, schwerpunktmäßige Schulungsmaßnahmen Verbesserungen bei der Wirksamkeit der Varroabekämpfung zu erzielen und so Winterverlusten vorzubeugen.

Modul 3c: Zusammenfassung der Fälle von Vergiftungsverdacht

Honigbienen können inner- und außerhalb des Bienenstockes mit verschiedenen chemischen Stoffen in Kontakt kommen. Diese können aus der Anwendung von Tierarzneimitteln (z. B. Varroabekämpfungsmitteln), Pflanzenschutzmitteln oder Bioziden herrühren, aber auch aus früher gebräuchlichen und zugelassenen Anwendungen stammen, deren Spuren bis heute in der Umwelt nachweisbar sind. In der vorliegenden Arbeit werden alle diese Stoffe unter dem Begriff „Pestizide“ zusammengefasst. Im Zuge ihrer Flug- und Sammelaktivitäten können Bienen auf direktem Weg, aber auch indirekt über das Sammelgut (Nektar, Honigtau, Pollen, Wasser), damit in Kontakt kommen.

Inhalt dieses Moduls war es, gemeldete Bienenschäden und Völkerverluste mit Vergiftungsverdacht auf Pestizidrückstände zu untersuchen. In Fällen von Winter- und Spätsommer-/Herbstverlusten, bzw. in Fällen von Bienenfrevel erfolgten in der AGES (Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz) zusätzliche Gesundheitsuntersuchungen auf Varroa, Nosema und Amerikanische Faulbrut. Betroffene Imker konnten derartige Fälle an die AGES melden und die Proben kostenlos untersuchen lassen. Die Rückstandsanalysen erfolgten bei PTRL Europe GmbH (Deutschland). Mit den verwendeten Methoden wurden rund 300 Stoffe erfasst, darunter auch ausgewählte Metaboliten von insektiziden Wirkstoffen.

Das Untersuchungsmaterial (Bienen, Bienenbrot, Pollenhöschen, Waben- bzw. Mittelwandproben) wurde von den Imkern eingesandt oder durch Behörden oder MitarbeiterInnen der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES im Zuge von Standbesuchen entnommen.

Im Projektzeitraum 2014-2016 wurde für 145 Bienenstände Vergiftungsverdacht gemeldet, davon für 6 Stände Frevelverdacht (= boshafte Sachbeschädigung). Von 122 Ständen konnten insgesamt 194 Proben auf Rückstände untersucht werden. Für 23 Stände war dies nicht möglich, da entweder kein Untersuchungsmaterial verfügbar war, bzw. Varroose oder Amerikanische Faulbrut als Ursachen der Völkerverluste ermittelt worden waren.

Die Mehrzahl der Vergiftungsverdachtsmeldungen kam aus Ober- und Niederösterreich, Steiermark, Burgenland und Kärnten. Aus Tirol, Vorarlberg und Wien langten vereinzelt Meldungen ein, aus Salzburg kam keine Meldung. Zeitlich zuzuordnen waren die meisten Meldungen dem Zeitraum Frühjahr bis Sommer (87 Stände), gefolgt von der Überwinterungsperiode (37 Stände), der Spätsommer-Herbstperiode (15 Stände) und den Frevelverdachtsfällen (6 Stände).

Bei den gemeldeten Vergiftungsverdachtsfällen aus den Perioden Frühjahr bis Herbst zeigten sich als Schadsymptome meist zeitlich und mengenmäßig begrenzte Bienenverluste, die Einbußen beim Honigertrag und der Erstellung von Jungvölkern zur Folge hatten, aber nur selten zu Völkerverlusten führten. Die in verschiedenen Kulturarten unter das EU-Teilverbot fallenden bienengefährlichen Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid und Fipronil wurden in einer geringen Zahl von Proben nachgewiesen. In diesen Fällen ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ein Zusammenhang des aufgetretenen Bienenschadens mit der nachgewiesenen Exposition anzunehmen. Thiamethoxam war in keiner Probe nachweisbar. Damit hat sich im Mehrjahres-

vergleich der Anteil exponierter Bienenstände für diese vom EU-Teilverbot erfassten Wirkstoffe von 93% im Jahr 2009 (Ergebnisse Projekt „MELISSA“) auf die im Projekt „Zukunft Biene“ für die Jahre 2014-2016 ermittelten Werte zwischen 16% und 19% signifikant reduziert.

Neben diesen genannten Stoffen waren in einer geringen Zahl von Proben einige weitere bienengefährliche Insektizide (z. B. lambda-Cyhalothrin, Chlorpyrifos-ethyl, Cypermethrin, u.a.), sowie Fungizide, Herbizide, einige Metaboliten und Varroazide in unterschiedlichen Häufigkeiten und Konzentrationen nachweisbar.

Die am häufigsten in den 194 untersuchten Proben (Einzel- bzw. Sammelproben) nachgewiesenen Stoffe waren in absteigender Reihenfolge: Thiacloprid (42 x), tau-Fluvalinat (29 x), Piperonylbutoxid (25 x), Tebuconazol (22 x), Azoxystrobin (18 x), Biphenyl (16 x), Cyprodinil (14 x), Myclobutanil (11 x) und Spiroxamin (10 x). Alle anderen Stoffe wurden in weniger als 10 Proben nachgewiesen. Das Spektrum der nachgewiesenen Wirkstoffe ist ein Hinweis darauf, dass diese aus unterschiedlichen Expositionsquellen stammen (aktuell bzw. in früheren Jahren eingesetzte Tierarzneimittel, Pflanzenschutzmittel, Biozide, bzw. ubiquitär vorhandene Schadstoffe).

In Fällen von vermutetem Bienenfrevl wurden zum Teil schwere Totalverluste von Bienenvölkern beobachtet, die rückstandsanalytisch auch zum Teil bestätigt werden konnten. Die in derartigen Fällen nachgewiesenen bienengefährlichen Stoffe (z. B. lambda-Cyhalothrin, Dichlorvos, Chlorpyrifos-ethyl, Cypermethrin, Cyfluthrin), bzw. der zum Teil in hoher Konzentration gefundene Synergist Piperonylbutoxid, sind bzw. waren Bestandteile von Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln (Bioziden). Auf welche Art die Bienenvölker damit in Kontakt gekommen sind, bzw. damit in Kontakt gebracht wurden, ist nicht bekannt.

Während der Überwinterungsphase wurden bei den mit Vergiftungsverdacht gemeldeten Fällen meist hohe Völkerverluste gemeldet. Die Rückstandsuntersuchungen verliefen in den meisten Fällen negativ und bienengefährliche Wirkstoffe waren nur in Einzelfällen nachweisbar. Die Gesundheitsuntersuchungen ergaben häufig Varroose – in wenigen Fällen auch Amerikanische Faulbrut – als sehr wahrscheinliche Ursache für das Absterben der Völker.

Gesamt betrachtet zeigen die Ergebnisse dieses Projektteiles klar, dass Völkerverluste und Bienenschäden zu unterschiedlichen Zeiten auftreten und auch unterschiedliche Ursachen haben können. Um in Zukunft eine Verbesserung der Situation für die Bienen und eine Reduktion der Völker- und Bienenverluste zu erreichen, sind – je nach ermittelter Ursache und deren Gewichtung – auch unterschiedliche Ansätze zur Lösung auftretender Probleme erforderlich.

Modul 4: Zusammenfassung der Ergebnisse „Individuelle Schadtoleranz“

In Modul 4 (Individuelle Schadtoleranz), das sich auf die Bereiche „kumulierte Effekte subletaler Vergiftungen“, „physiologische Leistungsprüfung“ und „Entgiftungsmaßnahmen“ erstreckt, wurde 2014-2017 mit den Bienenwesen Larven, Arbeiterinnen und Königinnen, sowie mit Hummeln gearbeitet. Es wurden ausgewählte chemische Substanzen (z.B. Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel, etc.) auf ihre Wirkung auf die Tiere getestet; auch wurden kumulierte Effekte, wie sie bei Gegenwart von Pestiziden und Krankheitskeimen zu erwarten sind, erforscht. Die Anzahl der ausgewählten Pestizide blieb, um den Rahmen des Projektes nicht zu sprengen, gering, was bei den Interpretationen der hier vorgestellten Ergebnisse berücksichtigt werden muss.

Die Überlebensraten von Larven, welche Dosen unterhalb der LD₅₀ ausgesetzt waren, ergab eine stringent erscheinende kumulative Toxizitätswirkung der drei im Mix verabreichten Pestizide alpha-Cypermethrin, Imidacloprid und Dimethoat. Für frisch geschlüpfte Bienen konnte dieser Effekt nicht gezeigt werden, wohl aber für Hummeln.

Ferner konnte gezeigt werden, dass die Futteraufnahme von Bienen bei Darbietung von pestizid-versetztem Futter (alpha-Cypermethrin, Dimethoat und Imidacloprid als Mix) reduziert ist. Flugleistungsexperimente mit den drei untersuchten Substanzen alpha-Cypermethrin, Imidacloprid und Dimethoat ergaben keine signifikante Reduktion der Flugleistung.

Im Konditionierungsexperiment des sogenannten Rüsselstreckreflexes (Proboscis-Extensor-Reflexes, PER) wurde nach Aufnahme einer während der Konditionierungsphase verabreichten Pestizid-Mischung (alpha-Cypermethrin, Imidacloprid und Dimethoat) in unserem Versuchsaufbau keine signifikant reduzierte Lernleistung im Hinblick auf den nach erfolgter Konditionierung bei dann angebotener reiner Zuckerlösung zu erwartenden Rüsselstreckreflex (PER) beobachtet.

Das gleichzeitige Vorhandensein eines der Insektizide Clothianidin oder Dimethoat und einer Infektion (Amerikanische Faulbrut) hat einen signifikanten Einfluss auf die Sterblichkeit von Bienenlarven dergestalt, dass die Letaleffekte der beiden Stressoren im Zusammenspiel mehr als nur additiv wirken. Für tau-Fluvalinat konnte dieser Zusammenhang nicht gezeigt werden. Bei Clothianidin- oder Dimethoat-exponierten Larven fanden sich deutliche Veränderungen in der zellulären Immunantwort, also eine niedrigere Gesamtzahl an Hämozyten und eine veränderte Population differenzierter Hämozyten, wobei letztere für die Rekrutierung einer Immunantwort in Bienenlarven verantwortlich sind.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass kutikuläre Kohlenwasserstoffmuster bei Bienen, die mit definierten Mengen ausgewählter Pestizide behandelt wurden und denen gleichzeitig mit Lipopolysaccharid eine Bakterieninfektion vorgetäuscht wurde, gegenüber gänzlich unbehandelten Kontrollbienen verändert sind und dass die Veränderung dieser Oberflächensubstanzen via Ammenbienen an die Königin „herangetragen“ wird, sodass die Königin daraufhin immunrelevante Gene aktiviert. Hierbei handelt es sich um einen Mechanismus, der bislang noch unbekannt war. In diese Richtung geht auch ein Versuch, in dem gezeigt werden konnte, dass Bienenlarven, welchen definierte Pestiziddosen verabreicht wurden, ein verändertes Kohlenwasserstoffmuster auf ihrer Kutikula zeigen, was bei Ammen im Stock ein Ausräumverhalten gegenüber diesen behandelten Larven auslöst. Dieser Effekt wird auch durch orale Gabe von Lipopolysaccharid bei den Larven beobachtet.

Der Nachweis von Pestiziden in Gelée royale erwies sich als experimentell sehr schwierig. Es wurden verschiedene Extraktionsprotokolle auf ihre Brauchbarkeit für den Spurennachweis ausgewählter Pestizide in 1-10 mg Bienengewebe oder Gelée royale untersucht. Ziel war es, aufgenommene Pestizide im Körper der Biene in einzelnen Geweben oder im Drüsensekret zu identifizieren und zu quantifizieren, um ihre Weitergabe von der Amme an Larven oder die Königin zu verfolgen. Jedoch konnte der Nachweis von in die Hämolymphe aufgenommenem Clothianidin, welches dann via Kopfdrüsen möglicherweise ins Sekret (Gelée royale) übergehen könnte, mit den hier eingesetzten Methoden nicht erbracht werden, was nicht gleichbedeutend mit der Nichtexistenz eines solchen Weges ist.

Eine Schutzwirkung des Gelée royale, wenn es pestizidhaltiger Kost zugesetzt wird, konnten wir experimentell nicht nachweisen.

Eine Weitergabe von Imidacloprid oder Imidaclopridbruchstücken (inkl. Metabolite) an unbegattete Königinnen durch Ammenfütterung konnte mittels Radioaktivitätsnachweis unter Verwendung von radioaktiv markiertem Imidacloprid gezeigt werden.

Modul 5: Zusammenfassung „Trachtpflanzendiversität“

Honig- und Wildbienen brauchen für die Versorgung mit Eiweiß und Fett Blütenpollen, den sie im Flugkreis von den dort wachsenden Pflanzen sammeln. Pollen ist jedoch von unterschiedlicher Qualität und Wertigkeit im Hinblick auf seinen Protein-, Lipid-, und Vitamingehalt und den Anteil an essentiellen Aminosäuren, sowie hinsichtlich der Verdaulichkeit. Für Österreich liegen bislang keine flächendeckenden Untersuchungen zur Kenntnis der saisonal und regional von Bienen genutzten Pollenquellen und deren Diversität vor. Ziel des Projektmoduls ist es, diese Lücke zu schließen, um zu diesen für die Volkentwicklung und Bienengesundheit wichtigen Fragen grundlegende Informationen zu erhalten. Wir haben uns dabei zu einer Einbindung von ImkerInnen als freiwillige ProbennehmerInnen, sogenannten „Citizen Scientists“ oder „BürgerwissenschaftlerInnen“, entschlossen.

Die Pollenanalyse geschah zunächst grob über die Farbzurordnung eingetragener Pollenladungen zu fest vorgegebenen Terminen im Jahreslauf, in einer zweiten Ebene durch lichtmikroskopische Beurteilung und botanische Identifizierung pollenliefernder Pflanzen, die jedoch nicht in jedem Falle bis auf Artniveau erfolgen konnte.

Beim ersten Sammeltermin dominierte klar der Pollen von Weidenarten. Beim 2. Termin war Pollen von Weiden und Apfel, Birne und Weißdorn, aber auch Raps und Roßkastanie stark vertreten. Beim 3. dominierte Ahorn, gefolgt von Raps, anderen Kreuzblütlern und verschiedenen Hahnenfußverwandten. Ab dem 4. Sammeltermin wurden Weißklee, Wegerich, Senf und Rotklee vermehrt als Pollenquellen genutzt. Die Wegericharten und der Weißklee blieben dann bis zum 7. bzw. 8. Sammeltermin dominant. Ab dem 7. Termin wurden auch verschiedene spät blühende Korbblütler, Senf, Phacelia und Buchweizen stark von den Bienen gesammelt. Zum Saisonabschluss am 9. Termin war in beiden Jahren Efeupollen dominant.

Von speziellem Interesse waren dabei die im Spätsommer und noch bis weit in den Herbst hinein blühenden Begrünungen mit *Phacelia tanacetifolia*, *Sinapis* spp., *Fagopyrum* spp. und anderen Vertretern aus der Familie der Brassicaceae, die von Teilen der Imkerschaft kritisch gesehen werden im Hinblick auf eine Verlängerung der Bruttätigkeit und sich daraus ergebender Probleme mit der Bienengesundheit (Verlängerung der Vermehrungsperiode der Varroamilbe, Ruhr, *Nosema*) und den Überwinterungserfolg. Hier zeigte sich, dass es sowohl Bienenstände gibt, bei denen der Pollen der genannten Pflanzen in der Spätsommerpollenversorgung eine Rolle spielt, als auch Bienenstände, wo dies nicht der Fall ist.

Von besonderem Interesse in der Bewertung eines Standortes hinsichtlich der Pollendiversität ist der Vergleich zwischen Land und Stadt. Diese Fragestellung hilft uns beim Verständnis, welche Landnutzungstypen in der heute stark vom Menschen geprägten Natur die Honigbiene und andere Bestäuber am besten mit Pollen versorgen. Unsere Untersuchung liefert aufgrund der relativ wenigen in Städten untersuchten Bienenstände nur exemplarische Ergebnisse, die diese Vermutung, dass urbane Aufstellungsorte gute Pollenhabitate darstellen, stützen würden.

Im jedem Falle muss auch die Qualität der einzelnen Pollen beachtet werden, da der Pollen einzelner Pflanzen, etwa jener der Edelkastanie, einen deutlich höheren Nährwert für Honigbienen besitzen als etliche andere Pollenarten. Die laut unseren Untersuchungen am häufigsten annähernd in Reinform im Sammelgut vorkommenden Pollensorten sollten auf ihren Nährwert für Bienen untersucht werden. Dies könnte dann den Imkerinnen und Imkern die Möglichkeit geben, bei Bedarf gegenzusteuern und für ein entsprechend ausgewogenes Nahrungsangebot zu sorgen.

Summary

Descriptive statistics of the Austrian beekeeping sector

Table: Development of the Austrian beekeeping sector (data: „Biene Österreich“ 2017)

year	number beekeepers	number colonies	mean number colonies
2003	24421	327346	13,4
2006	23000	311000	13,5
2010	24451	367583	15,0
2011	24490	368183	15,0
2012	25099	376485	15,0
2013	25492	382638	15,0
2014	25277	376121	14,9
2015	26063	347128	13,3
2016	26609	354080	13,3

Modul 1 and 2: Summary on winter colony losses from 2013/14 to 2016/17, including epidemiological studies

Winter honeybee colony losses in Austria have been monitored for ten years. The results of the period from 2013/14 to 2016/17 are here presented. The loss rates of overwintering colonies vary from 8.1% (winter 2015/16) up to 28.4% (winter 2014/15). From 2013/14 to 2016/17, a total of 5227 data sets regarding 83,850 winterized bee colonies were examined with respect to representativeness, the geographic distribution of losses, accompanying symptoms of the losses and beekeeping practices. A special focus was put on the influence of the respective type of *Varroa* management on winter losses.

A negative correlation was found between the winter colony loss rate and the sea level at which colonies were located. Also a negative correlation was found for size of the beekeeping operation with significantly lower losses in apiaries with more than 50 colonies in comparison to apiaries maintaining less than 20 colonies. Transhumance is without influence on the loss rate. However maize, but also rapeseed and buckwheat as nectar and pollen sources represent risk factors for colony losses. During the observation period, measures of hive hygiene, such as removing or replacing dark old, formerly used (brood)combs by new ones appeared to have no influence on colony loss rates. For *Varroa* treatment, formic acid was the most frequently used method in summer. Clear advantages were found with an exclusive formic acid long-term treatment as compared to an exclusive formic acid short-term treatment. Oxalic acid treatment applied during broodless times was found to be without effect on the overwintering success within the actual wintering period. Treatment through application of hyperthermia as well as a one-time thymol treatment did show neither a positive nor negative effect on winter colony loss rates. The assessment of the prevailing severity of *Varroa* infestation was effective with regard to reduced loss rates in three out of four observed winter periods. Regarding overwintering success, the benefit of drone brood removal, which was applied by over 60% of the participants, gave no clear significant results. The application of further methods (e.g. trap-comb-method or the total removal of worker brood) showed a positive effect on the overwintering success especially in the two winter periods with high loss rates.

Data collected in this module were the basis for further examinations carried out in the module “Epidemiologic investigation of winter colony losses”. Using complex mathematic modeling, it was possible to demonstrate that winter death rate showed a certain correlation with prevailing climate conditions, e.g., that a high average maximum temperature in September correlates with an elevated winter loss rate in the following winter. The results, however, do not allow predictions regarding expected colony losses based on short-term climate observations. Land use clusters derived from hierarchical cluster analysis (where clusters of different land use were formed) were correlated with winter losses within these clusters. The results suggest that apiaries kept in a habitat close to nature (e.g., forest or mountains) have lower winter losses of colonies. The results also indicate a wide range of variation between different years that make it impossible to deduce a more general correlation between cluster affiliation and winter death rate over the whole observation period.

Module 3a: Surveillance study summer 2015 – spring 2016

The goal of module 3a was to obtain information on the clinical prevalence of the most important honeybee diseases through field inspection of 200 apiaries all over Austria in conjunction with an assessment of the respective colony loss rates during the winter 2015/16. For this, the respective apiaries were altogether three times inspected and sampled. Eventually, 188 apiaries were observed during the project’s entire duration.

American foulbrood was found in summer 2015 in 1.0% of the apiaries, in fall 2015 in none and in spring 2016 in 0.5% of the apiaries. The respective numbers on colony level were 0.2%, 0.0% and 0.1%, respectively. Sac brood symptoms in bee brood were found at the first, second and third visitation in 1.3%, 0.2% and 0.2% of the colonies, respectively, and in 7.3%, 1.6% and 1.6% of the apiaries, respectively. Accordingly, chalk brood symptoms were detected in 3.5%, 0.7% and 2.0% of the colonies and 14.0%, 4.2% and 10.4% of the apiaries, respectively. European foulbrood, *Tropilaelaps* mites and the small hive beetle were not found. Symptoms of varroosis (*Varroa* mites visible on honeybees, bees with deformed wings, *Varroa* mites found in cell cappings) were found in 2015 at the first and second visit in ca. 22% of the apiaries, at the third visit in spring 2016 in 8.7% of the apiaries.

With one exception, *Varroa* was found in all sampled apiaries. High *Varroa* infestation rates in September (> 3% infestation of bees) show unfavorable prognostic significance with regard to overwintering success. It has to be taken into account that a high *Varroa* infestation rate (*Varroosis*) is in general accompanied by infection with deformed wing virus.

Besides the severity of *Varroa* infestation, the overwintering success is influenced statistically significantly by the experience of the beekeeper, the age of the queen and the strength of the colony in fall. The poorer the experience of the beekeeper, the older the queen and the weaker the colony was, the higher was the probability that a colony died during winter.

The results of the surveys concerning type and implemented *Varroa* management strategies document a great variety of applied measures and different timing of application. By the majority, beekeepers chose a combination of biotechnical and medicinal measures for *Varroa* control. These comprised the excision of capped drone brood (in ca. 70% of apiaries), the total or partial removal of brood (37%) — partially in combination with oxalic acid treatment — and, to a lower extent, thermotherapy. Among the drug-based measures, oxalic acid was the most commonly used active ingredient (98% of apiaries) followed by formic acid (85%) and thymol (23%). Other active

ingredients were only reported from isolated cases. Treatment concepts of beekeepers resemble strongly those reported from the COLOSS study in module 1. This indicates that both studies, which each follow different protocols for data collection, portray similarly the typical treatment concepts used among Austrian beekeepers.

Formic acid and thymol were used most frequently in summer. Oxalic acid was predominantly used in winter and, to a lesser extent, in summer. In 82% of the apiaries, oxalic acid was applied through thickling in 36% of the apiaries by vaporization and in 7% of the apiaries by spraying or nebulization. Formic acid treatment was performed either as short-term or long-term application using various types of evaporators. After the main Varroa treatment carried out using formic or oxalic acid or thymol, there were no significant differences observed in the median of Varroa infestation rate of bees in September 2015 among hives belonging to different treatment groups. Hence, by using either one of the above-mentioned three treatment methods, the goal of a strongly reduced Varroa load before the emergence of winter bees was achieved.

In the case of long-term treatment with formic acid as the main control measure after the end of the honey producing period, the applied total amount showed an influence on Varroa infestation rate in the following fall season. The efficiency of formic acid long-term treatment was significantly higher when more than 100 mL/hive were applied as compared to an amount of less than 100 mL/hive. In the short-term application scenario, this difference could not be observed. It was more important that enough formic acid was applied within a short time. In this case, the Varroa count in fall decreased significantly with the amount of formic acid applied per week, i.e., to achieve a respective effect, a minimum amount of 20-50 mL formic acid per hive is required for a short-term treatment.

Module 3b: Summary of the post-hoc study

The goal of the post-hoc study was to identify crucial survival and risk factors (pathogens, parasites, potential residues of substances dangerous to bees) in colonies that did or did not survive the observed winter period by using retrospective investigations of previously sampled material (bee and bee bread samples). This way, causative factors of colony losses were identified and statistically assessed. The investigation was done on the basis of bee and bee bread samples that were collected during the second visitation of the surveillance study in fall 2015 in the apiaries at, because this was the date closest to the overwintering period and within the period of winter bee production.

For altogether 915 colonies out of 1980 overwintering colonies, a complete sample set (fall: bee sample for assessment of *Varroa* load, bee sample for pathogens, bee bread sample for residue analysis; spring: bee sample for pathogens) together with the respective information of overwintering status was obtained. From these 915 colonies, 210 colonies, among which 60 had not and 150 had survived the winter, were selected for the post-hoc analyses. All 60 dead colonies with complete sample sets were included in the analyses to gain a detailed picture of the health status before wintering for the colonies which died off during winter. The investigated 150 surviving colonies were assigned through randomization from the overall 855 surviving colonies with complete sampling sets.

Samples were investigated for *Nosema* spores by light microscopy. Positive samples were tested by PCR to differentiate between *N. ceranae* and *N. apis* using tools.

For the three virus species ABPV, CBPV and DWV, a qualitative and a quantitative analysis of the samples was carried out using the samples from the second visit. Samples positive with DWV were differentiated into the virus strains DWV-A and DWV-B.

The residue analysis of bee bread samples comprised a wide array of about 300 analytes and allowed to determine a possible exposure of the colonies towards pesticides (plant protection products, biocides, veterinary drugs, and ubiquitous contaminants from the past).

Nosema ceranae was by far the dominant *Nosema* species found. It was detected in all 42 *Nosema*-positive samples (20%) of the second visit and in all 42 positive samples (26%) of the third visit. *N. apis* was detected only once in each of the samples from the second and third visit, respectively. With regard to positive finding of *Nosema*, there was no significant difference observed between colonies that died off during winter and colonies that were successfully overwintered (17% of the dead colonies; 21% of the living colonies, respectively). Also, a significant difference between dead and surviving colonies in the spore load per bee could not be detected.

Virus evaluations of bee samples taken in fall 2015 for their ABPV, CBPV and DWV load indicated considerable differences in the proportion of infected colonies. ABPV was the most common detected virus, followed by DWV and CBPV.

For ABPV no significant difference in the proportion of positive samples was found between dead and surviving colonies. For DWV the proportion of positive samples in the dead colonies was significantly higher than in the surviving colonies. For CBPV, the proportion of positive samples was higher among the surviving colonies. The reasons for this unexpected finding can not be deduced from the datasets of the investigated sample set.

Multiple infections with more than one of the three assessed virus species or *Nosema ceranae* occurred in 90 of the 210 investigated bee samples. The proportion of the dead colonies was for each pathogen in co-infection with DWV highest and in co-infection with CBPV lowest. By far highest winter losses (47%) were found for combined DWV and ABPV infections. In this case, colonies with concurrent ABPV and DWV infection had significantly higher mortality rates than those solely infected with ABPV.

In the analyses targeting approximately 300 chemical substances (plant protection products, biocides, veterinary drugs, ubiquitous contaminants from the past, etc) of 210 bee bread samples from single colonies, 42 colonies (20%) were found residue-free (20% of all living colonies, 22% of all dead winter colonies). In the samples with positive samples altogether 48 analytes were verified (table 3.40 with reference to mode of action). The three most commonly found active ingredients were (in descending order) fludioxonil (62 samples found positive), piperonyl butoxide (57 samples found positive) and tau-fluvalinate (43 samples found positive). By far, esfenvalerate (22 samples found positive) and thiacloprid (21 samples found positive) followed. In this order, it is surprising that piperonyl butoxide could be detected in 57 samples. Hence, this compound, which is used in combination with pyrethrum or pyrethroids in some plant protection or biocidal products, can be considered as an indicator for exposure, even when pyrethrum was not and pyrethroids were only detected in a small number of the investigated samples.

Of all four active ingredients, which according to the EU directive fall under the partial ban for their use in certain crops and applications, clothianidin and thiamethoxam were not found in any sample, imidacloprid was found in seven and fipronil in two samples. This amounts to an exposure rate among the 210 investigated colonies of 3% found for imidacloprid and 1% for fipronil,

respectively. Of the metabolites of these active ingredients, imidacloprid-hydroxy metabolite was found in one sample and the imidacloprid-olefin metabolite was found in three samples. From the clothianidin metabolites, TZMU was found in 13 samples and TZNG in one sample. The fipronil metabolite fipronil sulfone was not found in any of the samples. Occasionally, the following active ingredients that are not or not any longer approved for plant protection were detected in bee bread: bioallethrin, biphenyl, bromopropylate, chlorfenvinphos, DDD, DDT, dichlofluanide, permethrin, propargite, quinalphos and 4,4-methoxychlor. Potential sources for these contaminations may be found in other fields of application (e.g., wood protection, anti-parasitic use or pest control) or from ubiquitous contaminants from the past. These results indicate that a bee bread monitoring for pesticides – combined with the investigation of supposed bee poisoning incidences – is a helpful tool to evaluate the pesticide exposure of honeybees from different sources. During the investigation period of the post-hoc study, by using a tested multivariate model, Varroa mite infestation rate as assessed in fall 2015 was found to be the primary driver of winter colony losses 2015/16.

For the overall interpretation of the results of the post-hoc study both with regard to the prevalence of pathogens and parasites as well as to residues of chemical substances (plant protection products, biocides, veterinary drugs, ubiquitous contaminants from the past, etc), it has to be taken into account that the data refer only to the investigation period in fall 2015. In the following winter period 2015/16, the overall lowest winter losses since the beginning of data gathering in 2007/08 were registered. To quantify differences between the different years, long-term survey programs would be required. These would be also necessary to assess changes in the balance of differently virulent virus strains over the years and their interdependence with Varroa status and respective Varroa control treatments.

In summary the post-hoc study showed on the whole a positive picture of the health state of the investigated bee colonies in Austria. The bee colonies investigated during the post-hoc study were free of symptoms of intoxication and the majority was also free of disease symptoms.

In the investigated 210 bee samples that were taken in fall 2015, the harmful deformed wing virus (DWV) was significantly less detectable than in earlier surveys and also as compared to other European comparative data. Because a DWV infection correlates strongly with the occurrence of varroosis, these results indicate that the majority of beekeepers of the surveillance study was able to keep Varroa well under control during the bee season of 2015/16. A further sign for this were the low winter losses during this period.

It was not possible to detect a significant correlation between residues of the analysed chemical substances (plant protection products, biocides, veterinary drugs, ubiquitous contaminants from the past, etc) in bee bread in fall 2015 and subsequent winter losses. Pesticide concentrations were found in most cases far below the values found in cases of suspected bee poisoning.

The finding that successful Varroa control constitutes a most crucial factor for overwintering success of bee colonies paves the way to implement improvements in Varroa control through aimed training measures and hence to reduce winter colony losses.

Module 3c: Summary of the cases of suspected bee poisoning incidents

Honey bees can come into contact with various chemical substances inside and outside the hive. These compounds may originate from the application of veterinary drugs (e.g. Varroa control agents), plant protection products or biocides, but may also originate from formerly used and approved applications whose traces are still detectable in the environment. Here, all these

substances are collectively named pesticides. Bees are exposed to these compounds directly through flight and foraging activity or indirectly through contact with collected materials (nectar, honey dew, pollen, water).

The purpose of this module was to investigate reported cases of bee damage and colony losses with suspected bee poisoning. In cases of winter and late summer/fall losses and in cases of intentional poisoning, additional health checks (*Varroa*, *Nosema* and American foulbrood) were carried out at AGES (Department of apiculture and bee protection). Affected beekeepers were able to report such cases to the AGES and have their samples examined without cost. The residue analyses were carried out at PTRL Europe GmbH (Germany). Altogether a total of ca. 300 analytes were included in residue analyses, among which were also metabolites of insecticides.

Material for examination (bees, bee bread, pollen pellets, combs and wax foundations) were sampled by beekeepers and also by employees of the abovementioned department of the AGES during visits of apiaries.

In the project period 2014-2016, suspicion of poisoning was reported from 145 apiaries, 6 of which were suspected of intentional poisoning (malicious damage to property). A total of 194 samples from 122 stands (apiaries) were examined for residues. For 23 apiaries, this was not possible because either no sample material was available or varroosis or American foulbrood, respectively, were found to be the cause of colony losses.

The majority of reports of suspected poisonings came from Upper or Lower Austria, Styria, Burgenland and Carinthia. From Tyrol, Vorarlberg and Vienna only occasional reports were sent, no report came from Salzburg. Most of the reports were made during spring to summer (87 beekeeping operations) followed by the overwintering period (37 apiaries), the period of late-summer to fall (15 apiaries) and the cases of suspicion of intentional poisoning (6 beekeeping operations).

In the reported cases with suspicion of poisoning during spring and fall, the damage symptoms consisted mostly of bee losses, which were limited temporally and quantitatively and led more to a reduction in honey yield and problems with the production of young colonies rather than to colony losses. The bee-hazardous active ingredients clothianidin, imidacloprid and fipronil, which are covered by the EU partial ban in various crops, were detected in a small number of samples. In these cases, it is almost certain that there is a close connection between the bee damage which has occurred and the detected exposure. Thiamethoxam was not detectable in any sample. Thus, in a multiannual comparison, the proportion of exposed apiaries for these active substances covered by the EU partial ban has been significantly reduced from 93% in 2009 (results of the "MELISSA" project) to values between 16% and 19%, which were found in the course of the "Future Bee" project for the years 2014-2016.

In addition to the above-mentioned substances, a small number of samples contained several other insecticides (e. g. lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos-ethyl, cypermethrin, etc.) as well as fungicides, herbicides, some metabolites and varroazides in varying frequencies and concentrations.

The most frequently detected substances in the 194 samples (single or pooled samples) examined were in descending order: Thiacloprid (42 x), tau-fluvalinate (29 x), piperonylbutoxide (25 x), tebuconazole (22 x), azoxystrobin (18 x), biphenyl (16 x), cyprodinil (14 x), myclobutanil (11 x) and spiromamine (10 x). All other substances were detected in less than 10 samples. The range of active substances detected is an indication that they originate from different sources of exposure

(currently or in previous years used veterinary drugs, plant protection products, biocides, or ubiquitously present pollutants).

In cases of suspected intentional bee poisoning, partially severe total losses of bee colonies were observed, some of which could be confirmed by residue analysis. The bee-hazardous substances detected in such cases (e. g. lambda-cyhalothrin, dichlorvos, chlorpyrifos-ethyl, cypermethrin, cyfluthrin) and the synergist piperonylbutoxide, found in some cases in high concentration, are or were components of plant protection products and pesticides (biocides). It is not known how the bee colonies have come into contact with it, or how they have been brought into contact with it.

During the hibernation period, the reported cases with suspected poisoning were usually reported to have suffered high colony losses. In most cases, the residue tests were negative and active substances dangerous to bees could only be detected in individual cases. The health examinations often revealed varroosis – in a few cases also American foulbrood – as a very probable cause for the dying of the colonies.

Viewed as a whole, the results of this module of the project clearly show that colony losses and bee damage occur at different times and can have different causes. In order to achieve an improvement of the situation for bees in the future and a reduction of colony and bee losses, different approaches to the solution of occurring problems are also necessary, depending on the determined cause and its weighting.

Module 4: Summary of the results “individual tolerance to damage”

In module 4 (individual tolerance to damage), which comprises cumulated effects at exposure levels below the LD₅₀, physiological performance and detoxification, larvae, worker and queens as well as bumble bees were investigated. The effect of selected chemical substances (plant protection products, biocides, veterinary drugs, etc.) on the animals were tested and cumulated effects, which become apparent during co-exposure of pesticides and pathogens, were investigated. The overall number of the selected pesticides had to be kept to a small number to not surpass project resources, and it has to be taken into account that interpretations of the here presented results are valid only for the respective active ingredients.

Tests concerning the survival rates of larvae exposed to pesticide doses below the LD₅₀ demonstrated a compelling cumulative toxicity effect of the three pesticides alpha-cypermethrin, imidacloprid and dimethoate when given in a mix. For newly emerged bees, this effect could not be shown, however it was observed in bumble bees.

We further were able to demonstrate that the food intake of bees from pesticide-containing food is reduced. Experiments to evaluate the flight performance upon exposure to the three above-mentioned active ingredients did not point to a significant reduction of flight performance.

Another experiment targeted the proboscis extensor reflex. In our experimental setup, a pesticide mix (alpha-cypermethrin, imidacloprid and dimethoate) that bees consumed during the conditioning phase of this experiment did not lead to a significant reduction of learning behavior as assessed through the observation of the PER upon the offering of sugar solution after conditioning.

Co-exposure of either clothianidin or dimethoate with an infectious disease (American foulbrood) present at the same time did show a significant increase on mortality of bee larvae from which can be concluded that the lethal effects of both stressors act on the mortality rate in a more than additive, rather synergistic, manner. For fluvalinate, this relation could not be shown. During these

experiments, for clothianidin- or dimethoate-exposed larvae, significant changes in the cellular immune response were detected, i.e., an overall lower number of hemolytic and an altered population of differential hemocytes. The latter are crucial for the recruitment of an immune response in bee larvae.

It could be further shown that cuticle hydrocarbon patterns of worker bees undergo significant changes (as compared to naïve control bees) when bees were fed with a defined quantity of selected pesticides and at the same time exposed to lipopolysaccharide in order to mimic a bacterial infection. These altered hydrocarbon patterns, which during the contact of worker bees with the queen are recognized by the queen and launch a gene activation of immune relevant genes in the queen. The underlying mechanism remains still elusive. Another experiment along similar lines demonstrated that bee larvae, which were exposed to a defined quantity of selected pesticides display an altered hydrocarbon pattern, which elicits their removal from the colony by nurse bees. This effect can also be observed after oral administration of lipopolysaccharide to larvae.

The verification of pesticides contained in royal jelly posed large experimental difficulties. Several different extraction protocols were tested for their suitability for trace analysis of selected pesticides in 1–10 mg of bee tissue or royal jelly. The ultimate goal was to track and quantify ingested pesticides in an individual bee, ideally in specific tissue or in gland secretions in order to trace the potential transfer of pesticides from nurse bees to larvae or to the queen. However, evidence for the carry-over of orally ingested clothianidin into the hemolymph, which from the hemolymph would pass into the head glands and their secretions (royal jelly) could not be achieved with the methods used herein. This does not mean that such a delivery route as described does not exist.

A presumably protective effect of royal jelly when added to pesticide-containing food could not be shown in our experiments.

In an experiment using radioactively labelled imidacloprid, the passing on of imidacloprid or imidacloprid fragments (including metabolites) through nurse bees to unmated queens could not be demonstrated.

Module 5: Summary “diversity of pollen sources”

For their provision with protein and lipids, honeybees and wild bees rely on the consumption of floral pollen, which they collect from plants growing in reachable flight distance. Pollen, however, is of different quality and value with regard to its content of protein, lipids or vitamins, essential amino acids and also regarding its digestibility. For Austria, nationwide investigations in honeybees concerning the seasonally and regionally utilized pollen sources that aimed at elucidating their diversity have never been carried out. The goal of this module was to close this gap in order to obtain basic information in this crucial issue, which has far-reaching implications on colony development and bee health. To achieve this goal, a citizen scientist project has been launched that relied on sampling of pollen samples through volunteer beekeepers.

At first, pollen analysis was done via color assignment of harvested pollen pellets at fixed dates during season, secondly, an optical microscopic evaluation and the botanical identification of polliferous plants were carried out, however, the latter could not always be conducted to species level.

At the first sampling date, willow pollen clearly dominated. At the second sampling date, pollen from willow, apple and pear trees, as well as hawthorn dominated, but also rapeseed and horse chestnut were strongly represented. At the third date, maple dominated, followed by rapeseed,

other cruciferous plants and various ranunculaceous plants. From the fourth sampling date on white clover, plantain, mustard and red clover were more and more utilized as pollen sources. The plantain species and white clover remained the dominant pollen providing plants until the seventh and eighth sampling date. From the seventh sampling on, various late-blooming Compositae, mustard, *Phacelia* and buckwheat were collected in significant amounts. At the ninth collection date, which took place at the end of the season, pollen of ivy was dominant.

It was of special interest to assess the relevance of plants blooming in late summer to fall, which are often planted for greening, e.g., *Phacelia tanacetifolia*, *Sinapis* spp., *Fagopyrum* spp. and other cruciferous plants, and which are critically viewed by many beekeepers with regard to their breeding-season prolonging effect on honeybees with all negative consequences on bee health (extension of the propagation phase of *Varroa* mites, dysentery and *Nosema*) and the overwintering success. It was found that there exist both apiaries for which the pollen of the abovementioned plants plays a role in the late summer pollen supply and apiaries, where this is not the case.

A special focus was laid on the assessment of differences in pollen quality between urban and rural environments. This question should lead us to an understanding of which land use type in a mostly man-made environment provides the optimal pollen supply for bees and other pollinators. Because of the lack of urban investigation sites, this study only led to exemplary results, which confirmed our hypothesis. Whether urban structures, as it is occasionally claimed, are good habitats for pollen supply could not be answered due to a lack of investigation sites in urban areas.

The quality of the collected pollen has to be assessed in each individual case because the pollen of plants such as horse-chestnut have a significantly higher nutritional value for honeybees than several other pollen species. Therefore, pollen of plant species that is collected at a certain time as the dominant pollen and often collected in almost pure form, should be investigated towards its nutritional value for honeybees. This could enable beekeepers to react on shortcomings by providing adequately balanced nutritional supply.

(1) Wintersterblichkeit

1.1 Zusammenfassung der Untersuchung der Wintersterblichkeit 2013/14 bis 2016/17

In Österreich werden nun seit zehn Jahren die Winterverlusten von Bienenvölkern erfasst. Die Ergebnisse der letzten vier Winter 2013/14 bis 2016/17 werden hier, im Rahmen des Projekts „Zukunft Biene“, präsentiert. In diesem Zeitraum konnten wir sowohl den niedrigsten als auch den höchsten je gemessenen Völkerverlust im Winter verzeichnen. Die Verlusten der eingewinterten Völker reichen dabei von 8,1% (Winter 2015/16) bis 28,4% (Winter 2014/15). Vom Winter 2013/14 bis zum Winter 2016/17 haben wir über den gesamten Untersuchungszeitraum 5227 Datensätze betreffend 83.850 eingewinterten Bienenvölkern erhalten. Anhand der gewonnenen Daten haben wir die Winterverluste dieser vier Jahre genauer untersucht. Die Antworten wurden auf ihre Repräsentativität überprüft und Analysen zur geografischen Verteilung der Verluste, zu den die Winterverluste begleitenden Symptomen, sowie zur Betriebsweise durchgeführt. Ein wichtiger Faktor war außerdem die Analyse der Behandlungsmethoden, welche zur Bekämpfung von *Varroa destructor* eingesetzt wurden und der Einfluss dieser Methoden auf die Wintersterblichkeit.

Wir konnten feststellen, dass die Seehöhe der Betriebe über alle vier Winter hinweg einen signifikanten Einfluss auf die Verlustrate hatte. Über den gesamten Untersuchungszeitraum verzeichneten Betriebe in höheren Lagen eine signifikant geringere Wintersterblichkeit. 2016/17 fanden wir einmalig und gegen den Trend bei Betrieben, welche unter 200m Seehöhe liegen, geringere Verluste als bei Betrieben, welche zwischen 201m und 400m Seehöhe liegen. Der Transport von Bienen, die sogenannte Wanderimkerei, kann in allen vier Jahren nicht als Risikofaktor für den Überwinterungserfolg angesehen werden. Jedoch stellen in allen vier Jahren die zur Verfügung stehenden Trachtpflanzen einen Risikofaktor dar, insbesondere die Trachtpflanzen Raps und Buchweizen in drei der vier Jahre und die Trachtpflanze Mais in allen vier Jahren. Die Größe der Betriebe war vom Winter 2013/14 bis zum Winter 2015/16 ausschlaggebend für den Überwinterungserfolg: Größere Betriebe mit mehr als 50 Völkern verzeichneten signifikant geringere Verluste als Betriebe mit weniger als 20 Völkern. Bei der Wabenhygiene, das heißt dem Entfernen alter Brutwaben und Ersetzen dieser durch neue Waben, konnte über den Untersuchungszeitraum hinweg kein klares Muster bezüglich Winterverlustrate erkannt werden. In der Bekämpfung der Varroamilbe wurde die Ameisensäure am häufigsten als Methode im Sommer angewandt. Es zeigten sich in allen Jahren klare Vorteile bei alleiniger Anwendung einer Ameisensäure-Langzeitbehandlung gegenüber einer alleinigen Ameisensäure-Kurzzeitbehandlung. Bei der Oxalsäure-Behandlung zur Restentmilbung, die in Österreich fast flächendeckend eingesetzt wird und deren Wirkung erst im darauffolgenden Winter zu erkennen ist, konnten wir keinen Einfluss auf den Überwinterungserfolg im jeweiligen Winter feststellen. Die Hyperthermie sowie eine einmalige Thymolbehandlung zeigten keine klaren positiven oder negativen Effekte auf die Verlusten im jeweiligen Winter. Eine Bestimmung des Varroabefalls der Völker in mehreren Monaten eines Bienenjahres brachte in drei von vier Wintern Erfolge in Form von geringeren Winterverlusten. Die Anwendung von anderen biotechnischen Methoden erwies sich in zwei Wintern, Wintern mit hohen Verlusten, als positiv für den Überwinterungserfolg. Fraglich bleibt die von über 60% der Teilnehmerinnen und Teilnehmern angewandte Drohnenbrutentnahme. Eine Drohnenbrutentnahme war im Winter 2016/17 sogar von höheren Verlusten begleitet und in den anderen Jahren nicht für einen signifikant besseren Überwinterungserfolg ausschlaggebend.

Die im Rahmen dieses Projektteils gesammelten Daten bilden die Grundlage für die Untersuchungen des Moduls „Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit“.

1.2 Einleitung

Die Zahl der natürlichen Bestäuber (Wildbienen, Hummeln, Schmetterlinge, Schwebfliegen) nimmt in Westeuropa zunehmend ab. Vermutet wird, dass dieser Rückgang mit dem Verlust von Habitaten, dem Einsatz von Pestiziden, der Umweltverschmutzung, der Ausbreitung von Parasiten und Pathogenen sowie dem Klimawandel zusammenhängt (Biesmeijer et al., 2006; Cameron et al., 2011; vanEngelsdorp et al., 2011; Cornman et al., 2012; Goulson, 2013; Steinhauer et al., 2014; van der Zee et al., 2014; Clermont et al., 2015a, 2015b; Woodcock et al., 2016). Für die für den Menschen so wichtige Honigbiene *Apis mellifera* konnte auch der Einfluss des Menschen durch die Betriebsweise (Krankheitsprophylaxe und -bekämpfung) auf Völkerverluste nachgewiesen werden (Jacques et al., 2017). So ist die Honigbiene aufgrund der Stärke ihrer Völker, der Zucht- und Transportmöglichkeiten an den Ort des gewünschten Einsatzes nicht nur ein verlässlicher und gezielt einsetzbarer Bestäuber von Kulturpflanzen, sondern sie übernimmt zunehmend auch die Aufgabe, die Artenvielfalt der Wildpflanzen zu erhalten. Ihre Bestäubungsleistung wird weltweit jährlich auf einen finanziellen Wert von 153 Milliarden Euro geschätzt (Gallai et al., 2009). Somit ist die Biene nach dem Rind und dem Schwein das dritt wichtigste Tier für die menschliche Ernährung (Kearns et al., 1998).

Im letzten Jahrzehnt hatten besonders die USA immer wieder mit extremen Winterverlusten von Bienenvölkern zu kämpfen. Mehrere Jahre in Folge haben dort etwa 30% der eingewinterten Völker nicht überlebt (vanEngelsdorp et al., 2007, 2008, 2010, 2011; Steinhauer et al., 2014; Lee et al., 2015a). Es häufen sich die Fälle, in denen die eindeutigen Gründe für das Massensterben nicht festgestellt werden können. Die Ursachen für das Bienensterben werden als vielfältig und komplex angenommen und eine Kombination von mehreren Faktoren scheint der Auslöser für dieses Phänomen zu sein (Moritz et al., 2010; Brodschneider & Crailsheim, 2013; Steinhauer et al., 2014). In den USA spricht man von „colony collapse disorder“, kurz CCD (vanEngelsdorp et al., 2009; Williams et al., 2010). Im deutschsprachigen Raum wird CCD auch als „Bienen-Verschwindkrankheit“ bezeichnet (Flügel, 2015). Die Symptome sind: wenige adulte Bienen in den Völkern, verdeckelte Brut kann aber vorhanden sein, es finden sich aber keine toten Bienen in und um die Völker (vanEngelsdorp et al., 2009).

Verluste von Bienenvölkern sind kein Phänomen der letzten Jahre. Schon seit Beginn der Bienenhaltung vor etwa 7000 Jahren in Mesopotamien gibt es Überlieferungen von krankheitsbedingten Völkerverlusten (Flügel, 2015). Die ersten ausführlicheren Schriften über die Haltung der Biene stammen aus Griechenland und dem Römischen Reich. Zu dieser Zeit gab es bereits Anweisungen zur Bienenhaltung und Vorgehensweise bei Erkrankungen. Bis ins 17. Jahrhundert sind im deutschsprachigen Raum keine Aufzeichnungen über Bienenverluste bekannt. Erst der Wunsch von Teilen der Bevölkerung, die Bienenhaltung zu verbessern, sorgte dafür, dass Bienenkrankheiten, wie etwa die Faulbrut oder Ruhr, dokumentiert wurden. Völkerverluste, die nicht auf Pathogene zurückzuführen sind, wurden während der industriellen Revolution durch die Optimierung der Beuten sowie Züchtung der Honigbiene weitestgehend reduziert. Dies, sowie der Fortschritt der Bakteriologie zu Beginn des 20. Jahrhunderts, und etwas später die Möglichkeit Viren nachzuweisen, ermöglichte erstmals die Erforschung von Krankheitserregern, welche für hohe Bienenverluste verantwortlich sind. Im Laufe des 20. Jahrhunderts wurde eine Vielzahl von Massensterben von Bienenvölkern verzeichnet, ohne dass jedes Mal die genaue Ursache bekannt war. Als erstes großes Massensterben wurde 1906 jenes auf der englischen Insel Wight („Isle of Wight Disease“) dokumentiert (Neumann & Carreck, 2010; Flügel, 2015).

Ein Massensterben von Honigbienenvölkern im Winter mit Verlusten von bis zu dreißig Prozent über mehrere Jahre in Folge – wie in den USA – ist bislang, mit Ausnahme der Winter 2011/12 und 2014/15, in Österreich nicht aufgetreten. Seit einigen Jahren werden jedoch auch in Europa immer wieder hohe Winterverluste von Bienenvölkern verzeichnet (Chauzat et al. 2016). In Österreich erfolgte die Erhebung der Verluste seit 2008 durch das Zoologische Institut der Karl-Franzens-Universität Graz im Rahmen des Forschungsnetzwerkes COLOSS (prevention of honey bee COlony LOSSes). Seit der Überwinterungsperiode 2013/14 erfolgen diese Erhebungen im Rahmen des Projektes „Zukunft Biene“ unter Einhaltung der von COLOSS etablierten und immer weiter angepassten Standards. Diese standardisierte Erhebung der Daten über das Bienensterben im Winter ermöglicht zusätzlich zur Analyse der Winterverluste in Österreich auch internationale Vergleiche (Brodschneider et al. 2016).

Die Erhebung der Winterverluste erfolgt anhand des im Rahmen von COLOSS erarbeiteten Fragebogens: ImkerInnen in ganz Österreich werden auf freiwilliger Basis und auf Wunsch anonym zur Zahl ihrer eingewinterten Völker, deren Standort sowie zum Völkerverlust befragt. Zudem werden auch Fragen zur Betriebsweise, Behandlung der Völker gegen die Varroa-Milbe und zu ökologischen Faktoren (etwa zum Trachtangebot) gestellt. Diese Vorgehensweise, auch als Citizen Science oder Bürgerbeteiligung bezeichnet, erlaubt die Gewinnung großer Datensätze, und stellt nur eine der im Rahmen von „Zukunft Biene“ getätigten Maßnahmen dar. In weiteren Untersuchungen im Rahmen von „Zukunft Biene“ wurden ausgewählte Völker auch Inspektionen durch geschulte Experten unterzogen und aufwändige Untersuchungen von Probenmaterial durchgeführt (siehe Modul 3 „Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten“).

Im internationalen Vergleich waren die Verluste in Österreich in den vergangenen Jahren, mit Ausnahme der Winter 2011/12 und 2014/15, gering bis durchschnittlich (van der Zee et al., 2012, 2014). In den ersten vier Jahren der vom Zoologischen Institut durchgeführten Untersuchungen lagen sie zwischen 9,3% und 16%. Verluste dieser Größenordnung können durch Nachzucht im Sommer kompensiert werden. Im Winter 2011/12 verloren die österreichischen Imker und Imkerinnen jedoch 25,9% ihrer eingewinterten Völker (Brodschneider & Crailsheim, 2013) und im Winter 2014/15 sogar 28,4%. Als Ursachen für die hohe Wintersterblichkeit werden Pathogene, allen voran die parasitische Milbe *Varroa destructor*, durch den Menschen ausgebrachte Pestizide, mangelhafte Ernährung durch ein einseitiges oder zeitlich verkürztes Trachtangebot, sowie die unzureichende Betreuung durch den Menschen, aber auch sozioökonomische Faktoren vermutet (Genersch et al., 2010; Budge et al., 2015a, 2015b; Goulson et al., 2015; Lee et al., 2015a; Moritz & Erler, 2016; Tsvetkov et al., 2017; Woodcock et al. 2017). Weitere Gründe können außerdem Verluste von Königinnen, Probleme mit Königinnen – etwa aufgrund von Schädigungen durch Neonicotinoide (Williams et al., 2015; Dussaubat et al., 2016; Wu-Smart & Spivak, 2016) – oder schlichtweg das Verhungern von Völkern über den Winter sein. Eine einfache, alleinige Ursache für die Winterverluste ist also sehr selten auszumachen. Vielmehr sind die Ursachen auch in Österreich komplex und vielfältig und somit in ihrer Bedeutung schwer einzuschätzen (Brodschneider et al., 2010; Moritz et al., 2010; Potts et al., 2010; Brodschneider & Crailsheim, 2013; Staveley et al., 2014; Döke et al., 2015; Goulson et al., 2015).

Ein Parasit, welcher seit den 1980er Jahren für Völkerverluste in Österreich und Deutschland verantwortlich gemacht wird, ist die aus Asien eingeschleppte, ektoparasitische Milbe *Varroa destructor* (Rosenkranz et al., 2010; Genersch et al., 2010). Die Analyse der von den ImkerInnen durchgeführten Behandlungen gegen diesen Risikofaktor ist daher von großer Bedeutung, um Verluste zu reduzieren. Ursprünglich war nur die östliche Honigbiene *Apis cerana* von diesem

Parasiten befallen. Heute ist die Varroamilbe beinahe weltweit – mit Ausnahme einiger Gebiete im Norden Europas und einigen Inseln – verbreitet (Dahle, 2010; Brodschneider & Crailsheim, 2011).

Die Vermehrung von *Varroa destructor* findet in verdeckelten Drohnen- und Arbeiterinnenbrutzellen statt, als Nahrung der Milbe dient die Hämolymphe und der Fettkörper der Larven und adulten Bienen. Nach dem Schlupf der Biene betreibt die Milbe Phoresie. Das bedeutet, dass *Varroa destructor* die adulte Biene als Transportmittel benutzt, um in neue Brutzellen oder gar entfernt liegende Bienenvölker zu gelangen. Die Parasitierung der Brut führt unter anderem zu einem Gewichtsverlust, welcher sich auf den späteren Paarungserfolg von Drohnen auswirkt, außerdem kann sich die Lebensspanne von Arbeiterinnen verkürzen. Der Befall von Sammlerinnen beeinflusst das Lernvermögen und das Heimflug-Verhalten (Kralj & Fuchs, 2006; Kralj et al., 2006; Rosenkranz et al., 2010). Die betroffenen Bienen leiden zudem unter Orientierungsschwierigkeiten, was möglicherweise der Verbreitung der Milbe dient. Zudem wird der Aufbau wichtiger Proteinreserven, die für den Überwinterungserfolg entscheidend sind, erschwert (Amdam et al., 2004). Durch die Parasitierung mit der Varroamilbe wird durch eine Immunsuppression die Vermehrung von Viren bei Sekundärinfektionen erleichtert. Am besten bekannt ist die durch Varroose begünstigte Infektion mit dem Deformed Wing Virus (DWV, Flügeldeformationsvirus), welche sich durch die stark verkümmerten Flügel und verkürzten Abdomina (Hinterleibe) der Bienen auszeichnet (Rosenkranz et al., 2010). Bienenvölker, in denen dieses Virus nachgewiesen wurde, waren schwächer, das heißt sie hatten weniger mit Bienen besetzte Waben und Brut als nichtbefallene Völker (Budge et al., 2015a). Mit DWV infizierte adulte Bienen zeigen eine verkürzte Lebensspanne, ein jüngeres Sammelalter und eine verkürzte Sammelzeitspanne (Benaets et al., 2017). Aber auch die Übertragung anderer Viren steht in Zusammenhang mit der Varroamilbe (Traynor et al., 2016).

Apis mellifera hat mit dem ursprünglichen Wirt, *Apis cerana*, nur aggressives Verhalten als Abwehrstrategie gegenüber dem Parasiten gemein, wenngleich das bei der westlichen Honigbiene *Apis mellifera* geringer ausgeprägt ist. Unterschiede zwischen den beiden Arten zeigen sich etwa im Hygiene-Verhalten und, bei *Apis cerana*, der weitgehenden Limitierung des Befalls auf Drohnenbrut (Rosenkranz et al., 2010).

Fehlende oder mangelhaft vom Imker durchgeführte Behandlung gegen *Varroa destructor* führt zumeist zu einer Schwächung oder sogar zum Verlust des Volkes innerhalb von zwei bis drei Jahren (Rosenkranz et al., 2010). Die Bekämpfung des Parasiten basiert entweder auf biotechnischen Maßnahmen (zum Beispiel Entnahme von verdeckelter Drohnen- oder Arbeiterinnenbrut, Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung), Einsatz zugelassener Tierarzneimittel auf Basis organischer Säuren (Ameisen-, Oxal-, Milchsäure), ätherischer Öle (Thymol, Eucalyptol, Menthol, Kampfer) und Acariziden aus verschiedenen Wirkstoffgruppen. Je nach chemischen Eigenschaften der eingesetzten Stoffe (fett- bzw. wasserlöslicher Wirkstoff) kann es dabei zur Beeinflussung der Gesundheit des Volkes kommen, aber auch zu einer ungewollten Ansammlung der Stoffe in Honig und Wachs (Rosenkranz et al., 2010). Entscheidend für den Erfolg der Behandlung ist der Zustand des Volkes (mit bzw. ohne verdeckelte Brut), die Art und der Zeitpunkt der jeweiligen Varroabehandlung (Brodschneider & Crailsheim, 2013; van der Zee et al., 2014).

Neben der Varroamilbe existieren in Österreich noch andere Schädlinge, die der Gesundheit der Völker zusetzen. Zu erwähnen ist unter anderem das Mikrosporidium *Nosema* spp., das in den Arten *N. ceranae* und *N. apis* in Österreich nachgewiesen wurde. Dieser Einzeller befällt die Epithelzellen des Mitteldarms adulter Tiere und wirkt dort als intrazellulärer Parasit, der Dysenterie, eine Entzündung des Darms mit einhergehender Diarrhö, auslöst. Die durch *Nosema* spp.

ausgelöste Krankheit wird als Nosemose bezeichnet. Weitere Bedrohungen sind Bakterien, die Amerikanische Faulbrut (*Paenibacillus larvae*) oder Europäische Faulbrut (*Melissococcus plutonius*) auslösen, Pilze (*Ascosphaera apis*, *Aspergillus flavus*), Amöben (*Malpighamoeba mellificae*), weitere Arthropoden wie die Tracheenmilbe (*Acarapis woodi*) und, in geringem Ausmaß, Innenschädlinge (zum Beispiel die Große und Kleine Wachsmotte oder der Totenkopfschwärmer) (Brodschneider & Crailsheim, 2011).

Der Mensch fördert durch die räumliche Nähe vieler Bienenvölker an einem Bienenstand die horizontale Verbreitung der Krankheitserreger (Seeley & Smith, 2015; DeGrandi-Hoffman et al., 2017). Die Verbreitung von Krankheiten kann aber nicht nur durch eine hohe Völkerdichte an einem Standort, sondern auch durch Handel und Wanderimkerei über weite Entfernungen passieren. Internationale Untersuchungen von van der Zee et al. (2012, 2014) sowie Ergebnisse aus den USA (Steinhauer et al., 2014; Lee et al., 2015a) zeigen, dass größere Betriebe in manchen Jahren sogar geringere Winterverluste als kleinere Betriebe verzeichneten, was neben der hohen Völkerdichte auch auf andere Faktoren bei der Verbreitung schließen lässt. Auch eine vertikale Erregerübertragung mancher Krankheiten über Ei- oder Samenzellen ist möglich (Peng et al., 2015; Yue et al., 2007).

Untersuchungen von Pettis et al. (2012), Di Prisco et al. (2013) sowie von Alburaki et al. (2016) machen auf die Zusammenhänge zwischen dem subletalen Einfluss von Pestiziden und gesteigertem Pathogenbefall bei Honigbienen aufmerksam. Zum Beispiel verursacht das Neonicotinoid Clothianidin eine Schwächung des Immunsystems, und damit eine stärkere Infektion mit dem Flügeldeformationsvirus (Di Prisco et al., 2013). Pettis et al. (2012) stellte zudem eine höhere Anzahl von *Nosema* spp.-Sporen unter dem Einfluss von Imidacloprid fest, ein Hinweis für eine gesteigerte Anfälligkeit für den Darmparasit *Nosema* spp. Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass Larven, die mit Amerikanischer Faulbrut infiziert und gleichzeitig subletalen Dosen bestimmter Pestizide ausgesetzt waren, eine signifikant höhere Mortalität aufwiesen als Larven die nur einem dieser beiden Stressoren ausgesetzt waren (Hernández López et al., 2017). Somit unterstützen die Ergebnisse dieser Studien die Annahme multifaktorieller Ursachen hoher Winterverlustraten. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass sich die Aufsummierung mehrerer Risikofaktoren, wie zum Beispiel Krankheitserreger, Mangelernährung und Pestizidkontamination, stärker als ein Faktor allein auf den Überwinterungserfolg auswirken kann (Goulson et al., 2015). Eine gezielte Einleitung von Gegenmaßnahmen wird dadurch erschwert (Brodschneider & Crailsheim, 2013).

Wir dokumentieren die Winterverluste, einerseits wegen der bereits erwähnten ökonomischen aber auch der ökologischen Bedeutung der Honigbiene und andererseits, um die Ursachen zu ergründen und entsprechend darauf reagieren zu können. Dies wird seit 2008 durch das Monitoring des Zoologischen Instituts der Karl-Franzens-Universität Graz im Rahmen von COLOSS möglich gemacht (Brodschneider et al., 2010; Brodschneider & Crailsheim, 2013). Die Umfragen bilden eine wichtige Datenbasis für vertiefende Untersuchungen und sind somit, gemeinsam mit weiteren Untersuchungen (zum Beispiel gezielte Probenahmen im Teilprojekt „Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten“), der Grundstock im Kampf gegen hohe Winterverlustraten (van der Zee et al., 2015).

1.3 Methodik und Ergebnisse

1.3.1 Datenerhebung

Die Erhebungen der Winterverluste für Österreich wurden zwischen Februar und Mai des jeweiligen Jahres mittels eines von COLOSS festgelegten Fragebogens durchgeführt. Dieser wurde dabei, wenn nötig, Jahr für Jahr adaptiert. Der Fragebogen, der auch Fragen zur Betriebsweise inkludiert, ist so aufgebaut, dass ein breites Spektrum an Informationen mit einem für die Imkerinnen und Imker relativ geringen zeitlichen Aufwand abgefragt wird. Es werden außerdem von jeder Imkerei nur einfach festzustellende Fakten abgefragt, die ohne technische Hilfsmittel beantwortet werden können. Aus dem Fragebogen kann die Winterverlustrate und mögliche, damit in Zusammenhang stehende, Risikofaktoren ermittelt werden.

Die Teilnahme kann entweder anonym oder nicht-anonym, durch Hinterlassen von Kontaktdaten, erfolgen. Die Papierfragebögen werden per Post an Imkervereine versendet, bei Veranstaltungen verteilt, die Umfrage ist online auf www.bienenstand.at verfügbar sowie, in einer Kurzversion, in der April-Ausgabe der Zeitschrift „Biene Aktuell“ veröffentlicht.

Die im Fragebogen gestellten Fragen beziehen sich auf Standort und Größe der Imkerei, die Anzahl der verlorenen Völker, sowie auch den möglichen Transport der Völker, die Betriebsweise, bestimmte Nahrungsquellen der Bienen und auch die Behandlung gegen die Varroa-Milbe.

Bei Winterverlusten wurde zwischen Völkerverlusten und Völkern mit Königinnen-Problemen unterschieden. Für die Gesamtverlustrate wurden beide addiert. Des Weiteren wurden auch in Bezug auf die verlorenen Völker leicht erkennbare Symptome abgefragt. Dabei mussten die ImkerInnen berichten, ob sie viele tote Bienen im oder vor dem Volk hatten, ob sie keine oder nur wenige tote Bienen im oder vor dem Volk hatten, ob tote Bienen in Zellen gefunden wurden, ob die Bienen kein Futter im Stock hatten (verhungert sind), ob sie keines der oben genannten oder unbekannte Symptome hatten und letztlich ob sie, unabhängig vom Schadbild, aufgrund von Elementarschäden (Flut, Vandalismus, Specht, etc.) die Völker verloren hatten. Bei der Umfrage 2016/17 wurde der Elementarschaden außerhalb der Symptombegleitung abgefragt.

Da es zwei Versionen von Fragebögen gab, wurden bei der längeren Version noch Fragen zur Erneuerung der Waben und zum Alter der Königinnen gestellt bzw. wollten wir wissen welche Auswirkungen das nach Einschätzung der ImkerInnen auf die Völkerverluste hatte. Zur Auswahl standen folgende Antwortmöglichkeiten: gleich, besser, schlechter oder weiß nicht. Weitere Fragen bezogen sich auf Trachtquellen und die Varroabehandlung.

Unser Ziel war es, so viele Daten wie möglich zu sammeln und eine gute Repräsentation der Situation in Österreich zu bekommen. Alle beteiligten ImkerInnen haben an der Umfrage freiwillig teilgenommen, da es zum Zeitpunkt der Untersuchung in Österreich nicht verpflichtend war, sich als ImkerIn zu registrieren und über Verluste, die geringer als 30% sind, zu berichten. Alle Imker unabhängig von der Größe ihrer Betriebe konnten mitmachen.

In die Auswertung wurden nur jene Fragebögen aufgenommen, aus denen die Winterverlustrate berechnet werden konnte. Fehlerhafte oder unvollständige Fragebögen wurden nicht ausgewertet. Dazu zählten beispielsweise Fragebögen, wo Angaben zum Standort fehlten und/oder keine Angaben über die Zahl der eingewinterten oder überlebenden Völker gemacht wurden. Offensichtliche Duplikate wurden ebenfalls entfernt.

1.3.2 Statistik

Alle Antworten wurden in einer Excel-Datenbank zusammengeführt, um die Auswertung der gesamten Daten, das heißt jener aus den Online-Fragebögen als auch der von den Papierfragebögen, durchführen zu können. Die statistische Analyse wurde mit dem Programm „R“ durchgeführt (R Core Team, 2015). Berechnet wurde die Verlustrate sowie das 95%-Konfidenzintervall, in welchem der Standardfehler aus den Intercept des Null-Modells berücksichtigt wird, nach wissenschaftlich etablierten Methoden (vanEngelsdorp et al., 2013; van der Zee et al., 2013).

Kommt es beim Vergleich zweier oder mehrerer Gruppen zu keiner Überlappung der Konfidenzintervalle, so unterscheiden sich diese Gruppen signifikant voneinander. Auf weitere grafische Hinweise signifikanter Unterschiede wird in den gezeigten Grafiken aus diesem Grund verzichtet, in der Bildunterschrift wird auf das Vorhandensein oder Fehlen signifikanter Unterschiede hingewiesen.

1.4 Ergebnisse

1.4.1 Beteiligung

Bei der Erhebung der Winterverluste 2013/14, 2014/15, 2015/16 und 2016/17 haben wir insgesamt 5227 Datensätze betreffend 83.850 eingewinterte Bienenvölkern erhalten. Betrachtet man die Jahre einzeln, nahmen an der Untersuchung 2013/14 1023 Imkereibetriebe mit ihren 18.794 eingewinterten Völkern teil. Dies entspricht einem Anteil von 4% der österreichischen Imkereien und 5% aller österreichischen Bienenvölker. Im darauffolgenden Jahr 2014/15 beteiligten sich 1259 Betriebe mit 22.882 Bienenvölkern (rund 5% der österreichischen Imkereien und 6,1% aller österreichischen Bienenvölker). 2015/16 wurden die von 1289 Betrieben und den 23.418 eingewinterten Völkern gewonnenen Daten ausgewertet. Die Beteiligung lag hier bei rund 5% der österreichischen Imkereien sowie 6,7% aller österreichischen Bienenvölker. Im letzten Winter 2016/17 haben sich 1656 Imkerbetriebe mit insgesamt 43.852 eingewinterten Völkern beteiligt. Das sind wiederum rund 6% aller Imkereibetriebe in Österreich und 12,4% aller Bienenvölker. Die Grundlage für die Berechnung der Rückmeldungen bilden die Angaben der „Biene Österreich“ (Tabelle 1.1).

Die Teilnahme war online, mittels Papierfragebogen oder mittels Kurzfragebogen in der Zeitschrift „Biene Aktuell“ möglich. Tabelle 1.2 zeigt, wie viele ImkerInnen sich von 2013/14 bis 2016/17 online, auf Papier oder über die Zeitschrift an unserer Untersuchung beteiligt haben.

Tabelle 1.1: Beteiligungsrate der österreichischen Imkereien an unserer Untersuchung.

* Die in den Spalten „Anzahl Imkereien“ und „Anzahl Völker“ angeführten Zahlen beruhen auf Angaben der „Biene Österreich“. Diese Zahlen bilden die Grundlage für die Berechnung der Rückmeldungen.

Beteiligungsrate Österreich	Anzahl Imkereien*	Anzahl teilnehmende Imkereien	Rückmeldung Imkereien [%]	Anzahl Völker*	Anzahl eingewinterte Völker	Rückmeldung Völker [%]
2013/14	25.492	1023	4,0	382.638	18.794	4,9
2014/15	25.277	1259	5,0	376.121	22.882	6,1
2015/16	26.063	1289	4,9	347.128	23.418	6,7
2016/17	26.609	1656	6,2	354.080	43.852	12,4

Von den insgesamt 5227 Imkereien haben 2036 anonym teilgenommen und 3191 haben eine Kontaktadresse, E-Mail oder Telefonnummer hinterlassen.

1.4.2 Repräsentativität

1.4.2.1 Anonyme Teilnahme versus nicht anonyme Teilnahme

Zwischen 57,8% und 63,3% der teilnehmenden Imkereien haben in den vier Untersuchungsjahren einen Kontakt hinterlassen. Wir haben die Verlustrate zwischen anonymen und nicht-anonymen TeilnehmerInnen verglichen und in den Jahren 2013/14 bis 2015/16 keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt (Abbildung 1.1a-d). Bei der Erfassung der Winterverluste 2016/17 hatten anonyme TeilnehmerInnen signifikant höhere Winterverluste (27,3%, Konfidenzintervall: 25,2-29,5%) als nicht-anonyme TeilnehmerInnen (21,6%, Konfidenzintervall: 20,6-22,7%).

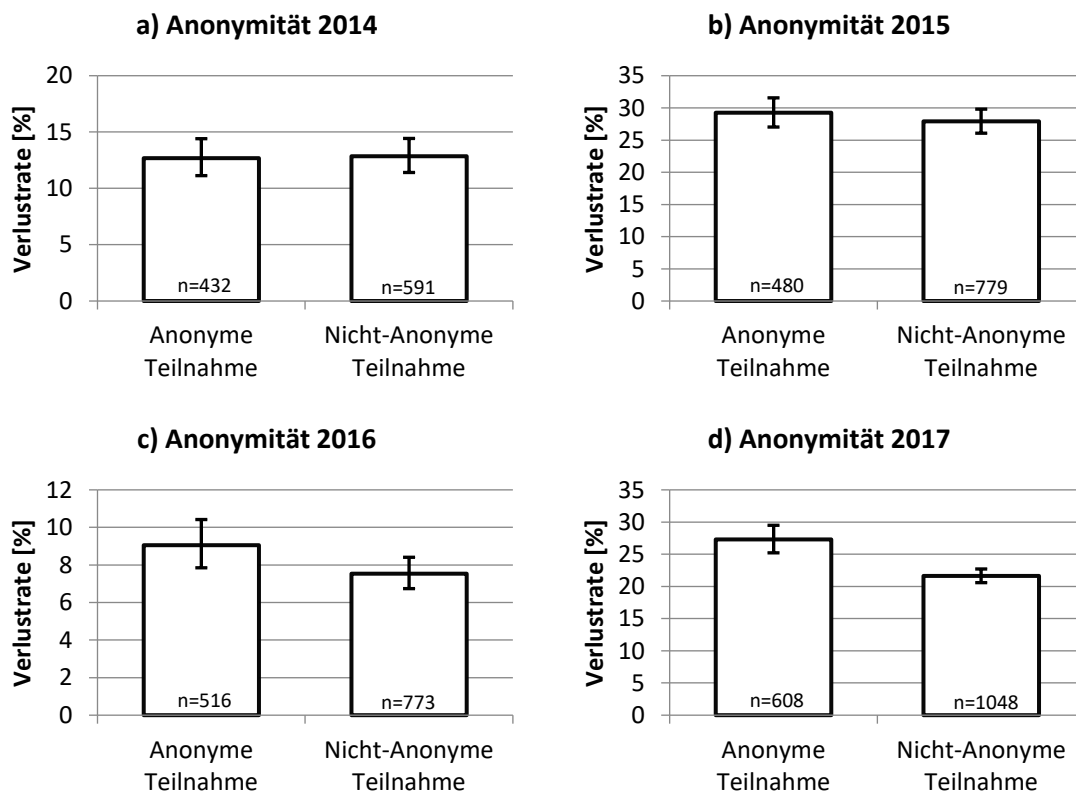


Abbildung 1.1a-d: Höhe der Winterverluste 2013/14 bis 2016/17 anonymer TeilnehmerInnen und nicht-anonymer TeilnehmerInnen in Prozent ($\pm 95\%$ CI). Es besteht nur 2016/17 ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

1.4.2.2 Online-Antworten versus Papierfragebogen-Antworten

TeilnehmerInnen hatten die Möglichkeit, sowohl online als auch über Papier (inkl. Zeitschrift) mitzumachen. Die meisten Antworten erreichten uns online (Tabelle 1.2). Es besteht in keinem der vier Winter ein signifikanter Unterschied in der Verlustrate zwischen der Online-Teilnahme und der Papier-Teilnahme (Abbildung 1.2a-d).

Tabelle 1.2: Art der Teilnahme an der Erhebung der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 (Anzahl TeilnehmerInnen (%)).

	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17
Summe	1023	1259	1289	1656
Papier	318 (31,1%)	249 (19,8%)	290 (22,5%)	332 (20,0%)
Zeitschrift	26 (2,5%)	63 (5,0%)	55 (4,3%)	56 (3,4%)
Internet	679 (66,4%)	947 (75,2%)	944 (73,2%)	1268 (76,6%)

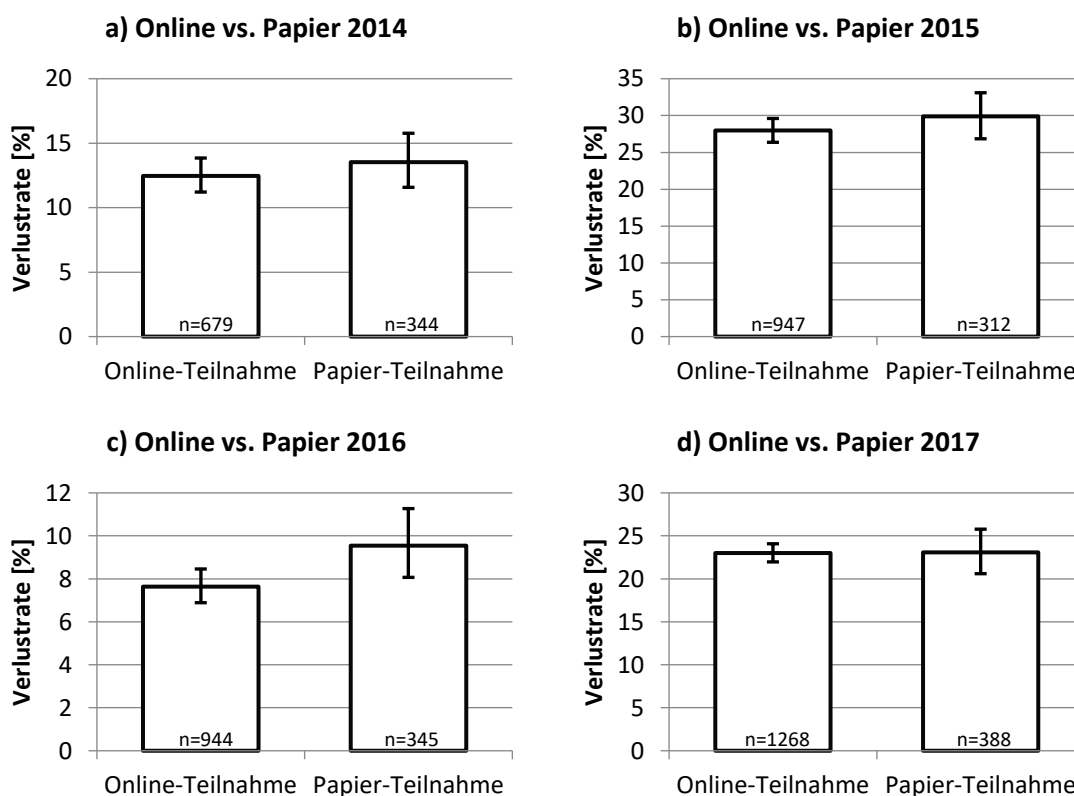


Abbildung 1.2a-d: Höhe der Winterverluste 2013/14 bis 2016/17 der Online-TeilnehmerInnen und der TeilnehmerInnen per Papierfragebogen in Prozent ($\pm 95\%$ CI). Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

1.4.2.3 Betriebsgröße

In allen vier Jahren betreute mehr als die Hälfte der teilnehmenden Imkereien zehn oder weniger Völker (Median). Im Durchschnitt winternten die ImkerInnen 2013/14 bis 2015/16 rund 18 Völker ein. 2016/17 betreuten die TeilnehmerInnen durchschnittlich 26 Völker. Diese höhere Zahl an Völkern kommt aufgrund von zwei sehr großen Imkereien, welche sich in diesem Jahr an der Untersuchung beteiligt hatten, zustande. Ohne diese beiden Betriebe liegt die durchschnittliche Völkerzahl für den Winter 2016/17 bei 19. Die Verteilung der Betriebsgrößen ist in Abbildung 1.3a-d grafisch dargestellt.

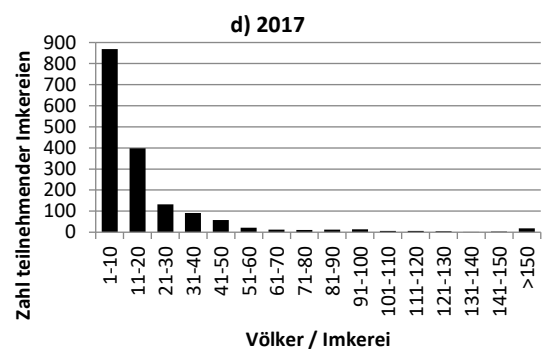
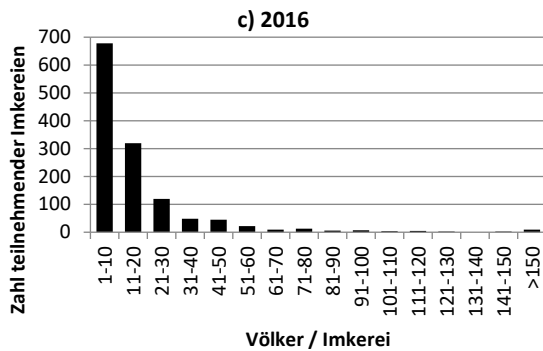
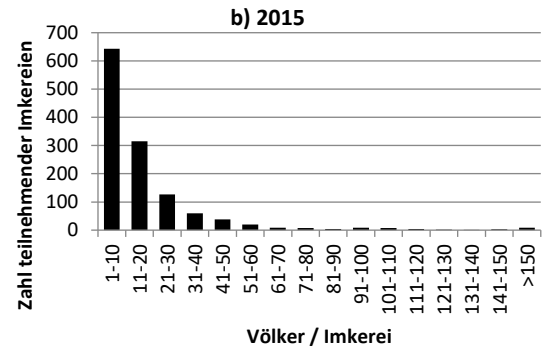
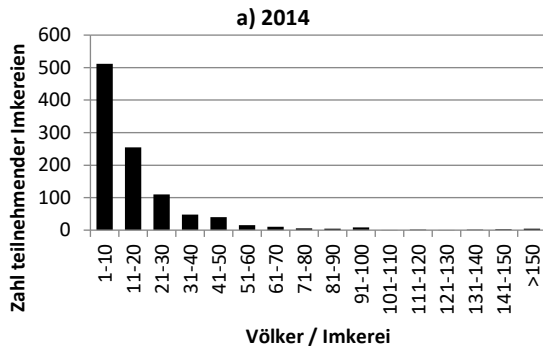


Abbildung 1.3a-d: Betriebsgröße der teilnehmenden Imkereien von 2013/14 bis 2016/17

1.4.2.4 Geografische Herkunft

Abbildung 1.4a-d zeigt die geografische Herkunft der TeilnehmerInnen unserer Erhebung für den jeweiligen Winter. Rückmeldungen mit derselben Postleitzahl sind als je ein Punkt dargestellt.

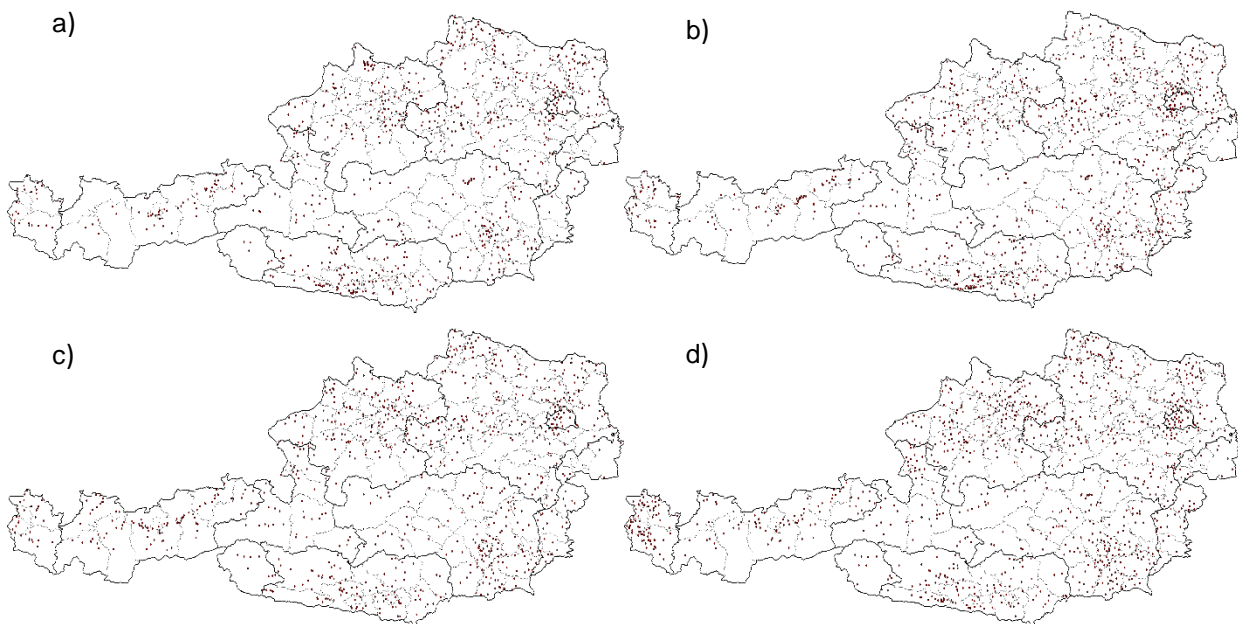


Abbildung 1.4: Geografische Herkunft der an der Untersuchung der Winterverluste a) 2013/14, b) 2014/15, c) 2015/16 und d) 2016/17 teilnehmenden Imkereien.

1.4.2.5 Bienenstandort

Da für weitere standortbezogene Auswertungen der ungefähre Bienenstandort erforderlich ist, haben wir bei unserer Erhebung die ImkerInnen auch befragt, ob sie alle ihre Bienenvölker innerhalb von 15 km des angegebenen Winter-Standortes halten. 88,8% der insgesamt 5227 Antworten aller vier Jahre waren „Ja“, rund 10% „Nein“ und 0,8% „Unsicher“.

Diese Information ist für weitere standortbezogene Auswertungen wichtig, in denen mögliche Zusammenhänge zwischen den Winterverlusten und dem Wetter, der Landnutzung (siehe „Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit“) sowie der Seehöhe näher betrachtet werden.

1.4.3 Verlustrate in Österreich, den Bundesländern und den Bezirken

1.4.3.1 Österreich

Die teilnehmenden 5227 Imkereien haben in den vier Jahren insgesamt 83.850 Völker eingewintert. Seit Beginn der Erhebung schwanken die Winterverlustraten jährlich. Die Verlustrate aus dem Winter 2015/16 stellt mit 8,1% die niedrigste, jene aus dem Winter 2014/15 mit 28,4% die höchste seit Beginn der Erhebungen von Winterverlusten im Jahr 2007/08 dar. In Abbildung 1.5 werden, neben den vier im Projektzeitraum gemessenen Verlustraten, auch die zuvor erhobenen Werte dargestellt.

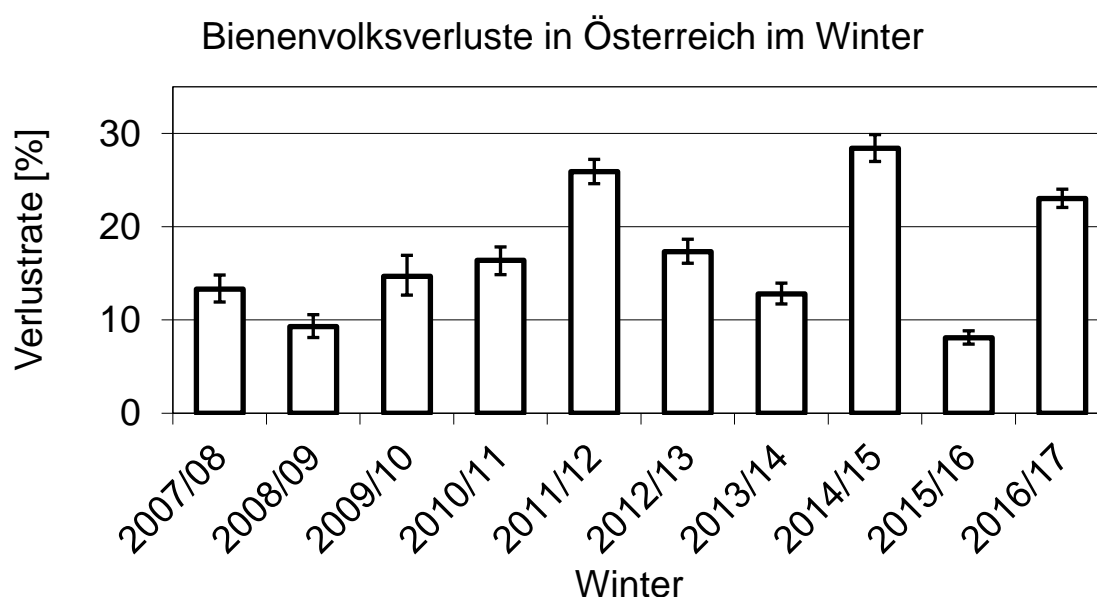


Abbildung 1.5: Höhe der Winterverluste in Österreich von 2007/08 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI). n = 16.217, 18.141, 7676, 13.179, 32.471, 19.406, 18.794, 22.882, 23.418 und 43.852 eingewinterte Bienenvölker.

1.4.3.1.1 Populationsdynamik in Österreich

Die Berechnungen zur Populationsdynamik basieren auf den Angaben jener Imkereien, die auch die Anzahl ihrer Völker im Frühjahr des Einwinterungsjahres bekannt gegeben haben. Wir haben die Imkereien gefragt, wie viele Völker sie zu diesem Zeitpunkt hatten, um die Netto-Änderung bis

zum Herbst desselben Jahres berechnen zu können. Die Zahl an Bienenvölkern im Frühjahr des Auswinterungsjahres konnte mittels der Anzahl an eingewinterten und der im Winter verlorenen Völker berechnet werden. Dies berücksichtigt aber nicht etwaige zugekaufte oder verkaufte Völker. Die Informationen zur Anzahl der Völker im Frühjahr, eingewinterten Völkern und zum Völkerverlust über den Winter des jeweiligen Jahres ermöglichten eine grafische Darstellung der Populationsdynamik österreichischer Bienenvölker vom Frühjahr 2013 bis zum Frühjahr 2017 (Abbildung 1.6). Ausgehend von der Völkeranzahl im Frühjahr des Einwinterungsjahres stieg die Zahl an Bienenvölkern durch Vermehrung und Zukäufe bis zum Herbst in allen vier Jahren (Tabelle 1.3, „Vermehrung über den Sommer [%]“). Die prozentuelle Änderung der Anzahl der Bienenvölker vom Frühjahr des Auswinterungsjahres zum Frühjahr des Einwinterungsjahres ist in Tabelle 1.3 („Vergleich Frühjahr-Frühjahr [%]“) zu finden. Einzig im Frühjahr 2015, nach dem Winter mit den höchsten Verlusten, besaßen die ImkerInnen weniger Bienenvölker als im Frühjahr des Vorjahres. In den anderen Jahren konnten die Winterverluste durch die Vermehrung über den Sommer ausgeglichen werden. Allgemein zeigt sich, dass die Vermehrung im Sommer eine konstante, sogar eine wachsende, Bienenpopulation erlaubt (Abbildung 1.6). Welche Netto-Zuwachsrate erforderlich wäre, um nach dem Winter wieder auf den Stand der Bienenpopulation im Herbst des Einwinterungsjahres zu kommen, ist unter „Frühjahres-Herbst-Schätzung [%]“ ersichtlich. Die tatsächliche Netto-Vermehrung über den Sommer liegt in drei Jahren über der erforderlichen Schätzung.

Tabelle 1.3: Populationsdynamik österreichischer Bienenvölker vom Frühjahr 2013 bis zum Frühjahr 2017. Teilnehmende Imkereien mit vollständigen Angaben; Verlustrate dieser Untergruppe; Anzahl an Bienenvölkern im Frühjahr des Einwinterungsjahres, Herbst und Frühjahr des Auswinterungsjahres; Zuwachsrate über den Sommer; Frühjahres-Frühjahres-Vergleich und Frühjahres-Herbst-Schätzung.

	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17
Imkereien	973	1188	1195	1537
Verlustrate der Untergruppe [%]	12,9	28,6	7,9	22,5
Frühjahr des Einwinterungsjahres	14.319	17.355	15.102	27.695
Herbst (Zahl Völker)	17.816	21.616	21.800	40.141
Frühjahr (Zahl Völker)	15.518	15.437	20.070	31.108
Vermehrung über den Sommer [%]	24,4	24,6	44,4	44,9
Vergleich Frühjahr-Frühjahr [%]	8,4	-11,1	32,9	12,3
Frühjahr-Herbst-Schätzung [%]	14,8	40,0	8,6	29,0

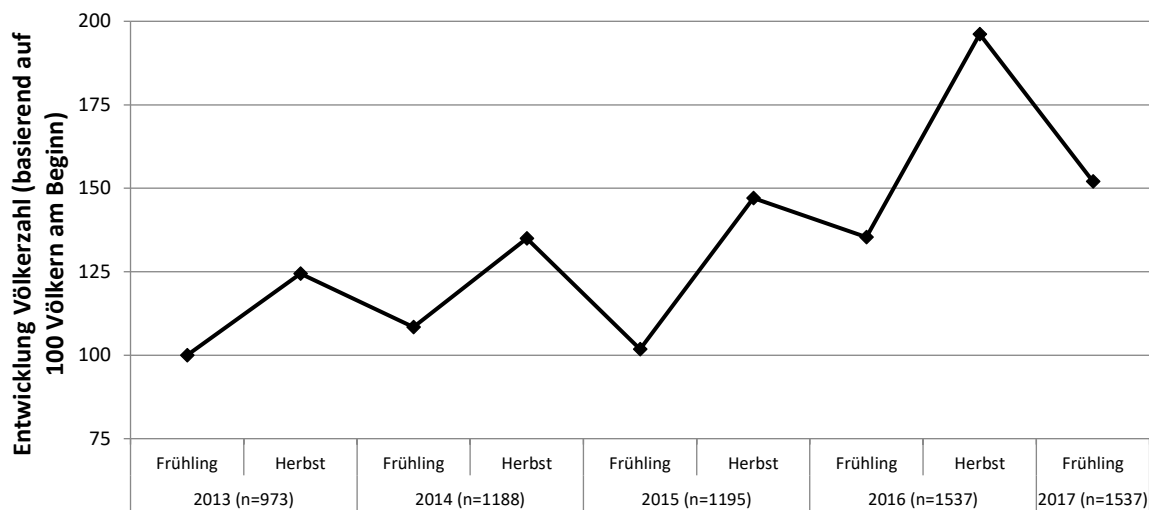


Abbildung 1.6: Veranschaulichte Populationsdynamik von Bienenvölkern in Österreich vom Frühjahr 2013 bis zum Frühjahr 2017 basierend auf Winterverlusten und Vermehrung über den Sommer aus Tabelle 1.3 (n=Imkereien). Die theoretische Entwicklung der Völkeranzahl basiert auf 100 Völkern zu Beginn.

1.4.3.2 Bundesländer

Die Winterverlustrate für ganz Österreich lag 2013/14 bei 12,8%. 28,4% der eingewinterten Völker überlebten den Winter 2014/15 nicht. Bei der Erhebung 2015/16 konnte eine Verlustrate von nur 8,1% festgestellt werden, diese betrug im Winter 2016/17 jedoch 23,0%. Österreichweit sind die Winterverluste dieser vier Jahre jedoch nicht gleich verteilt. Die Tabellen 1.4 bis 1.7 zeigen die Anzahl der teilnehmenden Betriebe, die Anzahl der eingewinterten Völker, die Anzahl der verlorenen Völker, Winterverluste aufgrund von Königinnen-Problemen (gilt nicht für die Untersuchung 2013/14) und die Verlustrate in Summe und Prozent (inklusive 95% Konfidenzintervall) für Österreich und die Bundesländer. Einen Überblick über die Winterverluste in ganz Österreich sowie in den Bundesländern für diesen Untersuchungszeitraum bietet die Tabelle 1.8. Grafisch dargestellt werden die Verlustraten der Winter 2013/14 bis 2016/17 für Österreich und die Bundesländer in Abbildung 1.7a-d.

Tabelle 1.4: Teilnehmende Imkereibetriebe, eingewinterte Völker und Verlustraten von Bienenvölkern im Winter 2013/14 für Österreich und pro Bundesland. Die Spalte „Völkerverlust“ beinhaltet auch Völkerverlust durch Königinnen-Probleme.

Land	Teilnehmende Imkereien	Eingewinterte Völker	Völkerverlust	Verlust [%]	Konfidenzintervall [%]
Österreich	1023	18.794	2404	12,8	11,7-14,0
Burgenland	14	413	136	32,9	15,1-57,5
Kärnten	158	3230	320	9,9	7,8-12,5
Niederösterreich	330	5261	810	15,4	13,6-17,4
Oberösterreich	170	3139	310	9,9	7,6-12,8
Salzburg	48	694	129	18,6	13,5-25,1
Steiermark	140	3146	266	8,5	6,7-10,7
Tirol	82	1876	242	12,9	9,0-18,1
Vorarlberg	49	717	130	18,1	12,1-26,2
Wien	32	318	61	19,2	12,7-27,9

Tabelle 1.5: Teilnehmende Imkereibetriebe, eingewinterte Völker und Verlustraten von Bienenvölkern im Winter 2014/15 für Österreich und pro Bundesland.

Land	Teilnehmende Imkereien	Eingewinterte Völker	Völkerverlust	Völkerverlust (Königinnen-Probleme)	Summe Verlust	Verlust [%]	Konfidenzintervall [%]
Österreich	1259	22.882	5647	854	6501	28,4	27,0-29,9
Burgenland	66	1149	445	19	464	40,4	33,5-47,6
Kärnten	192	3792	977	184	1161	30,6	27,0-34,5
Niederösterreich	362	6638	1628	216	1844	27,8	25,2-30,6
Oberösterreich	170	2886	618	109	272	25,2	21,6-29,2
Salzburg	64	1338	393	56	449	33,6	27,3-40,5
Steiermark	170	4040	759	148	907	22,5	19,4-25,8
Tirol	97	1826	411	76	487	26,7	21,6-32,4
Vorarlberg	68	715	170	30	200	28,0	22,3-34,4
Wien	70	498	246	16	262	52,6	44,9-60,2

Tabelle 1.6: Teilnehmende Imkereibetriebe, eingewinterte Völker und Verlustraten von Bienenvölkern im Winter 2015/16 für Österreich und pro Bundesland.

Land	Teilnehmende Imkereien	Eingewinterte Völker	Völkerverlust	Völkerverlust (Königinnen-Probleme)	Summe Verlust	Verlust [%]	Konfidenzintervall [%]
Österreich	1289	23.418	1062	835	1897	8,1	7,4-8,8
Burgenland	34	564	42	20	62	11,0	6,7-17,6
Kärnten	167	3954	134	125	259	6,6	5,4-7,9
Niederösterreich	364	5436	369	258	627	11,5	9,8-13,5
Oberösterreich	224	4650	176	141	317	6,8	5,5-8,4
Salzburg	69	1329	49	32	81	6,1	4,1-9,1
Steiermark	190	3788	164	164	328	8,7	7,0-10,6
Tirol	150	2619	70	63	133	5,1	3,7-6,9
Vorarlberg	50	599	17	18	35	5,8	3,7-9,1
Wien	41	479	41	14	55	11,5	7,2-17,8

Tabelle 1.7: Teilnehmende Imkereibetriebe, eingewinterte Völker und Verlustraten von Bienenvölkern im Winter 2016/17 für Österreich und pro Bundesland. In dieser Tabelle wird der Völkerverlust durch „Elementarschaden (Flut, Vandalismus, etc.)“ nicht berücksichtigt.

Land	Teilnehmende Imkereien	Eingewinterte Völker	Völkerverlust	Völkerverlust (Königinnen-Probleme)	Summe Verlust	Verlust [%]	Konfidenzintervall [%]
Österreich	1656	43.852	8167	1931	10.098	23,0	22,1-24,0
Burgenland	59	1172	194	43	237	20,2	15,2-26,4
Kärnten	181	4447	797	176	973	21,9	18,6-25,6
Niederösterreich	433	20629	3946	1051	4997	24,2	22,8-25,7
Oberösterreich	264	5324	787	221	1008	18,9	16,7-21,4
Salzburg	78	1398	180	55	235	16,8	12,3-22,6
Steiermark	233	5060	804	175	979	19,3	17,0-21,9
Tirol	131	2570	555	91	646	25,1	20,6-30,3
Vorarlberg	207	2420	731	86	817	33,8	29,5-38,3
Wien	70	832	173	33	206	24,8	20,2-30,0

Tabelle 1.8: Vergleich der Winterverlustraten ($\pm 95\%$ Konfidenzintervall) von 2013/14, 2014/15, 2015/16 und 2016/17 für ganz Österreich sowie die einzelnen Bundesländer.

Land	Verlust % (Konfidenzintervall [%])			
	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17
Österreich	12,8 (11,7-14,0)	28,4 (27,0-29,9)	8,1 (7,4-8,8)	23,0 (22,1-24,0)
Burgenland	32,9 (15,1-57,5)	40,4 (33,5-47,6)	11 (6,7-17,6)	20,2 (15,2-26,4)
Kärnten	9,9 (7,8-12,5)	30,6 (27,0-34,5)	6,6 (5,4-7,9)	21,9 (18,6-25,6)
Niederösterreich	15,4 (13,6-17,4)	27,8 (25,2-30,6)	11,5 (9,8-13,5)	24,2 (22,8-25,7)
Oberösterreich	9,9 (7,6-12,8)	25,2 (21,6-29,2)	6,8 (5,5-8,4)	18,9 (16,7-21,4)
Salzburg	18,6 (13,5-25,1)	33,6 (27,3-40,5)	6,1 (4,1-9,1)	16,8 (12,3-22,6)
Steiermark	8,5 (6,7-10,7)	22,5 (19,4-25,8)	8,7 (7,0-10,6)	19,3 (17,0-21,9)
Tirol	12,9 (9,0-18,1)	26,7 (21,6-32,4)	5,1 (3,7-6,9)	25,1 (20,6-30,3)
Vorarlberg	18,1 (12,1-26,2)	28 (22,3-34,4)	5,8 (3,7-9,1)	33,8 (29,5-38,3)
Wien	19,2 (12,7-27,9)	52,6 (44,9-60,2)	11,5 (7,2-17,8)	24,8 (20,2-30,0)

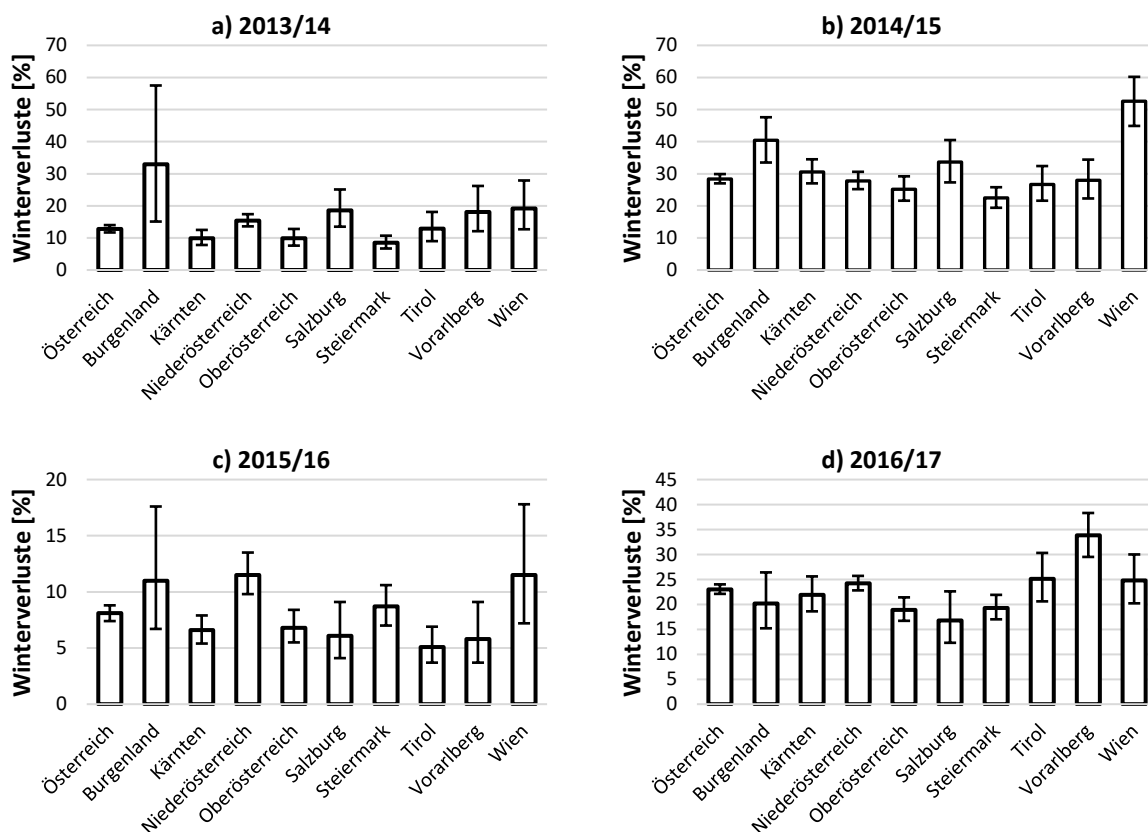


Abbildung 1.7a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 für Österreich und die Bundesländer in Prozent ($\pm 95\%$ CI). Die jeweilige Anzahl der teilnehmenden Imkereien kann aus den Tabellen 1.4 bis 1.7 entnommen werden.

1.4.3.3 Ausgewählte Bezirke

Die Verlustraten, Anzahl der teilnehmenden Imkereien und Anzahl der eingewinterten Völker der vier Winter aus den einzelnen Bezirken sind in Tabelle 1.9 aufgelistet. Aus Gründen des Datenschutzes und der Repräsentativität werden nur jene Bezirke aufgelistet, bei denen mindestens Daten von fünf Imkereien zur Verfügung stehen.

Tabelle 1.9: Jahresvergleich der Verlustraten in den Bezirken.

Verlustrate in % (TeilnehmerInnen; eingewinterte Völker). -: weniger als fünf TeilnehmerInnen; *: Bezirksfusionen in der Steiermark 2013 (Bruck und Mürzzuschlag \rightarrow Bruck-Mürzzuschlag, Fürstenfeld und Hartberg \rightarrow Hartberg-Fürstenfeld, Feldbach und Radkersburg \rightarrow Südoststeiermark); **: Bezirksauflösung Wien-Umgebung 2017.

Bezirk	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17
Burgenland / Eisenstadt	-	-	-	-
Burgenland / Eisenstadt-Umgebung	-	40,30% (6; 67)	-	-
Burgenland / Güssing	-	42,24% (13; 161)	-	31,46% (6; 89)
Burgenland / Jennersdorf	-	42,71% (8; 96)	23,53% (5; 85)	-

Burgenland / Mattersburg	-	-	-	28,93% (9; 121)
Burgenland / Neusiedl am See	-	24,72% (7; 178)	3,55% (5; 169)	12,22% (8; 311)
Burgenland / Oberpullendorf	-	53,72% (12; 376)	20,51% (7; 78)	20,95% (12; 253)
Burgenland / Oberwart	31,82% (5; 88)	30,08% (17; 256)	4,17% (9; 144)	27,57% (15; 185)
Burgenland / Rust	-	-	-	-
Kärnten / Feldkirchen	11,39% (7; 202)	32,46% (6; 191)	3,86% (5; 233)	40,11% (7; 187)
Kärnten / Hermagor	5,48% (20; 365)	56,41% (11; 195)	5,93% (17; 337)	19,95% (19; 436)
Kärnten / Klagenfurt am Wörthersee	12,66% (5; 79)	54,55% (10; 77)	12,10% (9; 124)	52,43% (9; 103)
Kärnten / Klagenfurt-Land	6,76% (10; 281)	34,55% (18; 330)	4,98% (15; 301)	15,34% (10; 189)
Kärnten / Sankt Veit an der Glan	15,32% (15; 385)	26,45% (25; 881)	7,28% (12; 604)	41,05% (16; 592)
Kärnten / Spittal an der Drau	7,09% (35; 705)	28,75% (33; 574)	5,81% (56; 1445)	17,34% (67; 1632)
Kärnten / Villach	12,32% (14; 138)	25,84% (13; 178)	11,32% (5; 106)	19,05% (5; 63)
Kärnten / Villach-Land	-	32,36% (50; 615)	5,60% (30; 393)	20,64% (22; 344)
Kärnten / Völkermarkt	7,47% (13; 482)	21,78% (20; 652)	6,60% (12; 303)	11,76% (13; 561)
Kärnten / Wolfsberg	-	-	-	8,37% (9; 203)
Niederösterreich / Amstetten	15,75% (22; 419)	19,76% (24; 506)	9,35% (38; 631)	37,09% (47; 647)
Niederösterreich / Baden	7,92% (8; 101)	31,63% (12; 98)	0,00% (6; 54)	16,36% (6; 55)
Niederösterreich / Bruck an der Leitha	-	47,78% (8; 90)	-	8,86% (8; 158)
Niederösterreich / Gänserndorf	27,78% (20; 198)	28,33% (23; 300)	16,83% (23; 208)	19,53% (13; 379)
Niederösterreich / Gmünd	7,66% (29; 444)	26,32% (6; 133)	14,24% (24; 316)	21,04% (22; 461)
Niederösterreich / Hollabrunn	33,46% (7; 254)	31,07% (12; 280)	12,00% (8; 200)	12,05% (8; 83)
Niederösterreich / Horn	18,15% (17; 325)	34,38% (17; 349)	8,32% (17; 505)	14,57% (22; 597)
Niederösterreich / Korneuburg	14,06% (14; 192)	43,64% (19; 236)	8,42% (17; 95)	21,77% (22; 372)
Niederösterr. / Krems a.d. Donau	-	-	-	-
Niederösterreich / Krems-Land	-	25,19% (9; 135)	2,13% (7; 47)	13,41% (9; 179)
Niederösterreich / Lilienfeld	14,89% (5; 47)	10,58% (5; 104)	-	6,13% (15; 212)
Niederösterreich / Melk	7,64% (16; 157)	32,53% (26; 332)	15,17% (34; 422)	29,30% (19; 314)
Niederösterreich / Mistelbach	17,85% (43; 521)	22,35% (27; 671)	9,47% (29; 581)	26,84% (38; 991)
Niederösterreich / Mödling	16,56% (14; 151)	29,08% (17; 141)	15,15% (9; 66)	25,23% (13; 107)
Niederösterreich / Neunkirchen	11,34% (9; 97)	44,83% (14; 145)	29,38% (13; 160)	25,41% (17; 303)
Niederösterreich / Scheibbs	7,74% (18; 594)	14,48% (41; 808)	10,46% (29; 526)	44,31% (42; 686)
Niederösterreich / St. Pölten	-	-	-	-
Niederösterreich / St. Pölten-Land	12,15% (32; 288)	24,62% (21; 260)	-	25,55% (26; 274)

Niederösterreich / Tulln	18,71% (9; 465)	12,63% (13; 372)	7,53% (5; 93)	13,07% (20; 153)
Niederösterreich / Waidhofen an der Ybbs	-	-	-	-
Niederösterreich / Waidhofen an der Thaya	19,61% (20; 311)	-	13,45% (36; 394)	28,21% (34; 560)
Niederösterr. / Wiener Neustadt	-	-	-	-
Niederösterreich / Wiener Neustadt-Land	10,08% (8; 129)	46,37% (12; 317)	17,93% (9; 184)	13,66% (10; 205)
Niederösterreich / Wien-Umgebung	20,63% (14; 160)	31,99% (20; 372)	28,99% (14; 69)	**
Niederösterreich / Zwettl	2,17% (7; 138)	20,93% (9; 172)	8,77% (11; 171)	30,96% (15; 239)
Oberösterreich / Braunau am Inn	10,31% (11; 151)	13,72% (19; 277)	10,68% (22; 468)	13,21% (24; 613)
Oberösterreich / Eferding	-	-	-	19,64% (5; 168)
Oberösterreich / Freistadt	3,97% (11; 151)	34,72% (10; 144)	3,79% (13; 211)	27,13% (21; 328)
Oberösterreich / Gmunden	5,21% (6; 96)	32,14% (10; 168)	5,88% (7; 85)	16,88% (17; 154)
Oberösterreich / Grieskirchen	6,85 (5; 219)	44,79% (8; 96)	5,77% (8; 104)	34,85% (7; 66)
Oberösterreich / Kirchdorf an der Krems	-	34,74% (7; 95)	6,94% (10; 620)	18,27% (10; 646)
Oberösterreich / Linz	-	-	5,26% (5; 38)	21,93% (12; 114)
Oberösterreich / Linz-Land	13,31% (24; 248)	25,37% (12; 205)	8,04% (24; 311)	23,72% (21; 253)
Oberösterreich / Perg	7,29% (8; 96)	39,39% (7; 66)	4,75% (14; 316)	15,79% (17; 288)
Oberösterreich / Ried im Innkreis	-	21,43% (6; 182)	5,80% (10; 207)	8,99% (11; 278)
Oberösterreich / Rohrbach	10,16% (23; 256)	-	8,48% (16; 165)	19,25% (10; 187)
Oberösterreich / Schärding	15,84% (13; 202)	26,44% (14; 174)	2,48% (26; 807)	14,95% (15; 388)
Oberösterreich / Steyr	-	-	-	-
Oberösterreich / Steyr-Land	8,33% (20; 252)	22,56% (15; 266)	7,73% (13; 233)	20,13% (18; 313)
Oberösterreich / Urfahr-Umgebung	26,29% (18; 251)	14,70% (16; 279)	5,18% (21; 560)	19,48% (31; 775)
Oberösterreich / Vöcklabruck	8,57% (14; 245)	32,67% (23; 300)	5,68% (19; 176)	21,39% (34; 631)
Oberösterreich / Wels	-	-	-	-
Oberösterreich / Wels-Land	9,47% (8; 190)	45,07% (9; 213)	21,14% (11; 246)	24,10% (8; 83)
Salzburg / Hallein	-	55,77% (6; 407)	-	8,01% (6; 287)
Salzburg / Salzburg	-	13,64% (5; 44)	-	-
Salzburg / Salzburg-Umgebung	24,62% (12; 260)	24,51% (17; 408)	13,52% (16; 244)	32,89% (20; 152)
Salzburg / Sankt Johann im Pongau	17,48% (15; 143)	37,80% (12; 127)	6,07% (15; 428)	31,31% (18; 198)
Salzburg / Tamsweg	6,35% (5; 63)	24,00% (6; 100)	2,55% (10; 157)	18,64% (7; 118)
Salzburg / Zell am See	11,89% (11; 143)	17,46% (18; 252)	2,74% (22; 402)	9,98% (23; 601)
Steiermark / Bruck	3,97% (12; 126)	*	*	*
Steiermark / Bruck-Mürzzuschlag	*	21,23% (25; 405)	12,93% (21; 263)	24,94% (23; 405)

Steiermark / Deutschlandsberg	13,46% (5;52)	14,15% (9; 205)	9,09% (8; 154)	24,70% (12; 247)
Steiermark / Feldbach	7,57% (12; 383)	*	*	*
Steiermark / Fürstenfeld	-	*	*	*
Steiermark / Graz	23,81% (8; 42)	18,97% (11; 195)	22,41% (11; 58)	20,69% (13; 145)
Steiermark / Graz-Umgebung	10,06% (19; 318)	29,59% (22; 365)	6,61% (28; 363)	21,73% (41; 543)
Steiermark / Hartberg	10,44% (6; 249)	*	*	*
Steiermark / Hartberg- Fürstenfeld	*	43,97% (11; 614)	5,92% (16; 608)	13,51% (13; 259)
Steiermark / Leibnitz	10,18% (14; 285)	27,04% (18; 196)	11,28% (23; 390)	17,52% (21; 314)
Steiermark / Leoben	-	-	-	26,98% (8; 441)
Steiermark / Liezen	16,30% (7; 184)	10,59% (9;255)	9,41% (18; 372)	16,45% (24; 614)
Steiermark / Murau	6,19% (17; 452)	10,36% (8; 193)	5,96% (10; 235)	13,14% (8;312)
Steiermark / Murtal	-	8,40% (10; 119)	6,25% (6; 64)	8,82% (11; 170)
Steiermark / Mürzzuschlag	5,48% (6; 73)	*	*	*
Steiermark / Radkersburg	-	*	*	*
Steiermark / Südoststeiermark	*	19,60% (17; 352)	15,71% (18; 350)	12,95% (23; 448)
Steiermark / Voitsberg	-	-	-	38,97% (10; 195)
Steiermark / Weiz	7,47% (17; 522)	28,42% (15; 366)	3,89% (13; 386)	13,65% (18; 740)
Tirol / Imst	-	-	5,43% (10; 184)	40,58% (9, 313)
Tirol / Innsbruck	17,24% (5; 29)	24,53% (7; 53)	5,07% (16; 296)	-
Tirol / Innsbruck Land	7,81% (20; 320)	28,07% (17; 171)	6,10% (31; 426)	17,85% (33; 521)
Tirol / Kitzbühel	5,76% (9; 243)	24,00% (5;75)	2,88% (14; 208)	10,26% (18; 273)
Tirol / Kufstein	22,26% (27; 539)	40,30% (26; 335)	3,85% (14; 260)	31,85% (12; 248)
Tirol / Landeck	-	20,62% (7; 97)	5,08% (12; 177)	11,43% (10; 175)
Tirol / Lienz	3,05% (7;262)	19,56% (12; 409)	4,62% (9; 238)	9,42% (12; 276)
Tirol / Reutte	-	-	9,56% (20; 272)	23,29% (13; 249)
Tirol / Schwaz	21,07% (7; 261)	32,10% (17; 486)	3,80% (22; 526)	46,85% (18; 444)
Vorarlberg / Bludenz	9,42% (9; 138)	20,65% (12; 155)	6,80% (16; 147)	30,13% (62; 707)
Vorarlberg / Bregenz	16,16% (20; 359)	20,35% (27; 285)	4,86% (14; 288)	22,01% (69; 977)
Vorarlberg / Dornbirn	31,52% (6;92)	39,62% (9; 106)	3,39% (8; 59)	61,92% (23; 239)
Vorarlberg / Feldkirch	23,44% (14; 128)	40,37% (19; 161)	8,57% (12; 105)	48,07% (52; 491)
Wien / Wien	19,18% (32; 318)	51,53% (66; 458)	11,48% (41; 479)	24,76% (70; 832)

1.4.4 Symptome

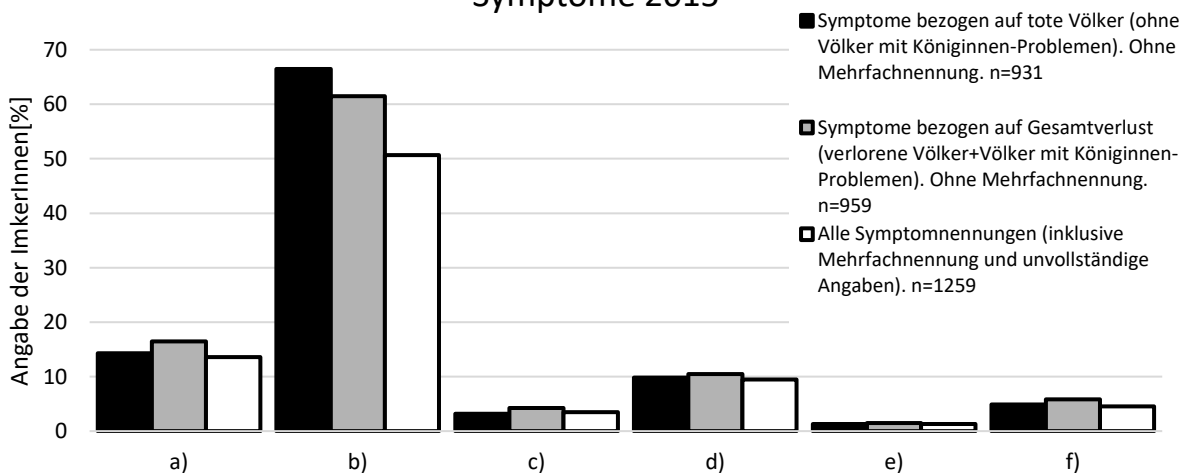
Wichtig für eine Untersuchung der Winterverluste sind die Symptome, die diese begleiten. Imkereien mit Winterverlusten wurden gebeten, die an ihren Völkern beobachteten Symptome zu nennen. Folgende einfach und ohne weitere Hilfsmittel zu beurteilenden Symptome standen zur Auswahl: a) viele tote Bienen im oder vor dem Volk, b) keine oder nur wenige tote Bienen im oder vor dem Volk, c) tote Bienen in Zellen und kein Futter im Stock, d) tote Bienen in Zellen, aber genug Futter im Stock, e) aufgrund von Elementarschäden (Flut, Vandalismus, Bär, Specht, Erschütterung etc.) verloren (2016/17 auf andere Weise abgefragt), f) aufgrund anderer oder unbekannter Schadbilder verloren.

Abbildung 1.8a-c zeigt die Häufigkeiten der die Winterverluste von 2014/15 bis 2016/17 begleitenden Symptome. Korrekterweise sollte sich die Angabe der Symptome nur auf die toten oder verlorenen Völker und nicht zusätzlich auch auf Völker mit Königinnen-Problemen beziehen. Der schwarze Balken in Abbildung 1.8a-c zeigt die Häufigkeit der genannten Symptome der toten oder verlorenen Völker (unter Ausschluss von Völkern, die durch Königinnen-Probleme verloren wurden). In diesem Fall inkludierte die Analyse nur Angaben ohne Mehrfachnennungen, das heißt die Summe der genannten Symptome entspricht der Anzahl an verlorenen Völkern.

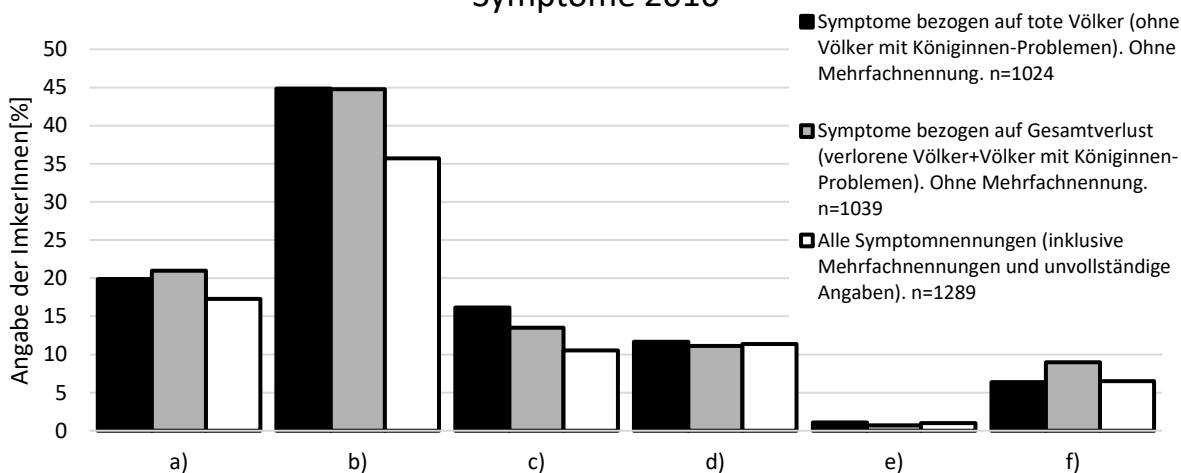
Die Häufigkeiten wurden anschließend bezogen auf den Gesamtverlust berechnet. Die Gesamtverluste inkludieren die verlorenen Völker und Völker mit Königinnen-Problemen. Zuerst wurden nur jene Antworten ausgewertet, bei denen der Gesamtverlust mit der Anzahl der Symptom-Nennungen übereinstimmt. Diesen Sachverhalt stellt der graue Balken in Abbildung 1.8a-c dar. Zusätzlich wurden alle Symptom-Nennungen inklusive Mehrfachnennung und unvollständigen Angaben für die Analyse herangezogen. Der weiße Balken in Abbildung 1.8a-c zeigt somit alle von den TeilnehmerInnen genannten Symptome. Aufgrund der Möglichkeit von Mehrfachnennungen kann hier die Anzahl der aufsummierten Symptom-Nennungen über der Anzahl der insgesamt verlorenen Völker liegen.

Wie diese Analyse mit drei unterschiedlichen Auswertemethoden zeigt, ist die Ungenauigkeit im Zuordnen der Symptome vernachlässigbar, wenn es um die Identifikation der häufigsten bei Völkerverlusten aufgetretenen Symptome geht. Aus allen drei Ansätzen der Analyse ist ersichtlich, dass 2014/15 bis 2016/17 das häufigste Symptom der verlorenen Völker „keine oder nur wenige tote Bienen im oder vor dem Volk“ (b) war. 2014/15 und 2015/16 wurden danach vermehrt „tote Bienen im oder vor dem Volk“ festgestellt (a). 2016/17 konnten ImkerInnen bei mehr als 30% ihrer verlorenen Völker tote Bienen trotz genügend Futter im Stock finden (d). Mehr als 20% der Völker hatten „viele tote Bienen im oder vor dem Volk“. Elementarschäden (e) waren bei den Winterverlusten 2014/15 und 2015/16 im Vergleich zu allen anderen Symptomen selten, wie aus Abbildung 1.8a-b ersichtlich ist. 2016/17 wurden die durch Elementarschäden hervorgerufenen Verluste separat abgefragt und sind somit nicht eigens als Symptom in der Abbildung 1.8c angeführt.

Symptome 2015



Symptome 2016



Symptome 2017

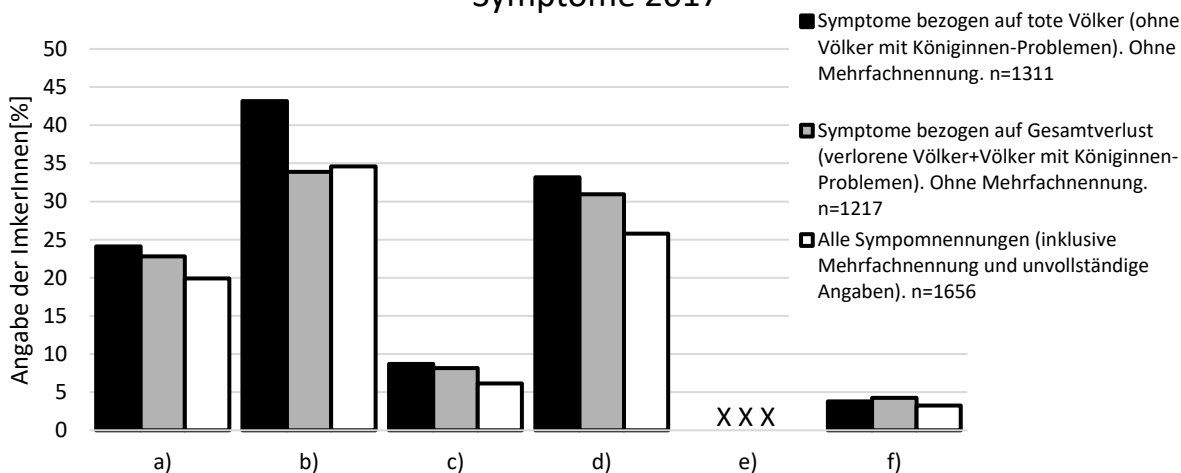


Abbildung 1.8a-c: Häufigkeit der von ImkerInnen berichteten Symptome a)-f) in Prozent für die Winter 2014/15 bis 2016/17. a) = viele tote Bienen im oder vor dem Volk, b) = keine oder nur wenige tote Bienen im oder vor dem Volk, c) = tote Bienen in Zellen, kein Futter im Stock, d) = tote Bienen in Zellen, aber genug Futter im Stock, e) = aufgrund von Elementarschäden (Flut, Vandalismus, Specht, etc.) verloren, f) =

aufgrund keines der oben genannten oder unbekannter Symptome verloren. n= Imkereien. 2016/17 wurde der Elementarschaden außerhalb der Symptombeschreibung abgefragt (Abbildung 1.8c): XXX).

1.4.5 Verteilung der Völkerverluste

Für die Berechnung wird für jeden einzelnen Imkereibetrieb die Höhe des Gesamtverlustes (d.h. die Summe der toten oder verlorenen Völker und der von Königinnen-Problemen betroffenen Völker) der insgesamt eingewinterten Völker in Prozent berechnet. Grafisch ist die Verteilung der Verluste in Abbildung 1.9a-d dargestellt. Im Winter 2013/14 und 2015/16 lagen die Verluste der teilnehmenden Imkereibetriebe vorwiegend zwischen 0% und 10% (2013/14: 59,2%; 2015/16: 68,8% der Imkereien). 2014/15 und 2016/17 hingegen waren nur 33,7% bzw. 38,7% der Imkereien von Verluststraten von 10% oder weniger betroffen. Insgesamt zeigte sich eine größere Streuung bei den pro Imkerei erlittenen Winterverlusten in den Jahren 2014/15 und 2016/17. Zudem verzeichneten 2014/15 und 2016/17 9,3% bzw. 6,5% der TeilnehmerInnen mehr als 90% Verlust. 2013/14 und 2015/16 verloren nur 1,7% bzw. 1,8% der Betriebe mehr als 90% ihrer Völker.

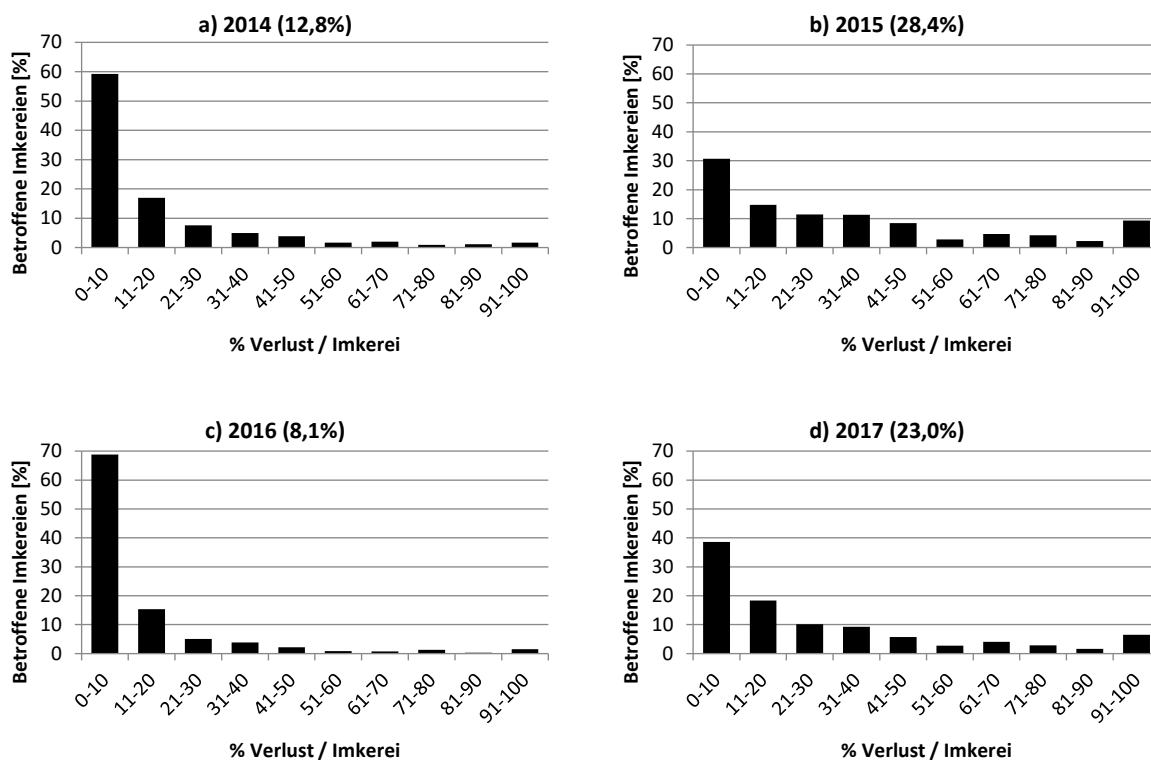


Abbildung 1.9a-d: Verteilung der Völkerverluste vom Winter 2013/14 bis 2016/17 in Prozent pro teilnehmender Imkerei. In Klammer: Verlustrate des jeweiligen Winters.

1.4.6 Risikoanalyse

In der Risikoanalyse werden die Winterverluststraten verschiedener Gruppen von Betriebsweisen miteinander verglichen. Besteht beispielsweise zwischen zwei Gruppen von Betriebsweisen ein signifikanter Unterschied, kann man daraus Schlussfolgerungen über die Bedeutung dieses Risikofaktors für Winterverluste von Bienenvölkern ziehen. Überlappen die Konfidenzintervalle der Verluststraten von zwei oder mehreren Gruppen nicht, kann die untersuchte Betriebsweise als signifikanter Einflussfaktor auf die Höhe der Winterverluste betrachtet werden.

1.4.6.1 Betriebsgröße

Bei unserer Untersuchung hat sich gezeigt, dass die Betriebsgröße von Imkereien einen Risikofaktor für Winterverluste darstellt. Kleinere Betriebe mit bis zu 50 Völkern erlitten 2014/15 (31,2%, Konfidenzintervall: 29,6-32,8%) und 2015/16 (9,8%, Konfidenzintervall: 9,0-10,7%) signifikant höhere Verluste als Betriebe mit über 50 Völkern (2014/15: 22,9%, Konfidenzintervall: 18,7-27,7%. 2015/16: 4,8%, Konfidenzintervall: 3,6-6,4%). In Abbildung 1.10b und c sind diese zwei Gruppen grafisch dargestellt. 2013/14 und 2016/17 konnte bei dieser Unterteilung kein Unterschied gefunden werden. Schließt man allerdings 2016/17 die beiden Betriebe mit mehr als 1000 eingewinterten Völkern von der Analyse aus, kann auch hier ein signifikant geringerer Winterverlust bei größeren Betrieben (19,0%, Konfidenzintervall: 15,6-22,8%) im Vergleich zu kleineren Imkereien (24,4%, Konfidenzintervall: 23,2-25,7%) festgestellt werden.

Die Betriebsgrößen wurden im nächsten Schritt zur genaueren Betrachtung in drei Gruppen eingeteilt: in Betriebe mit ein bis 20 Völkern, solche mit 21-50 Völkern und Betriebe mit mehr als 50 Völkern. Signifikant höhere Winterverluste konnten in der Gruppe „1-20“ im Vergleich zur Gruppe „>50“ 2013/14, 2014/15 und 2015/16 festgestellt werden. Wieder lassen sich unter Ausschluss von den beiden TeilnehmerInnen, welche mehr als 1000 Völker eingewintert haben, auch 2016/17 signifikant geringere Verluste bei Betrieben mit mehr als 50 Völkern (19%, Konfidenzintervall: 15,6-22,8%) im Vergleich zur Gruppe „1-20“ (25,5%, Konfidenzintervall: 24-27%) feststellen. Zudem zeigten sich 2014/15 signifikant höhere Verluste bei der Gruppe „1-20“ im Vergleich zur Gruppe „21-50“. Bei der Untersuchung 2015/16 wurden signifikante Unterschiede in der Wintersterblichkeit zwischen allen drei Gruppen festgestellt (Abbildung 1.11a-d).

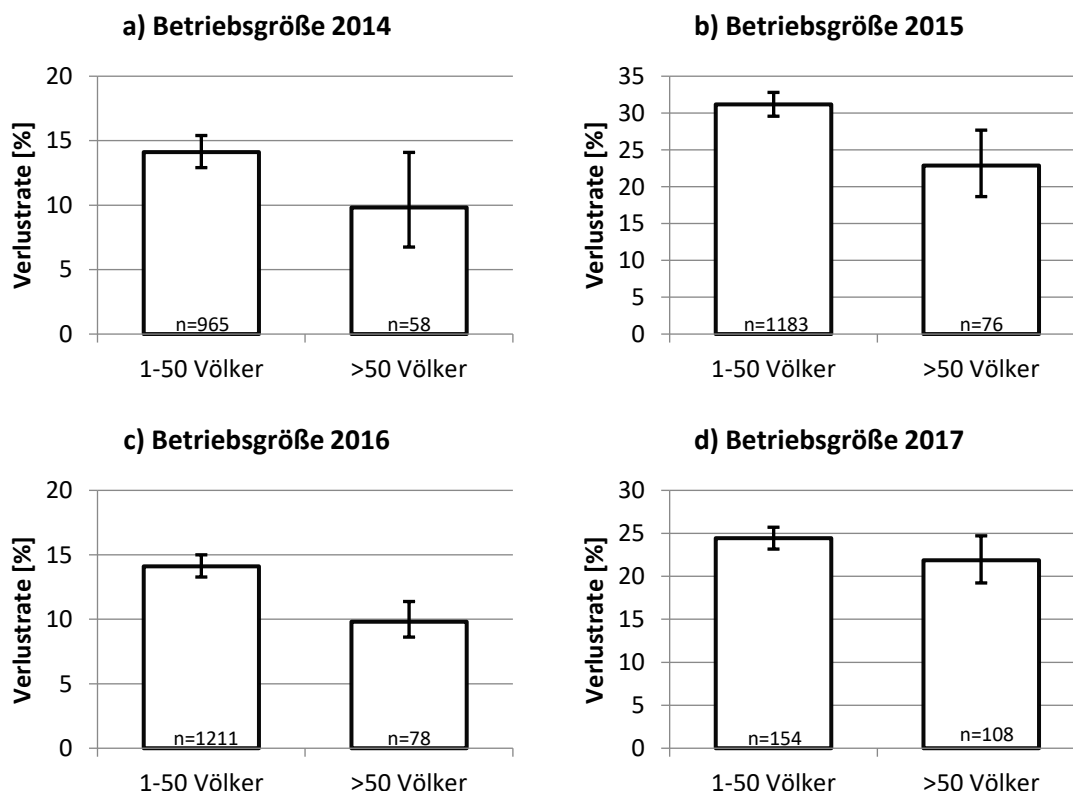


Abbildung 1.10a-d: Höhe der Winterverluste 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Betriebsgröße. Einteilung in 1-50 und >50 Völker. 2014/15 und 2015/16 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

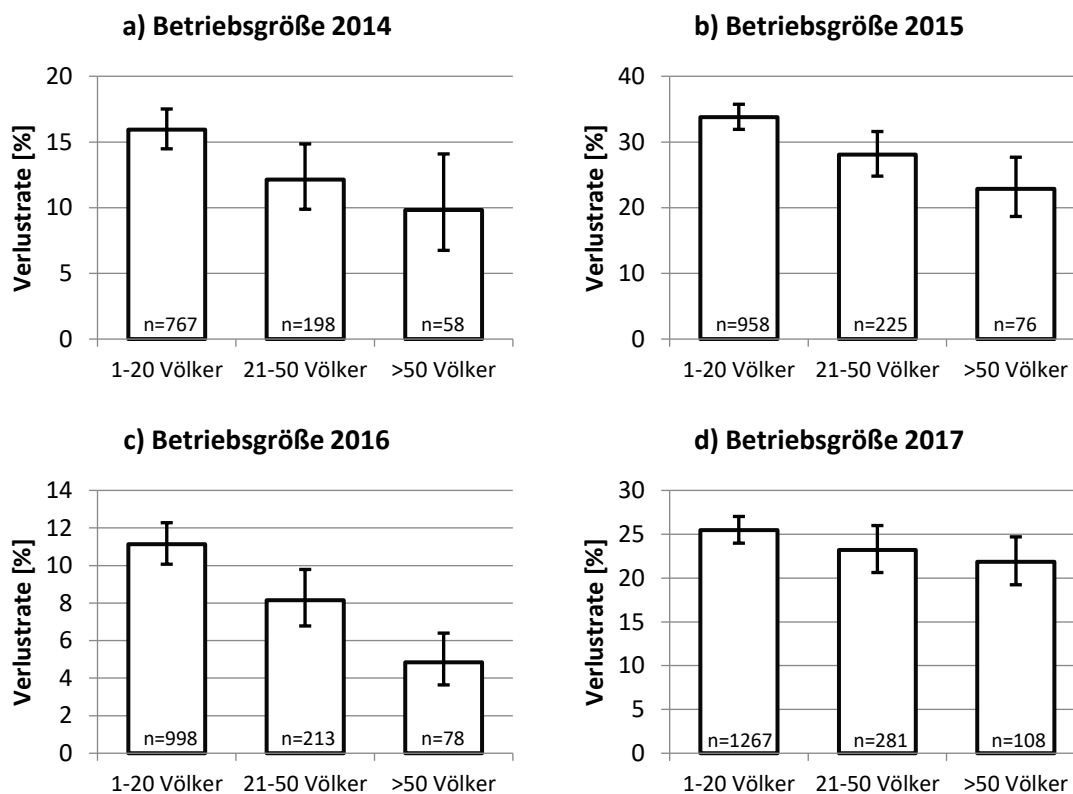


Abbildung 1.11a-d: Höhe der Winterverluste 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Betriebsgröße. Einteilung in 1-20, 21-50 und >50 Völker. Nur 2016/17 besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

1.4.6.2 Stand- versus Wanderimkereien

Der Transport von Bienenvölkern kann Stress für die Bienen bedeuten, aber durch den Transport zu Trachtquellen eine verbesserte Nahrungsversorgung ermöglichen. Deswegen wurde untersucht, ob sich Wanderimkerei auf die Wintersterblichkeit auswirkt. Die an unserer Studie teilnehmenden ImkerInnen wurden gefragt, ob sie ihre Bienen zu Trachtquellen oder Bestäubungseinsätzen transportieren. 2013/14 bis 2016/17 gab es jeweils keine signifikanten Unterschiede in der Verlustrate zwischen Wander- und Standimkereien (siehe Abbildung 1.12a-d). Somit scheint das Transportieren der Bienenvölker keinen signifikanten Einfluss auf die Winterverlustrate zu haben.

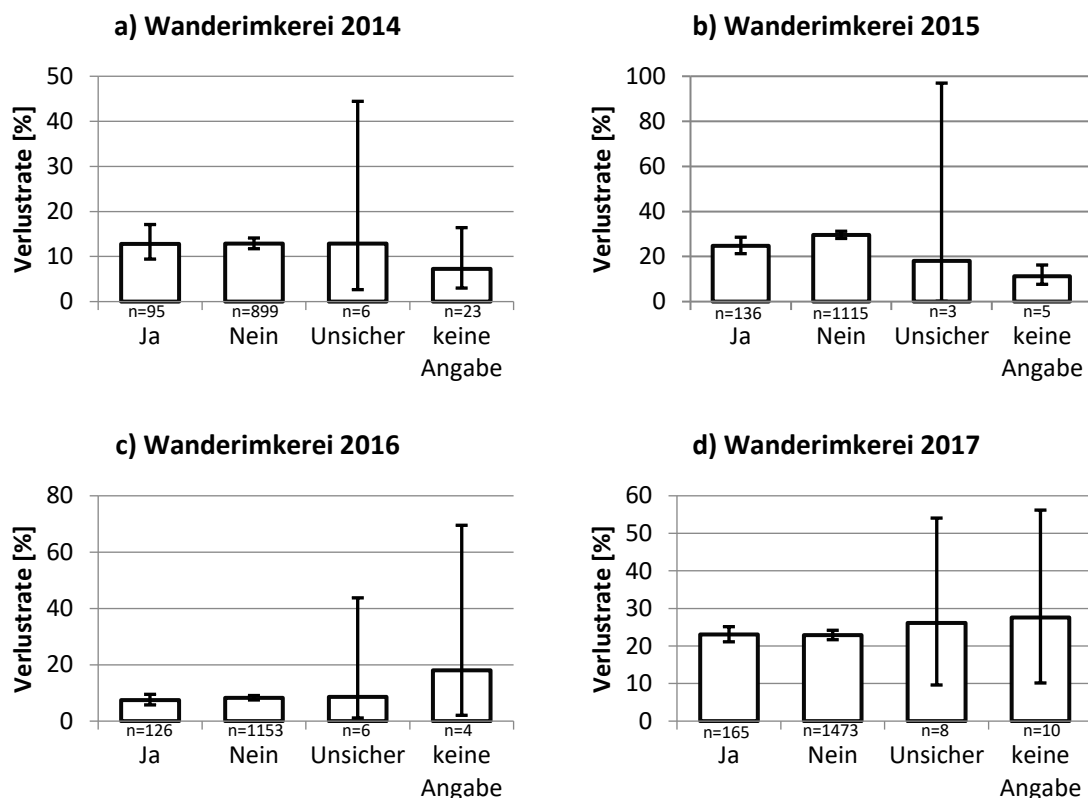


Abbildung 1.12a-d: Höhe der Winterverluste 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) von Wander- und Standimkereien. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen Stand- und Wanderimkerei.

1.4.6.3 Wabenhygiene

Wabenhygiene in Form regelmäßigen Ersetzens alter Brutwaben kann einen positiven Einfluss auf die Gesundheit der Bienen haben und möglicherweise auch das Überleben der Bienen im Winter beeinflussen. Die ImkerInnen wurden gefragt, welchen Anteil ihrer Waben (in Prozent) sie erneuert haben. ImkerInnen, die diese Frage nicht beantwortet haben und jene, die ihre Waben nicht erneuert haben, erlitten 2013/14 und 2015/16 die größten Verluste. Auch 2014/15 verzeichneten jene Imkereien, die keine Angabe zum Anteil des erneuten Wabenmaterial gemacht haben, signifikant höhere Verluste als Betriebe, die ein bis 30% bzw. mehr als 50% der Waben ausgetauscht haben. Eine signifikant geringere Verlustrate konnte bei 1-30% erneuerten Waben im Vergleich zu einem mehr als 50%-igem Austausch 2013/14 festgestellt werden. 2015/16 war jedoch der Völkerverlust signifikant geringer, wenn mehr als 50% der Waben im Einwinterungsjahr ausgetauscht wurden. Bei der Erhebung der Winterverluste 2016/17 konnten keine signifikanten Unterschiede aufgrund der Wabenhygiene festgestellt werden (Abbildung 1.13a-d).

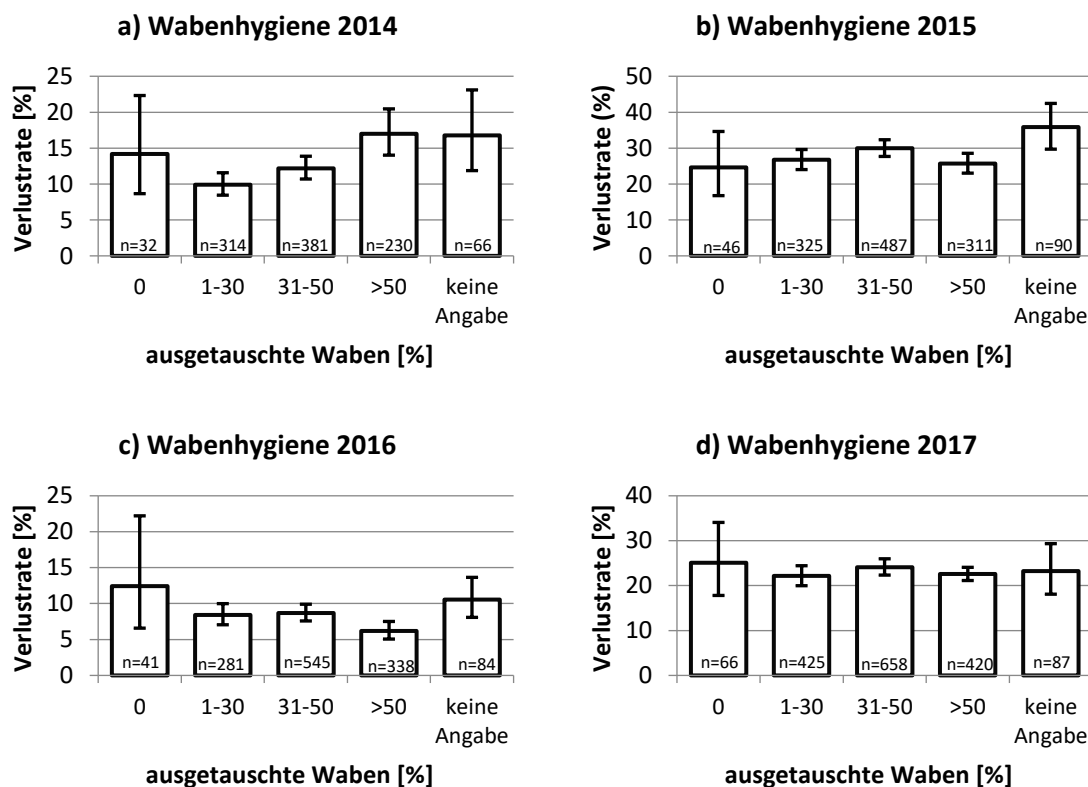
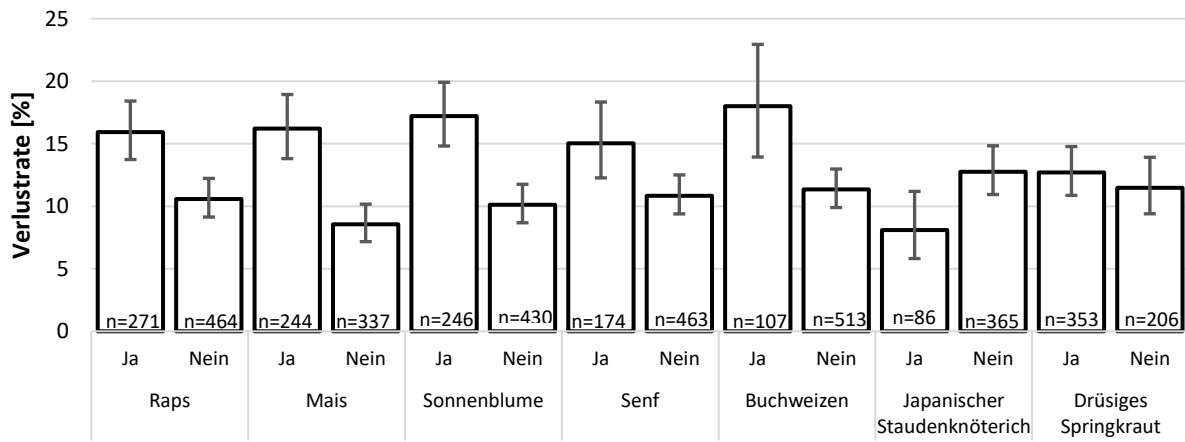


Abbildung 1.13a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Abhängigkeit vom Anteil der im Einwinterungsjahr erneuerten Brutwaben in Prozent ($\pm 95\%$ CI). Nur 2016/17 bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

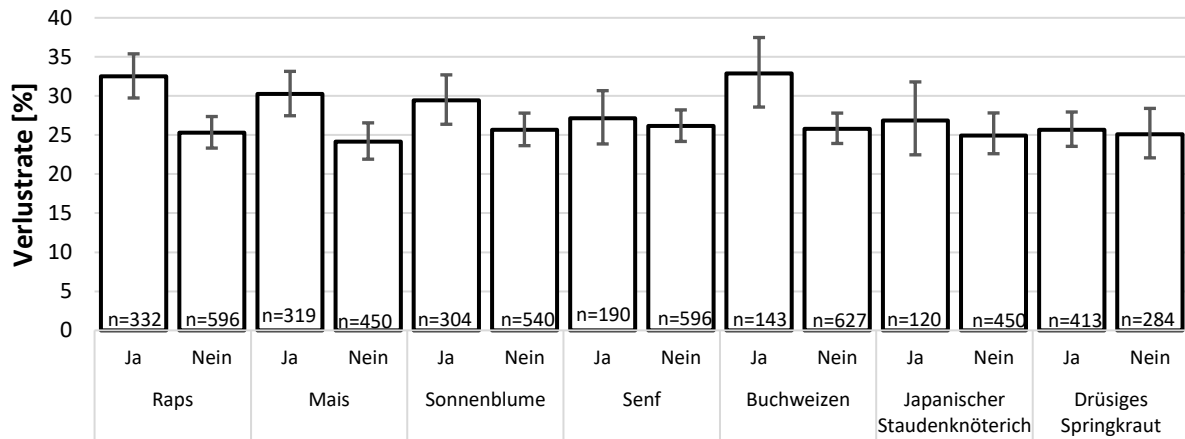
1.4.6.4 Trachtangebot

ImkerInnen wurden nach spezifischen Trachtquellen, die von ihren Bienen befliegen wurden, gefragt, um mögliche Risikotrachtquellen herauszufinden. Zur Auswahl standen in allen vier Jahren Raps, Mais, Sonnenblume, Senf, Buchweizen, Japanischer Staudenknöterich und Drüsiges Springkraut. Vergleicht man die Unterschiede in den Verlustraten der Jahre 2013/14, 2014/15 und 2015/16, so sind diese in allen drei Jahren bei Vorhandensein von Raps, Mais und Buchweizen signifikant höher. Die Sonnenblume als Trachtpflanze führte 2013/14 und 2015/16 zu signifikant höheren Völkerverlusten. 2016/17 waren allerdings nur bei Vorhandensein der Trachtpflanze Mais signifikante Unterschiede festzustellen. Das Vorhandensein bzw. Nicht-Vorhandensein von Senf, Japanischem Staudenknöterich und Drüsigem Springkraut hatte in keinem der vier Jahre Einfluss auf die Wintersterblichkeit (Abbildung 1.14a-d).

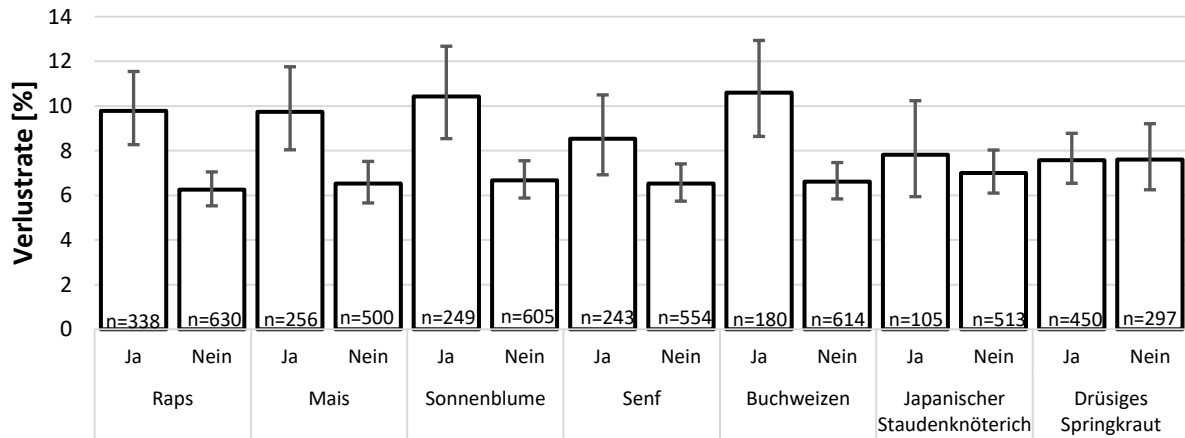
a) Trachtpflanzen 2014



b) Trachtpflanzen 2015



c) Trachtpflanzen 2016



d) Trachtpflanzen 2017

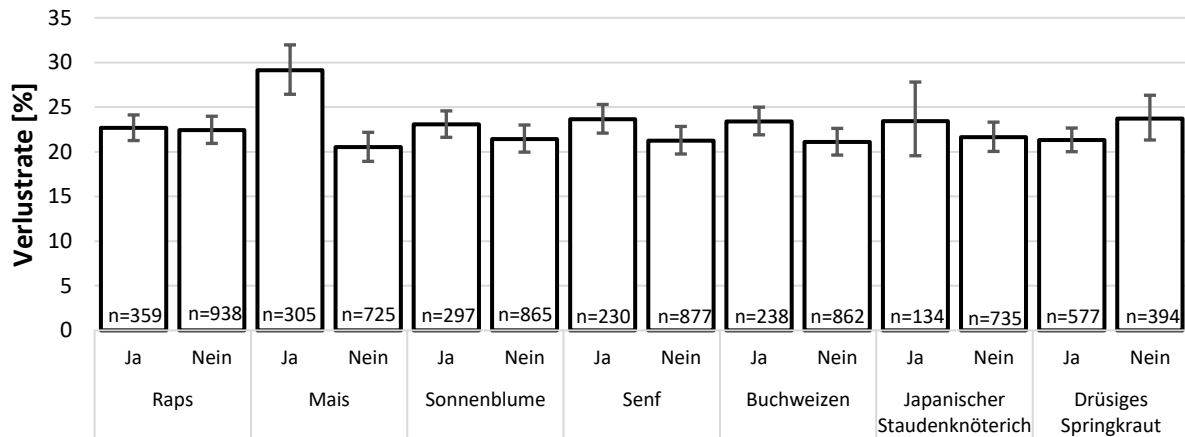
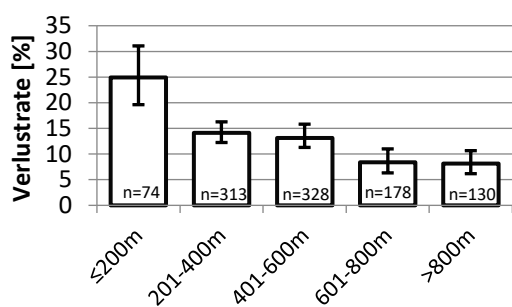


Abbildung 1.14a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Abhängigkeit von dem Trachtangebot in Prozent ($\pm 95\%CI$); n= Betriebe. Es bestehen signifikante Unterschiede in der Wintersterblichkeit in Abhängigkeit vom Vorhandensein der Trachtpflanzen in allen vier Wintern. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

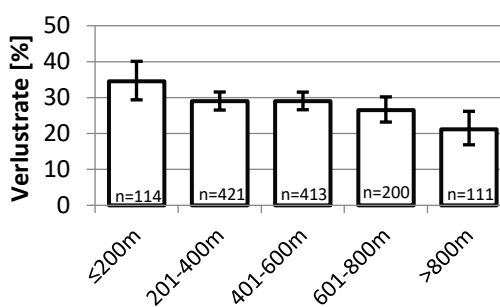
1.4.6.5 Seehöhe

Um den Einfluss der Seehöhe auf die Wintersterblichkeit von Bienenvölkern zu untersuchen, wurden die Winterstandorte bezüglich ihrer Seehöhe in fünf Klassen eingeteilt ($\leq 200\text{m}$, 201-400m, 401-600m, 601-800m, $>800\text{m}$). ImkerInnen, die ihre Völker auf einer Seehöhe bis 200m halten, hatten in den ersten drei Wintern eine signifikant höhere Verlustrate als Imkereien, welche ihre Völker über 200m Seehöhe halten: 2013/14 war die Verlustrate im Vergleich mit allen anderen vier Klassen signifikant höher. 2014/15 waren höhere Verluste verglichen mit der Klasse „ $>800\text{m}$ “ zu finden. 2015/16 war nur im Vergleich mit der Klasse „201-400m“ kein signifikanter Unterschied festzustellen. Im Winter 2016/17 gab es signifikante Unterschiede in der Verlustrate zwischen den Klassen „ $\leq 200\text{m}$ “ und „201-400m“ und zwischen den Klassen „201-400m“ und „ $>800\text{m}$ “. In diesem Winter war erstmals die Verlustrate bei Betrieben bis 200m Seehöhe geringer als bei höher gelegenen Betrieben. Eine signifikant geringere Verlustrate von 20,8% (Konfidenzintervall: 18,1-23,8%) war allerdings bei Betrieben über 800m Seehöhe im Vergleich mit Betrieben, welche zwischen 201m und 400m Höhe liegen (25,8%, Konfidenzintervall: 23,9-27,9%), zu finden. Das bestätigt den Trend geringerer Winterverluste in höheren Lagen der drei vorangegangenen Winter. Zusätzlich zeigten sich 2013/14, 2014/15 und 2015/16 signifikant höhere Verlustraten bei der Klasse „201-400m“ im Vergleich zu höher gelegenen Betrieben. Konkret 2013/14 zu den Klassen „601-800m“ und „ $>800\text{m}$ “, 2014/15 zu der Klasse „ $>800\text{m}$ “ und 2015/16 zu allen höher gelegenen Betrieben. 2014/15 wurden auch noch signifikant geringere Verluste in der Klasse „ $>800\text{m}$ “ verglichen mit der Klasse „401-600m“ festgestellt. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass 2013/14 bis 2015/16 Imkereien, welche ihre Bienen auf unter 200m Seehöhe hielten, stärkere Verluste als Betriebe in höheren Lagen verzeichneten. Im Winter 2016/17 trifft dieser Sachverhalt nur auf Betriebe, die ihre Bienen auf einer Höhe zwischen 201m und 400m halten, verglichen mit Betrieben auf über 800m Seehöhe zu (Abbildung 1.15a-d). Somit verzeichneten Betriebe unter 200m Seehöhe 2016/17 erstmals geringere Verluste als höher gelegene.

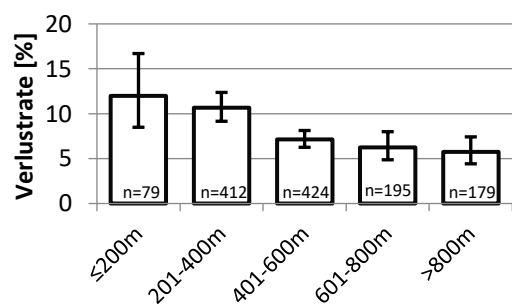
a) Seehöhe 2014



b) Seehöhe 2015



c) Seehöhe 2016



d) Seehöhe 2017

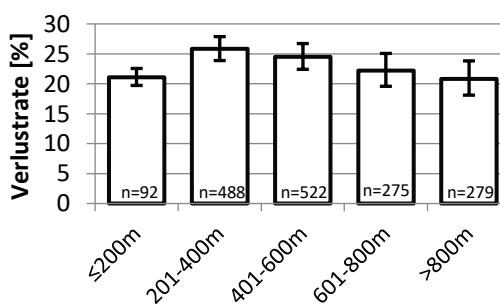


Abbildung 1.15a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%CI$) in Abhängigkeit von der Seehöhe der Winterstandorte. Es bestehen signifikante Unterschiede in allen vier Wintern. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

1.4.6.6 Bekämpfung der Varroamilbe

Ein wichtiger Teil der Untersuchung sind Erhebungen über die Behandlungsmethoden gegen die Varroamilbe und deren Auswirkung auf die Winterverluste. Abbildung 1.16 zeigt die am Fragebogen zur Auswahl gestellten Behandlungsmethoden. Dabei wird aus Gründen der internationalen Vergleichbarkeit der von COLOSS erarbeitete Katalog von Anwendungen verwendet. Nachfolgend wird zuerst die Häufigkeit der verwendeten Methoden dargestellt. Anschließend wurden die einzelnen Methoden im Hinblick auf ihren Einfluss auf die Winterverluste betrachtet. Für die detaillierte Risikoanalyse wurden nur jene Behandlungsmethoden berücksichtigt, von denen auch genügend Datensätze vorhanden waren, um eine valide Aussage treffen zu können.

19 In welchen Monaten haben Sie Befallsmessungen oder Bekämpfungen gegen die Varroa-Milbe (bei Wirtschaftsvölkern) durchgeführt oder <u>begonnen</u>?	Bitte nennen Sie bei monatsübergreifenden Behandlungen nur den ersten Monat!												
	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> 2015 2016 </div>												
	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember	Jänner	Februar	März	April
Bestimmung Varroa-Befall (Milbenfall o.ä. Methode)													
Drohnenbrutentnahme													
Hyperthermie (Hitzebehandlung)													
Andere biotechnische Methode (Fangwabe, Bannwabe, Arbeiterinnen-Brutentnahme etc.)													
Ameisensäure Kurzzeitbehandlung (inkl. MAQS)													
Ameisensäure Langzeitbehandlung													
Milchsäure													
Oxalsäure Träufeln (oder Sprühen)													
Oxalsäure Verdampfen													
Bienenwohl / Beevital-Hiveclean													
Thymol (Apiguard, Apilife VAR, Thymovar)													
Tau-fluvalinat (Apistan)													
Flumethrin (Bayvarol)													
Amitraz (in Streifen, Apivar, Apitraz)													
Amitraz (Verdampfen)													
Coumaphos (Perizin)													
Coumaphos (Checkmite+)													
Anderes chemisches Produkt (welches?)													
Anderer Methode (welche?)													

Aufgrund des internationalen Ansatzes dieser Untersuchung finden Sie in dieser Liste auch in Österreich nicht empfohlene/zugelassene Mittel. Eine Nennung dieser stellt keine Empfehlung unsererseits dar.

Abbildung 1.16: Im Fragebogen zur Auswahl stehende Behandlungsmethoden gegen die Varroamilbe.

Tabelle 1.10 zeigt die durchgeführten Methoden der Varroabekämpfung von allen Imkereien, die uns Daten im gesamten Untersuchungszeitraum von 2013/14 bis 2016/17 zur Verfügung gestellt haben. 80,7% der Imkereien bestimmten in mindestens einem Monat des abgefragten Zeitraums den Varroabefall ihrer Völker mit einer Methode (zum Beispiel natürlicher Milbenfall mit Stockwindel oder Diagnose mittels Staubzuckermethode). Die am häufigsten zur Varroabekämpfung durchgeführte Methode ist die Drohnenbrutentnahme, die von 63,3% der Imkereien in zumindest einem Monat durchgeführt wurde. Danach folgten

Bekämpfungsmaßnahmen mit organischen Säuren (Ameisensäure und Oxalsäure). 83% der Imkereien in Österreich führten eine Ameisensäurebehandlung durch (Kurzzeit oder Langzeit). 75,6% der ImkerInnen haben in den vier Untersuchungsjahren eine Behandlung mit Ameisensäure und eine Behandlung mit Oxalsäure (egal in welcher Anwendungsform) von April des Einwinterungsjahres bis April des Auswinterungsjahres durchgeführt. Die restlichen 24,4% erfüllten dieses Kriterium nicht, behandelten zum Beispiel mit Thymolprodukten in Kombination mit Oxalsäure, oder verwendeten ausschließlich Oxalsäure oder Ameisensäure. Thymol, egal ob in alleiniger Anwendung oder in Kombination mit anderen Methoden, wurde von 18,3% der Betriebe als Methode zur Bekämpfung verwendet. Biotechnische Methoden abseits der Drohnenbrutentnahme oder Hyperthermie wurden von 16,2% der Imkereien angewandt, dazu zählen etwa die Fangwabe, die Bannwabe oder die komplette Arbeiterinnen-Brutentnahme. Hyperthermie (=Hitzebehandlung) oder Milchsäure wurden von etwa 5,5% bzw. 5,7% der Imkereien angewandt. Synthetische Acarizide zur Bekämpfung der Varroamilbe wurden nur in einem geringen Ausmaß genannt.

1.4.6.6.1 Bestimmung des Varroabefalls

Um herauszufinden, ob die Bestimmung des Varroabefalls einen möglichen Einfluss auf die Wintersterblichkeit haben könnte, wurden die ImkerInnen gefragt, ob sie den Varroabefall mit einer Methode bestimmt hatten oder nicht. Bei ImkerInnen, die den Varroabefall bestimmt hatten, lag die Verlustrate 2015/16 bei 7,6% (Konfidenzintervall: 6,9-8,4%) und damit signifikant unter jener von ImkerInnen, die den Varroabefall nicht bestimmt hatten (15,0%, Konfidenzintervall: 10,6-19,7%). 2013/14, 2014/15 und 2016/17 hatte die Durchführung einer Bestimmung keinen signifikanten Einfluss auf die Winterverlustrate (Abbildung 1.17a-d).

Auswirkung einer mehrfachen Varroa-Bestimmung auf die Winterverluste

Des Weiteren interessierte uns die Dauer, das heißt die Anzahl der Monate, in denen die Bestimmung gemacht wurde. Die Bestimmungsdauer wurde in drei Klassen unterteilt: Null Monate (=keine Bestimmung), Bestimmungszeitraum von einem bis drei Monaten und Bestimmungszeitraum über mehr als drei Monate. 2013/14 waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen. Signifikant geringere Völkerverluste wurden 2014/15 und 2016/17 bei einer Bestimmung in mehr als drei Monaten im Vergleich zu einer Bestimmung in einem bis drei Monaten gefunden. 2015/16 zeigte sich, dass die Bestimmung an sich und nicht die Dauer dieser einen Einfluss auf die Wintersterblichkeit hat, da die Verlustrate sowohl bei einer Bestimmung über einen Zeitraum von einem bis drei Monaten als auch bei einer Bestimmung über einen Zeitraum von mehr als drei Monaten signifikant unter jener bei keiner Bestimmung lag (Abbildung 1.18a-d).

Tabelle 1.10: Anzahl (Prozent) der Imkereien, welche die genannte Methode zur Bekämpfung der Varroamilbe in zumindest einem Monat angewendet haben. Zusammenfassung aller im Zeitraum 2013/14 bis 2016/17 erhobenen Daten.

	Anzahl Ja [%]	Anzahl Nein [%]	Summe
Bestimmung Varroa-Befall (Milbenfall o. ä. Methode)	3923 (80,7%)	938 (19,3%)	4861
Drohnenbrutentnahme	3156 (63,3%)	1830 (36,7%)	4986
Hyperthermie	273 (5,5%)	4713 (94,5%)	4986
Andere biotechnische Methode (Fangwabe, Bannwabe, Arbeiterinnen-Brutentnahme etc.)	808 (16,2%)	4178 (83,8%)	4986
Ameisensäure Kurzzeitbehandlung (inkl. MAQS)	2600 (52,1%)	2386 (47,9%)	4986
Ameisensäure Langzeitbehandlung	2305 (46,2%)	2681 (53,8%)	4986
Milchsäure	282 (5,7%)	4704 (94,3%)	4986
Oxalsäure Tröpfeln (oder Sprühen)	1374 (27,6%)	3612 (72,4%)	4986
Oxalsäure Verdampfen	1804 (36,2%)	3182 (63,8%)	4986
Bienenwohl/Beevital-Hiveclean	2091 (41,9%)	2895 (58,1%)	4986
Thymol (Apiguard, Apilife VAR, Thymovar)	914 (18,3%)	4072 (81,7%)	4986
Tau-fluvalinat (Apistan)	6 (0,1%)	4980 (99,9%)	4986
Flumethrin (Bayvarol)	8 (0,2%)	4978 (99,8%)	4986
Amitraz (in Streifen, Apivar, Apitraz)	30 (0,6%)	4956 (99,4)	4986
Amitraz (Verdampfen)	14 (0,3%)	4972 (99,7%)	4986
Coumaphos (Perizin)	10 (0,2%)	4976 (99,8%)	4986
Coumaphos (Checkmite+)	7 (0,1%)	4979 (99,9%)	4986
Anderes chemisches Produkt	13 (0,3%)	4973 (99,7%)	4986
Anderere Methode	84 (1,7%)	4902 (98,3%)	4986
Ameisensäure (Kurzzeit- ODER Langzeitbehandlung)	4139 (83,0%)	847 (17,0%)	4986
Ameisensäure (Kurzzeit- ODER Langzeitbehandlung) und Oxalsäurebehandlung (Tröpfeln oder Sprühen oder Verdampfen oder Bienenwohl oder Beevital-Hiveclean)	3771 (75,6%)	1215 (24,4%)	4986

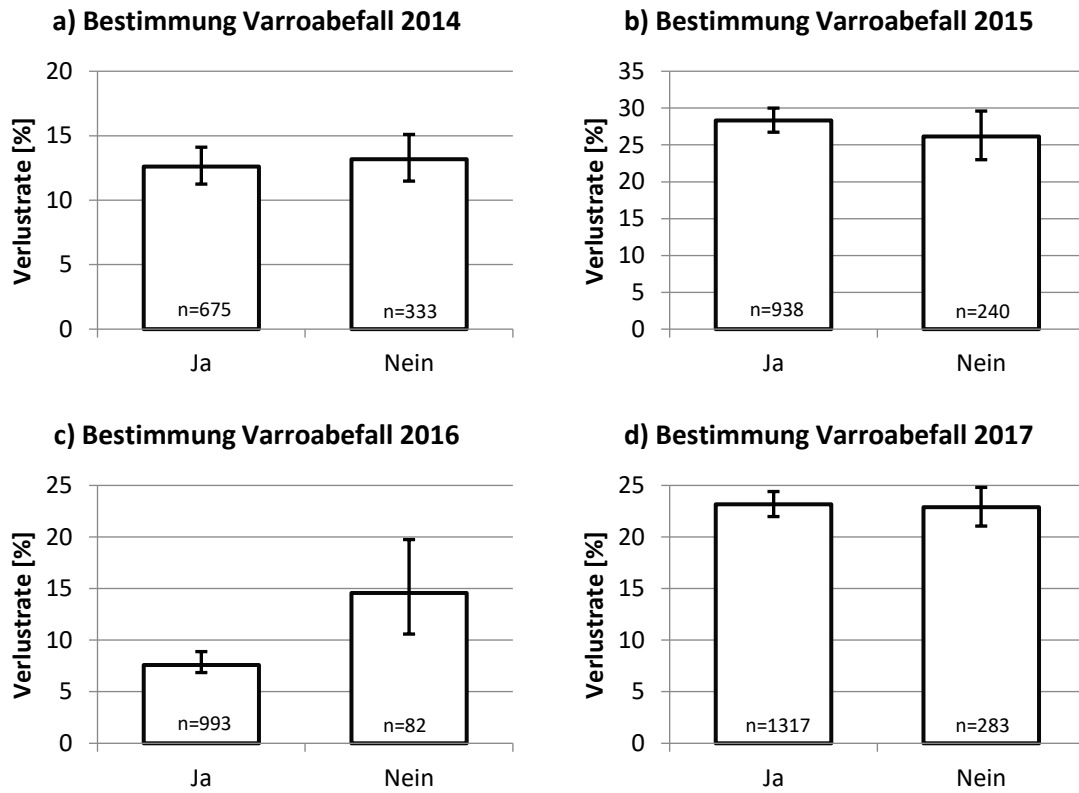


Abbildung 1.17a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von einer durchgeführten Abschätzung des Varroabefalls mit nicht näher abgefragten Methoden. Nur 2015/16 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

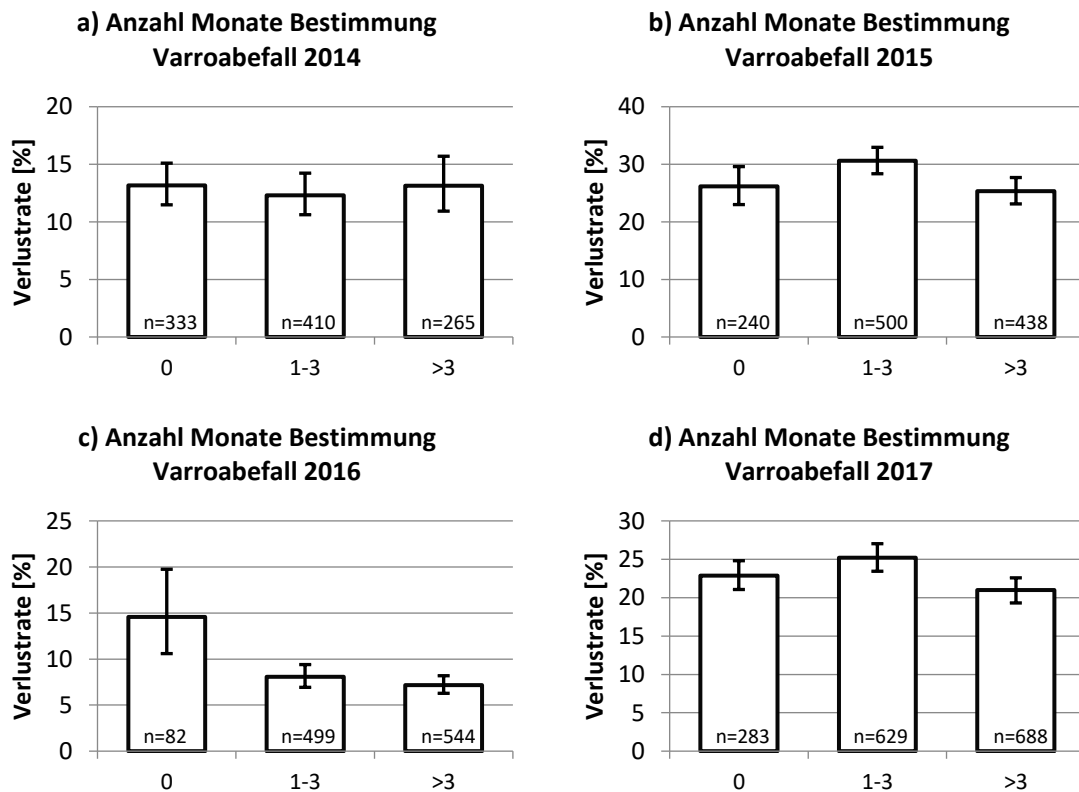


Abbildung 1.18a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Dauer der Bestimmung des Varroabefalls. Nur 2013/14 besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

Zudem haben wir festgestellt, wie häufig eine Varroabestimmung im Zeitraum zwischen April des Einwinterungsjahres bis April des Auswinterungsjahres stattgefunden hat, ersichtlich in Abbildung 1.19a-d. Über alle vier Winter hinweg wurde die Methode „Varroabestimmung“ vorwiegend in den Monaten Juli bis Oktober angewandt. Dabei fand die Anwendung über den gesamten Untersuchungszeitraum im Monat August am häufigsten statt. Wir konnten über die vier Winter hinweg eine Zunahme bei der Methode „Varroabestimmung“ feststellen: Im August 2013 wurde sie von knapp 40% der ImkerInnen angewandt, 2016 im selben Monat schon von über 50%.

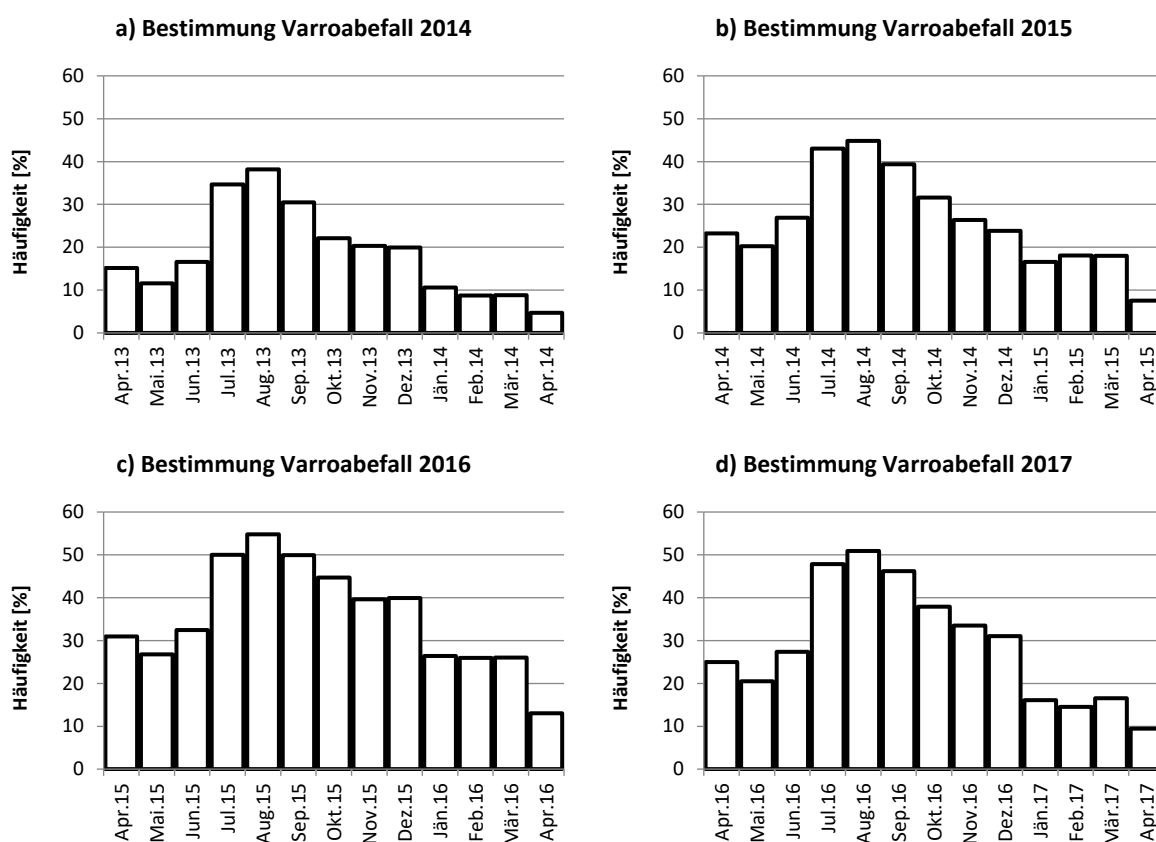


Abbildung 1.19a-d: Häufigkeiten der Bestimmung des Varroabefalls von 2013/14 bis 2016/17 vom April des Einwinterungsjahres bis April des Auswinterungsjahres in Prozent. 2014 n=1008, 2015 n=1178, 2016 n=1075, 2017 n=1600.

Interessant wäre zu wissen, in welchem Monat eine Varroabestimmung den größten Einfluss auf die Winterverlustrate hat und somit am effektivsten ist. Abbildung 1.20a-d zeigt die Winterverlustrate der TeilnehmerInnen, welche eine Bestimmung im jeweiligem Monat durchgeführt haben und die Winterverlustrate der TeilnehmerInnen, die keine Bestimmung im jeweiligen Monat durchgeführt haben. Abgefragt wurde für den Zeitraum von April des Einwinterungsjahres bis April des Auswinterungsjahres. „*“ kennzeichnet signifikante Unterschiede in der Verlustrate im jeweiligem Monat zwischen den beiden Gruppen. Dabei haben wir eindeutige

Unterschiede im Überwinterungserfolg von Bienenvölkern im Mai im Untersuchungsjahr 2013/14, im Jänner, Februar und März im Untersuchungsjahr 2014/15, im April, November, Dezember, Jänner, Februar, März und April im Untersuchungsjahr 2015/16 und im August, Oktober, November, Dezember, Jänner sowie März im Untersuchungsjahr 2016/17 finden können (Abbildung 1.20a-d). Wir haben festgestellt, dass nur eine geringe Anzahl von ImkerInnen eine Bestimmung des Varroabefalls ihrer Völker in den Wintermonaten durchgeführt hat. Eine Bestimmung im Winter 2014/15 bis 2016/17 führte zu einem signifikant positiven Effekt auf den Überwinterungserfolg der Bienen.

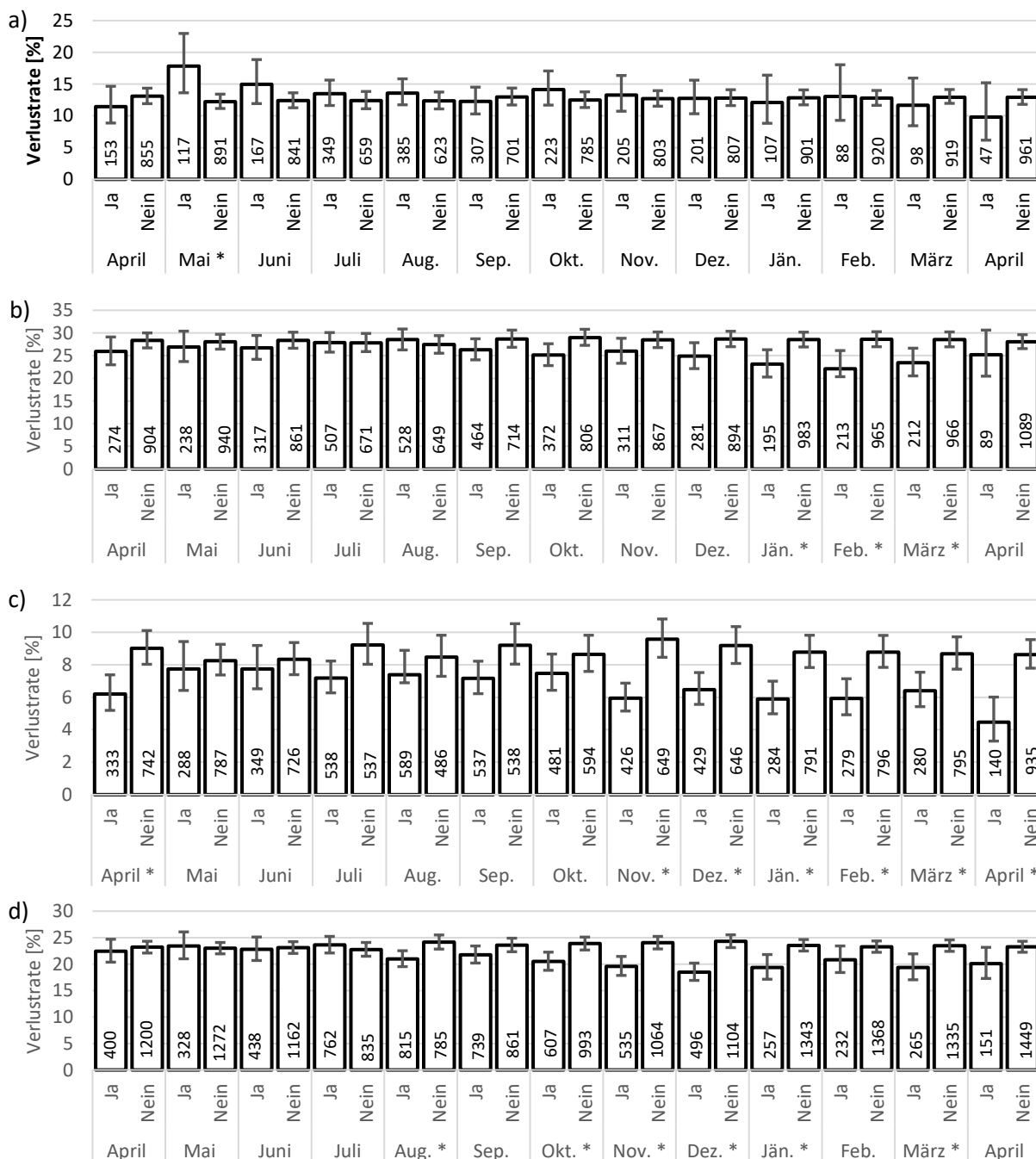


Abbildung 1.20a-d: Höhe der Winterverluste von a) 2013/14, b) 2014/15, c) 2015/16 und d) 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Bestimmung im jeweiligen Monat. *: signifikanter Unterschied.

1.4.6.6.2 Zeitpunkt und Häufigkeit der Anwendungen

Die TeilnehmerInnen wurden in allen vier Jahren zu ihren verwendeten Methoden zur Bekämpfung der Varroamilbe gefragt. Aus den erhaltenen Antworten haben wir die Häufigkeiten, mit der die jeweiligen Methoden in den einzelnen Monaten angewendet wurden, bestimmt und in den Abbildungen 1.21a-h dargestellt.

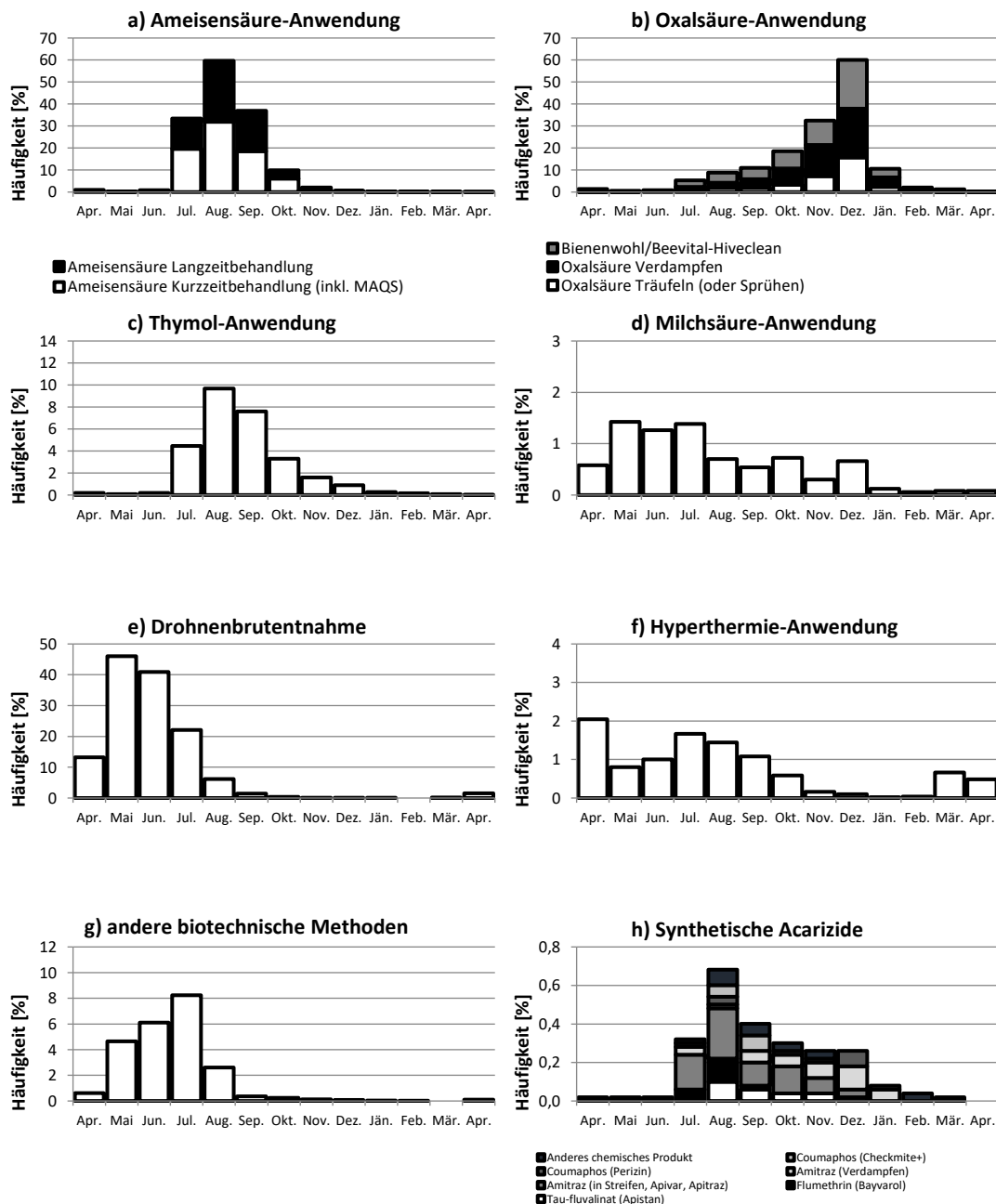


Abbildung 1.21 a-h: Zusammenfassung der zur Bekämpfung der Varroamilbe angewandten Methoden. Die Diagramme zeigen die Anwendung von April bis Dezember des Einwinterungsjahres und Jänner bis April des Auswinterungsjahres. Prozentwerte stellen jene Imkereien dar, welche die genannte Methode im jeweiligen Monat anwenden (n=4986).

1.4.6.6.3 Auswirkungen der Drohnenbrutentnahme auf die Winterverluste

Eine häufig eingesetzte Maßnahme zur Reduktion des Varroabefalls ist die Drohnenbrutentnahme, da Drohnenbrut verstärkt von der Varroamilbe befallen wird. Von den teilnehmenden Imkereien haben in allen vier Jahren 3156 (63,3%) diese Methode in zumindest einem Monat angewandt. Wir konnten jedoch in den Wintern 2013/14, 2014/15 und 2015/16 keinen signifikanten Unterschied in der Verlustrate zwischen Imkereien, die Drohnenbrut entnommen haben und solchen, die dies nicht gemacht haben, feststellen. 2016/17 wurde eine signifikant geringere Verlustrate (21,5%, Konfidenzintervall: 20,1-22,9%) bei Verzicht der Drohnenbrutentnahme im Vergleich zu Betrieben, die diese Methode angewandt haben, festgestellt (24,7%, Konfidenzintervall: 23,4-26,1%) (Abbildung 1.22a-d).

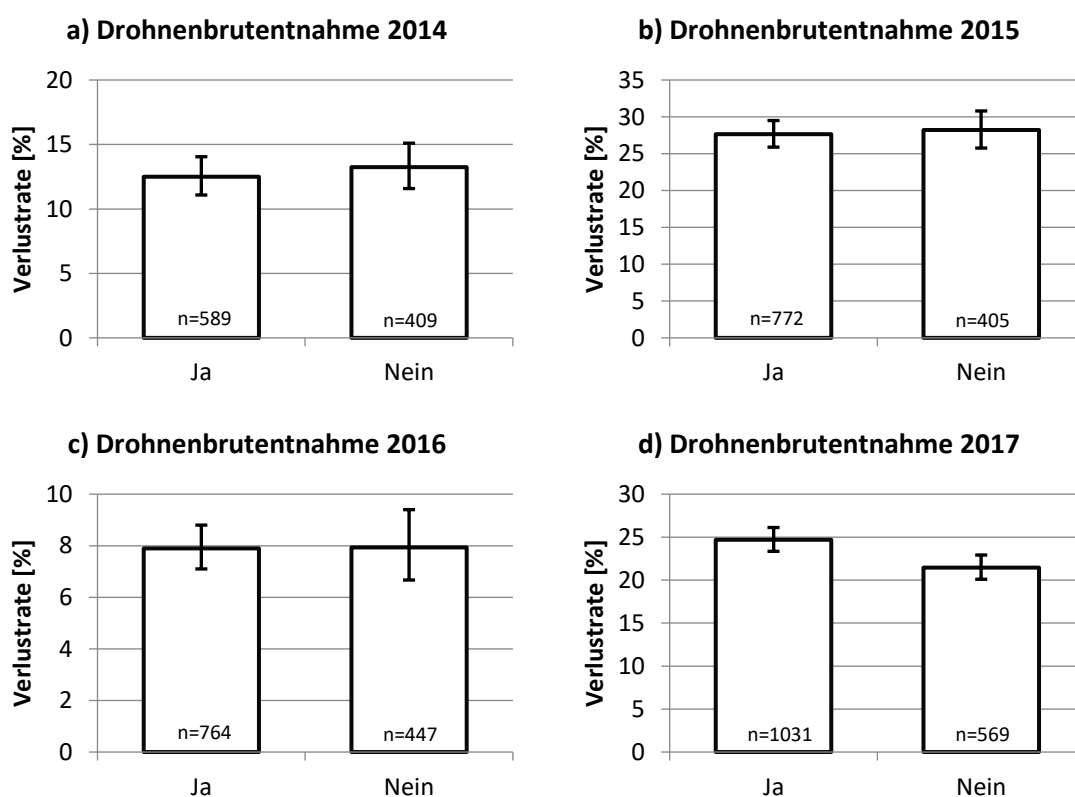


Abbildung 1.22a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Drohnenbrutentnahme“ in Prozent ($\pm 95\%$ CI). Nur 2016/17 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Um herauszufinden, ob der Zeitpunkt der Entnahme von Drohnenbrut einen Einfluss auf die Winterverluste hat, wurden die Verlustraten für die Monate April bis Juli bei Anwendung und Verzicht dieser Methode einander gegenübergestellt. In Abbildung 1.23a-d sind die Ergebnisse grafisch dargestellt. Das Entfernen der Drohnenbrut in einem bestimmten Monat führte in keinem der vier Winter zu einem signifikanten Unterschied in der Verlustrate.

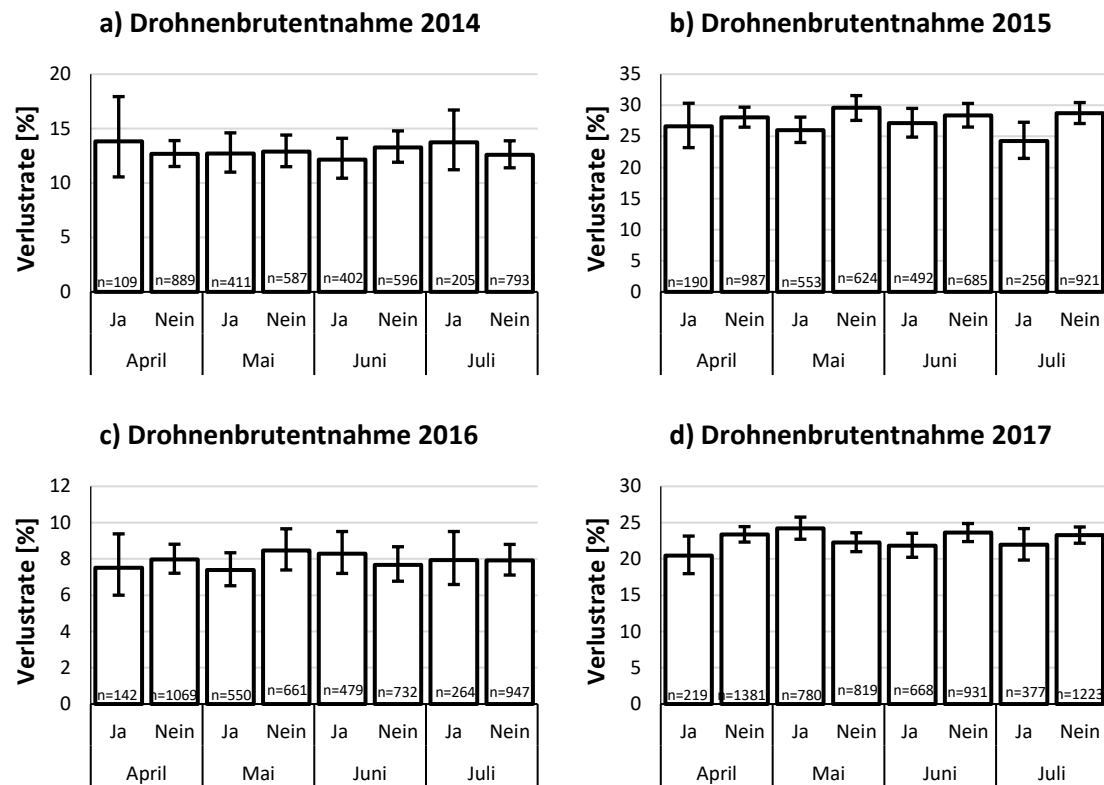


Abbildung 1.23a-d: Höhe der Winterverluste 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Drohnenbrutentnahme in den Monaten April bis Juli des Einwinterungsjahres. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Auswirkung einer mehrfachen Drohnenbrutentnahme auf die Winterverluste

Es wurde untersucht, ob die Anzahl der Monate, während der eine Drohnenbrutentnahme durchgeführt wurde, einen Einfluss auf den Überwinterungserfolg hat. Dazu wurden die Verlustraten der Gruppen „0“ (=keine Behandlung), „1-3 Monate“ und „>3 Monate“ verglichen. Im Winter 2016/17 war die Verlustrate der Gruppe „0“ geringer als jene der Gruppe „1-3 Monate“. 2013/14 bis 2015/16 konnte kein signifikanter Unterschied aufgrund der Dauer der Behandlung festgestellt werden (Abbildung 1.24a-d).

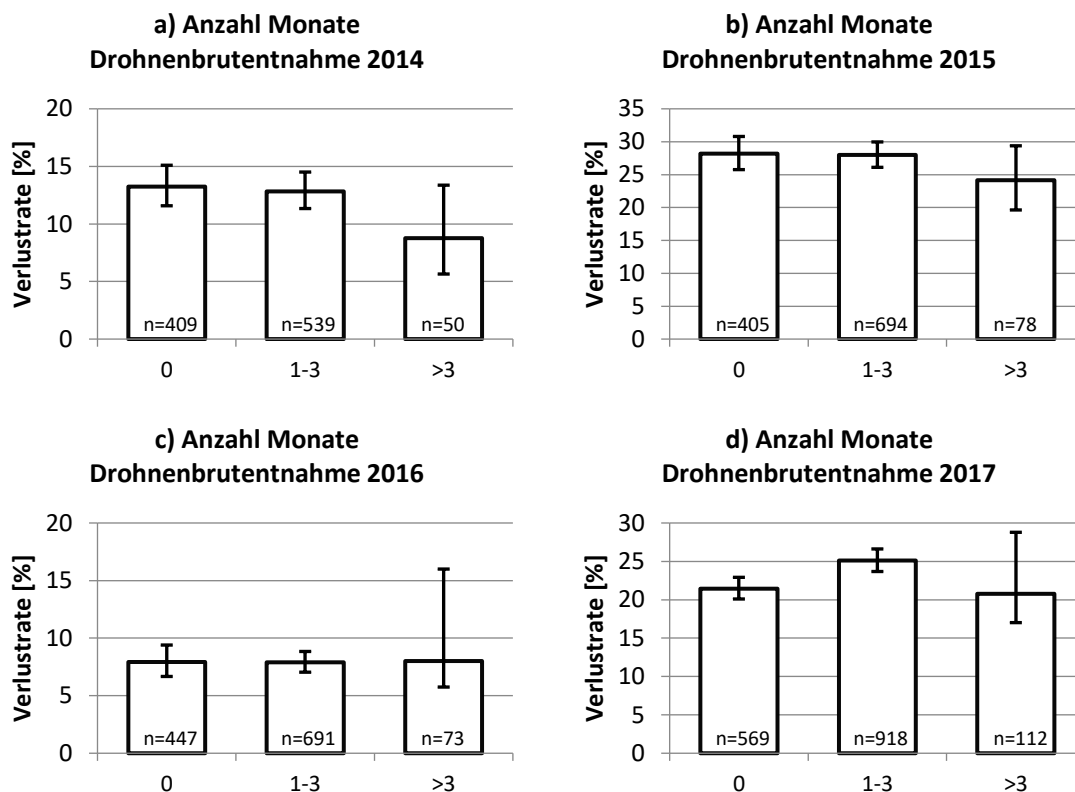


Abbildung 1.24a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%CI$) in Abhängigkeit von der Dauer der Drohnenbrutentnahme. 2016/17 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen „0“ und „1-3“.

1.4.6.6.4 Ameisensäure-Behandlung

Wir haben bei unseren Analysen zwischen Kurzzeit- und Langzeitbehandlung mit Ameisensäure unterschieden und miteinander verglichen. Es ist zu vermerken, dass bei keiner der Methoden die Konzentration der verwendeten Ameisensäure abgefragt wurde.

In Abbildung 1.25a-d wird die Verlustrate bei Anwendung der Kurzzeitbehandlung mit jener bei Nichtanwendung dieser Behandlung verglichen und grafisch dargestellt. Die Verlustrate bei Behandlung war in allen Untersuchungsjahren signifikant höher als bei Nichtbehandlung.

In Abbildung 1.26a-d wird die Verlustrate bei Anwendung der Langzeitbehandlung jener bei Nichtanwendung dieser Methode gegenübergestellt. Die Verlustrate bei Behandlung (21%, Konfidenzintervall: 19,9-22,1%) war 2016/17 signifikant geringer als bei Nichtbehandlung (26,6%, Konfidenzintervall: 24,9-28,5%). 2013/14 bis 2015/16 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

In Abbildung 1.27a-d werden die beiden Methoden Kurzzeit- und Langzeitbehandlung miteinander verglichen, und zwar nur für Betriebe, die ausschließlich entweder die eine oder die andere Ameisensäure-Anwendung durchgeführt haben. Die Verlustrate bei Kurzzeitbehandlung war in allen vier Wintern signifikant höher als bei Langzeitbehandlung.

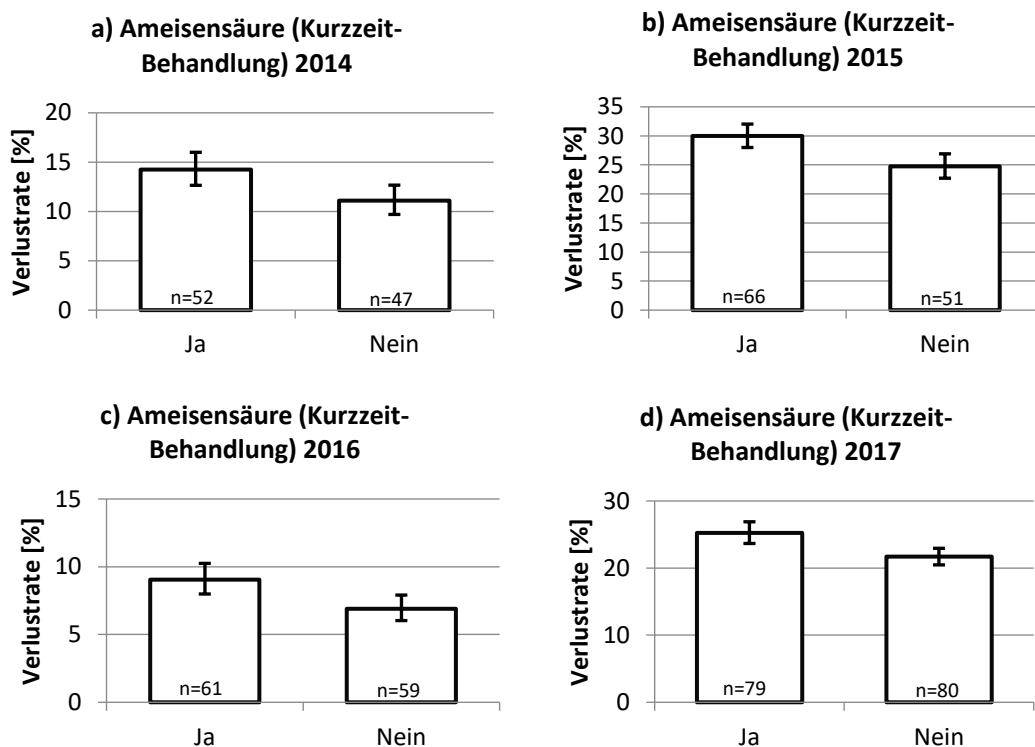


Abbildung 1.25a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%CI$) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Ameisensäure-Kurzzeitbehandlung“. Es besteht in allen Wintern ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

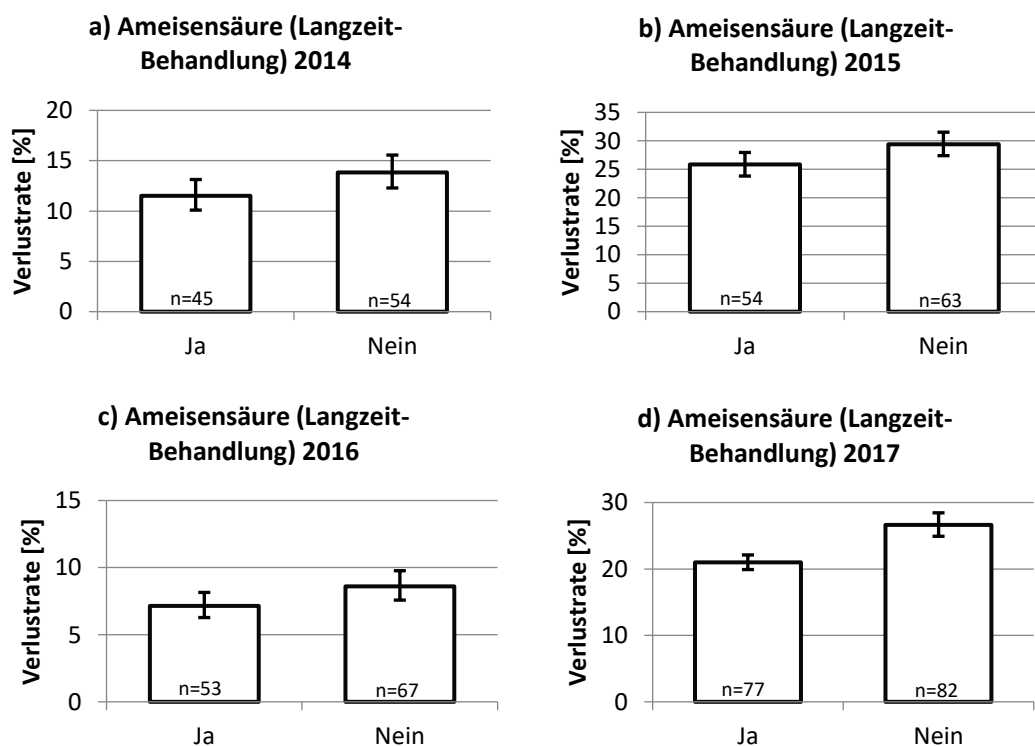


Abbildung 1.26a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%CI$) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Ameisensäure-Langzeitbehandlung“. 2016/17 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

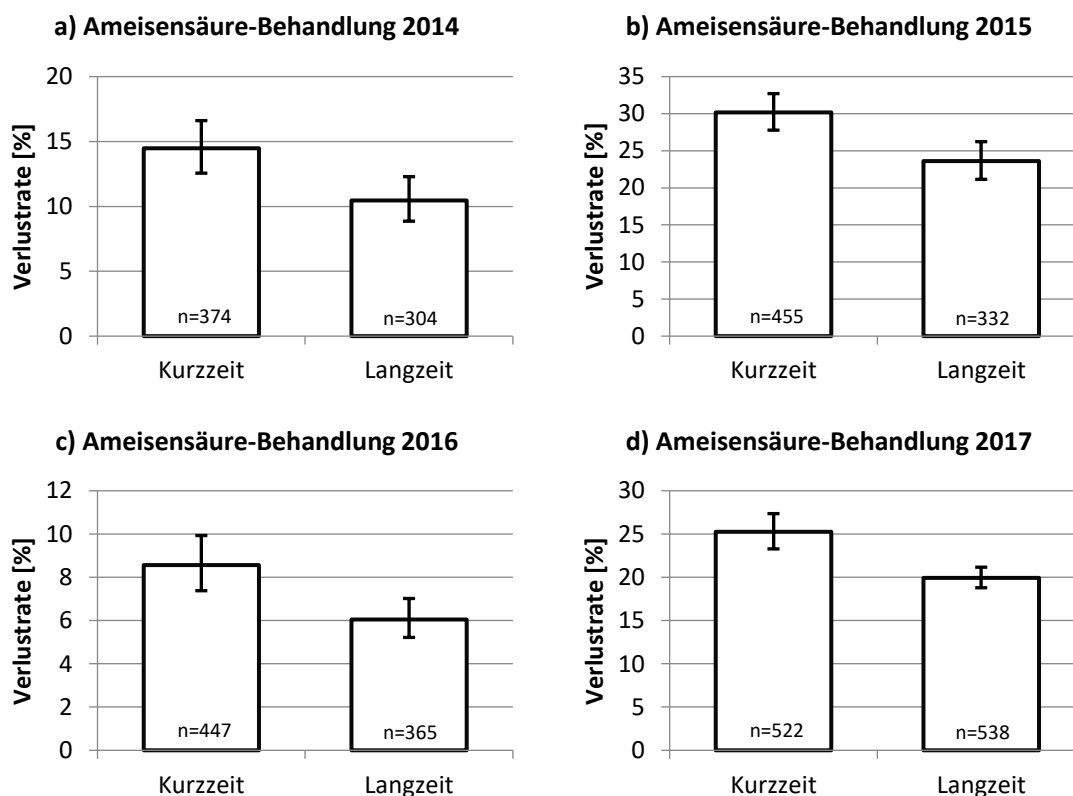


Abbildung 1.27a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 und 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von alleiniger Anwendung einer Ameisensäure-Kurzzeit- oder -Langzeitbehandlung. Es besteht in allen Wintern ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

1.4.6.6.5 Oxalsäure

In Wintermonaten setzen viele ImkerInnen Oxalsäure zur Bekämpfung der Varroamilbe ein („Restentmilbung“). Die Anwendung dieser Methode erfordert, dass die Völker (nahezu) brutfrei sind. Oxalsäure kann entweder durch Träufeln oder durch Verdampfen eingesetzt werden, Bienenwohl ist eine Fertigmischung aus Oxalsäure, Zucker und anderen Stoffen, die ebenfalls geträufelt wird. Wir haben untersucht, ob sich die Winterverlusten bei ImkerInnen, die eine dieser Methoden eingesetzt haben, von jenen, die diese Methoden nicht angewandt haben, unterscheiden. Die Verlustrate bei Anwendung des Träufelns und keiner Anwendung unterschied sich in keinem der vier Winter signifikant. Auch bei Anwendung des Verdampfens war kein eindeutiger Unterschied zu der Gruppe, welche diese Methode nicht durchgeführt hat, festzustellen (Abbildung 1.28a-d und 1.29a-d).

Oxalsäure-Behandlung im November und Dezember

Wir wollten weiter wissen, ob der Zeitpunkt der Anwendung von Bedeutung ist und haben uns dafür die zwei Monate, in denen die Methode am häufigsten eingesetzt wird, das sind November und Dezember (Abbildung 1.21b), angeschaut und miteinander verglichen. Abbildung 1.30a-d zeigt die Verlustrate bei Anwendung einer Oxalsäure-Behandlung (Träufeln und/oder Verdampfen und/oder Bienenwohl) im November und jene im Dezember. In keinem der vier Winter konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

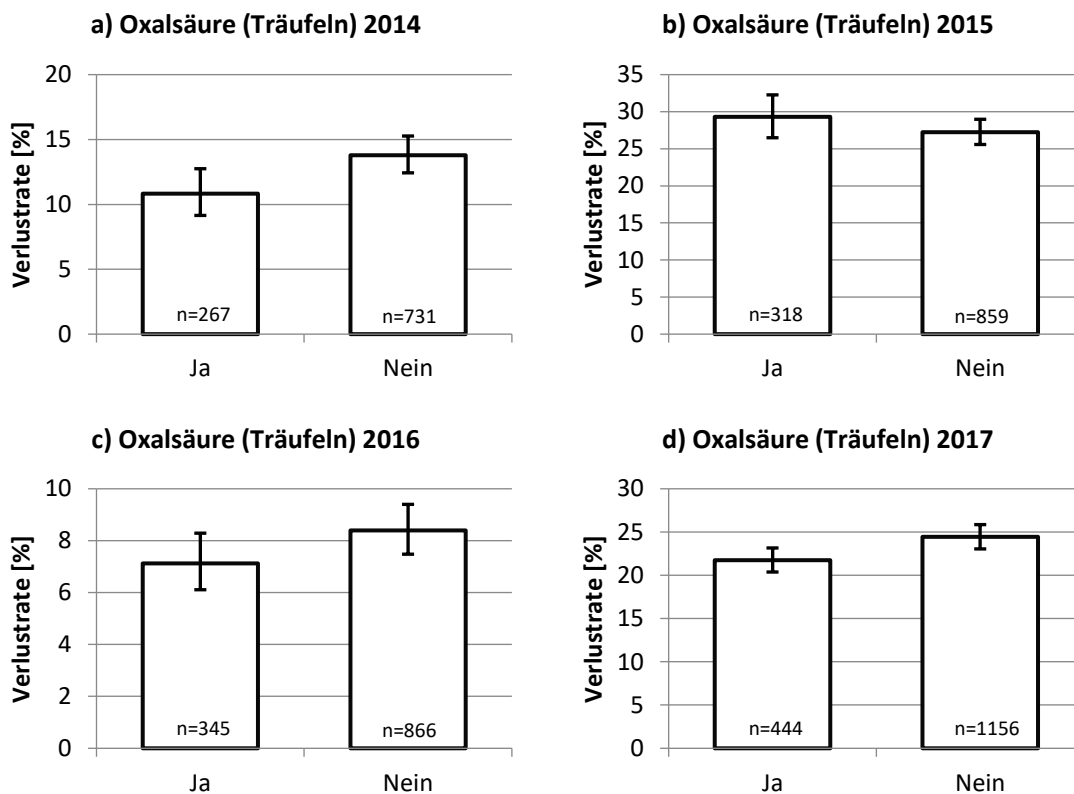


Abbildung 1.28a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%CI$) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Oxalsäure (Träufeln)“. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

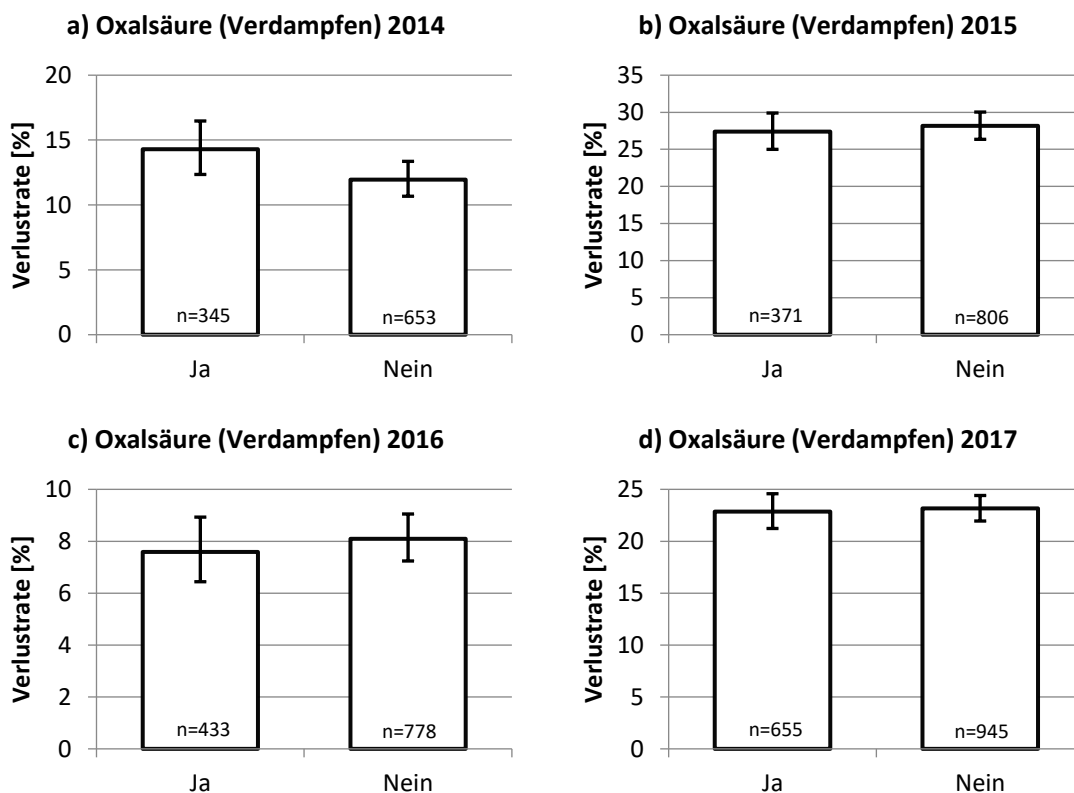


Abbildung 1.29a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Oxalsäure (Verdampfen)“. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

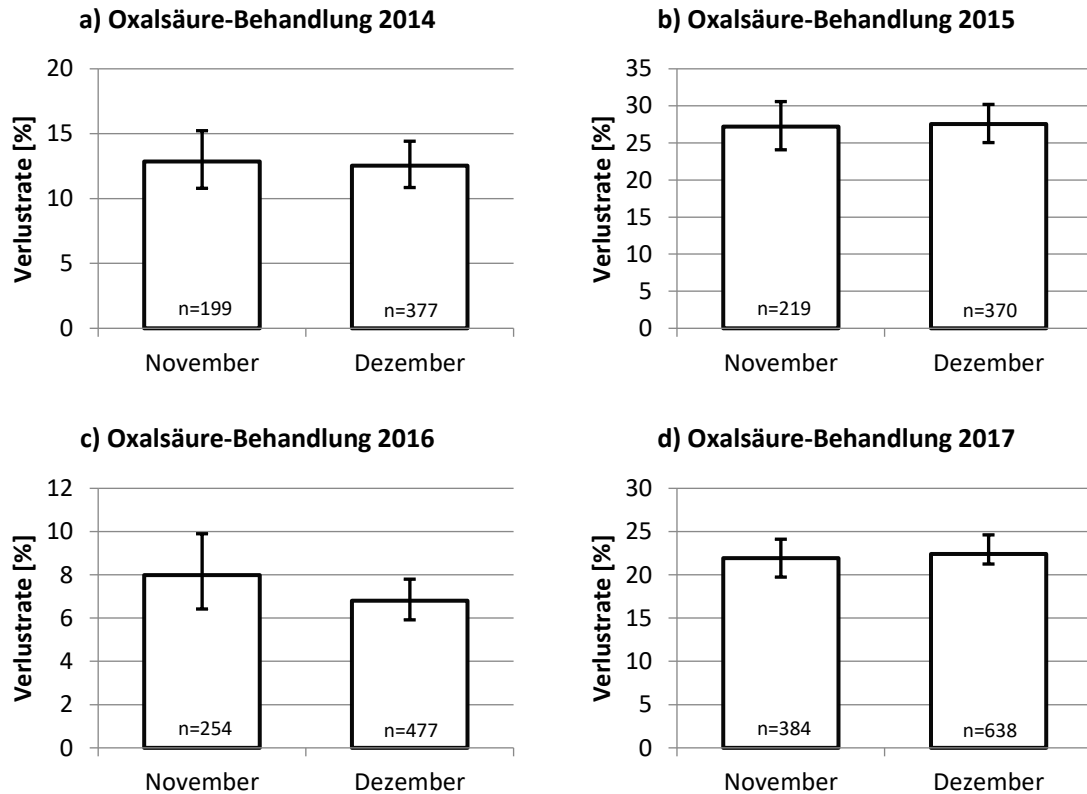


Abbildung 1.30a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Oxalsäure“ (Träufeln und/oder Verdampfen und/oder Bienenwohl) im November und im Dezember. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

1.4.6.6 Bienenwohl

Bienenwohl mit dem Wirkstoff Oxalsäure (und wenigen anderen Zusatzstoffen) wird idealerweise in Völkern mit gar keiner Brut eingesetzt. 41,9% aller befragten ImkerInnen setzten Bienenwohl zur Bekämpfung der Varroa-Milbe ein. Von 2013/14 bis 2016/17 zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Verlustrate, wenn Bienenwohl zur Bekämpfung der Varroamilbe verwendet wurde (Abbildung 1.31a-d).

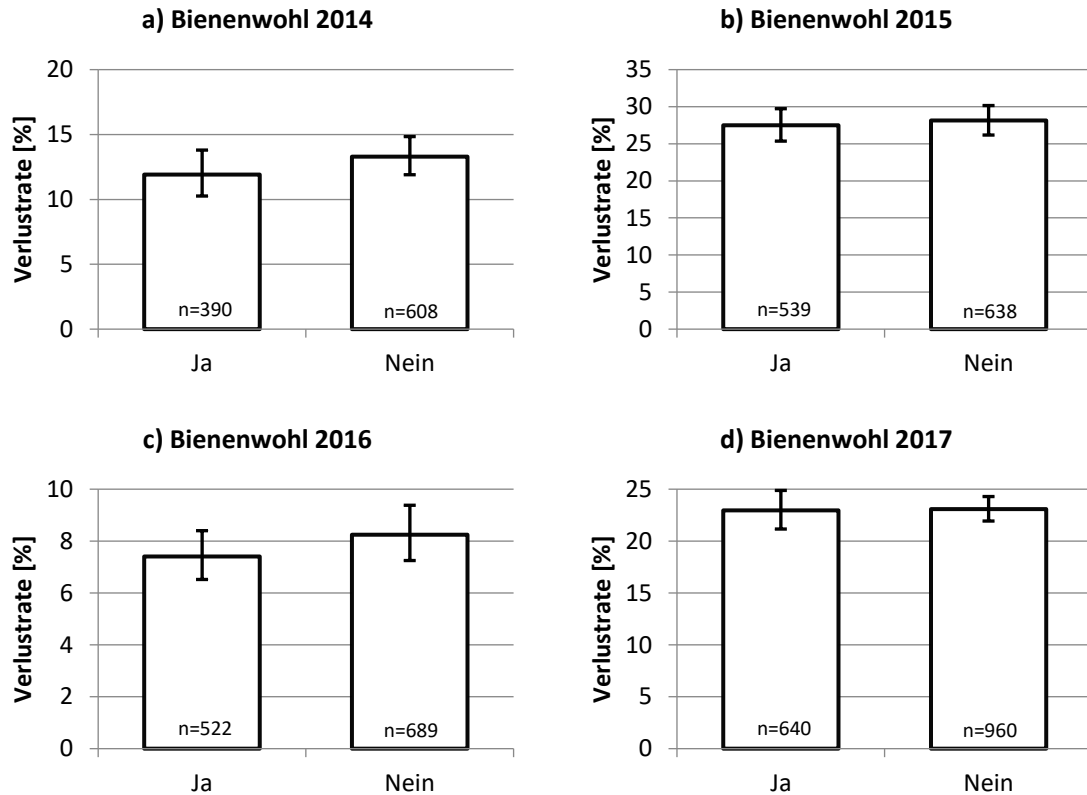


Abbildung 1.31a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Bienenwohl“. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

1.4.6.6.7 Thymol

18,3% aller befragten ImkerInnen haben eine Behandlung mit Thymol durchgeführt. In keinem Winter zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Verlustrate, wenn Thymol zur Bekämpfung der Varroamilbe verwendet wurde (Abbildung 1.32a-d).

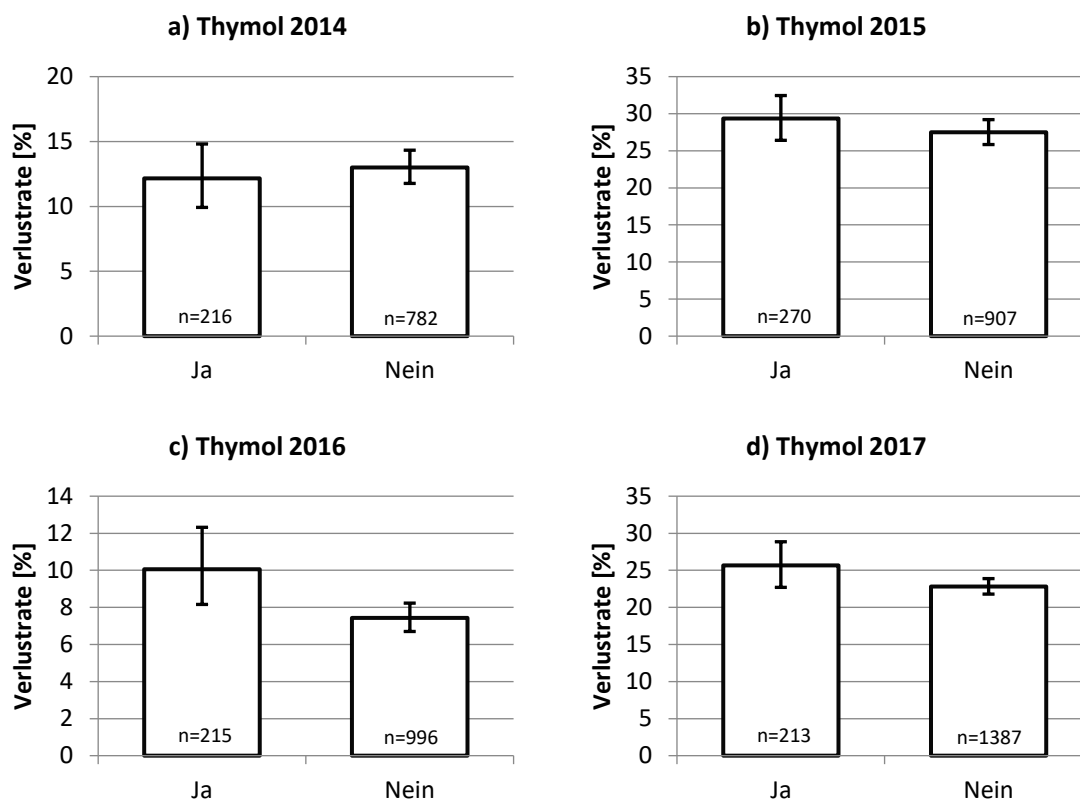


Abbildung 1.32a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Thymol“. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Auswirkung einer mehrfachen Thymolbehandlung auf die Winterverluste

Wir haben untersucht, ob sich eine mehrfache Behandlung der Völker mit Thymol auf die Winterverlustrate auswirkt. Dazu erfolgte eine Einteilung in die Gruppen „0“ (keine Behandlung), „1“ (Behandlung in einem Monat) und „>1“ (Behandlung in mehr als einem Monat). Einzig 2013/14 konnte ein signifikanter Unterschied zwischen nicht behandelten und mehrfach behandelten Völkern festgestellt werden. Bei den nicht behandelten Völkern lag die Verlustrate bei 13% (Konfidenzintervall: 11,8-14,3%), in mehreren Durchgängen behandelte Völker wiesen eine signifikant geringere Verlustrate von 7,3% (Konfidenzintervall: 5,2-10,3%) auf. Zudem zeigten sich in diesem Winter positive Effekte auf den Überwinterungserfolg, wenn eine Behandlung mit Thymol mehrfach stattfand (7,3%, Konfidenzintervall: 5,2-10,3%), im Vergleich zur Gruppe, bei der Thymol nur einmal angewandt wurde (13%, Konfidenzintervall: 11,8-14,4%) (Abbildung 1.33a-d).

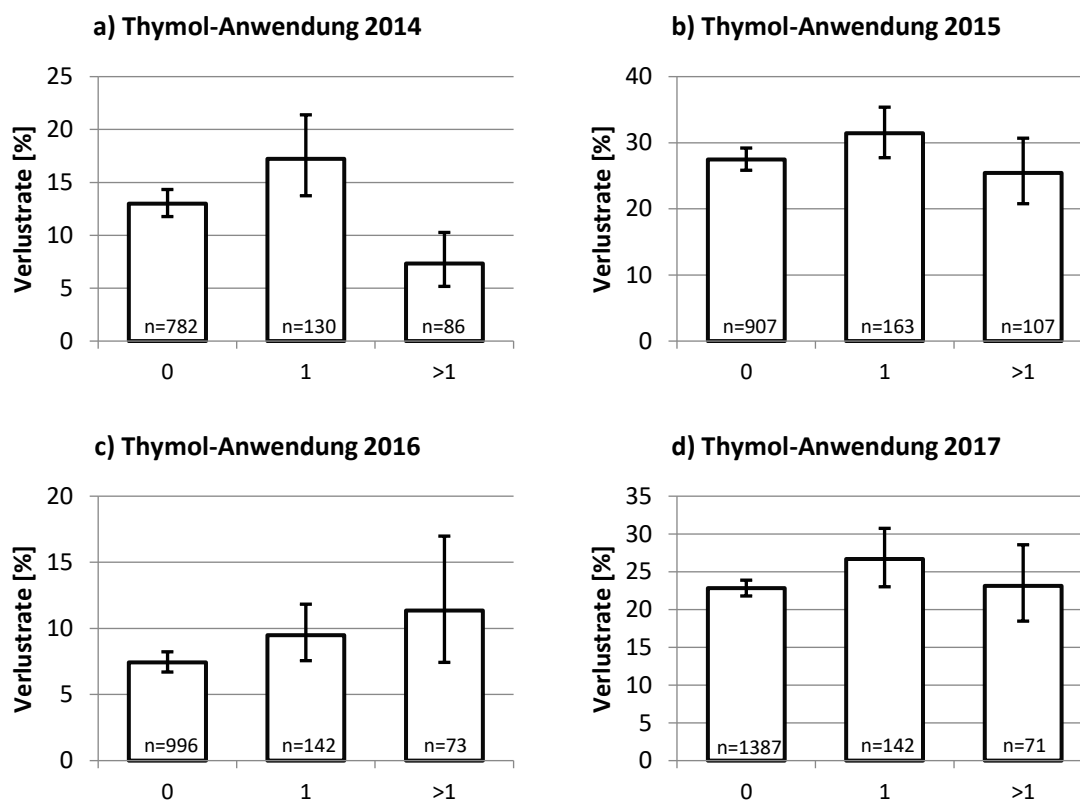


Abbildung 1.33a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Anzahl der Anwendungen von Produkten auf Thymolbasis. 2013/14 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen nicht behandelten (=0) und mehrfach behandelten (>1) Völkern sowie einmal behandelten (=1) und mehrfach behandelten (>1) Völkern.

1.4.6.6.8 Hyperthermie

Eine Alternative zur chemischen Behandlung der Völker gegen die Varroamilbe stellt die Hitzebehandlung (=Hyperthermie) dar. Etwa 5,5% der ImkerInnen, die sich an der Erhebung der Winterverluste beteiligt haben, wandten diese Methode in zumindest einem Monat an. Es wurde nicht zwischen den verschiedenen am Markt erhältlichen Produkten zur Hitzebehandlung unterschieden. Von 2013/14 bis 2016/17 zeigte sich ein Anstieg in der Häufigkeit der Anwendung dieser Methode. Hinsichtlich der Verlustrate fanden wir in keinem Winter signifikante Unterschiede zwischen Völkern, die mit Hyperthermie behandelt wurden und jenen, bei denen diese Methode nicht angewandt wurde (Abbildung 1.34a-d).

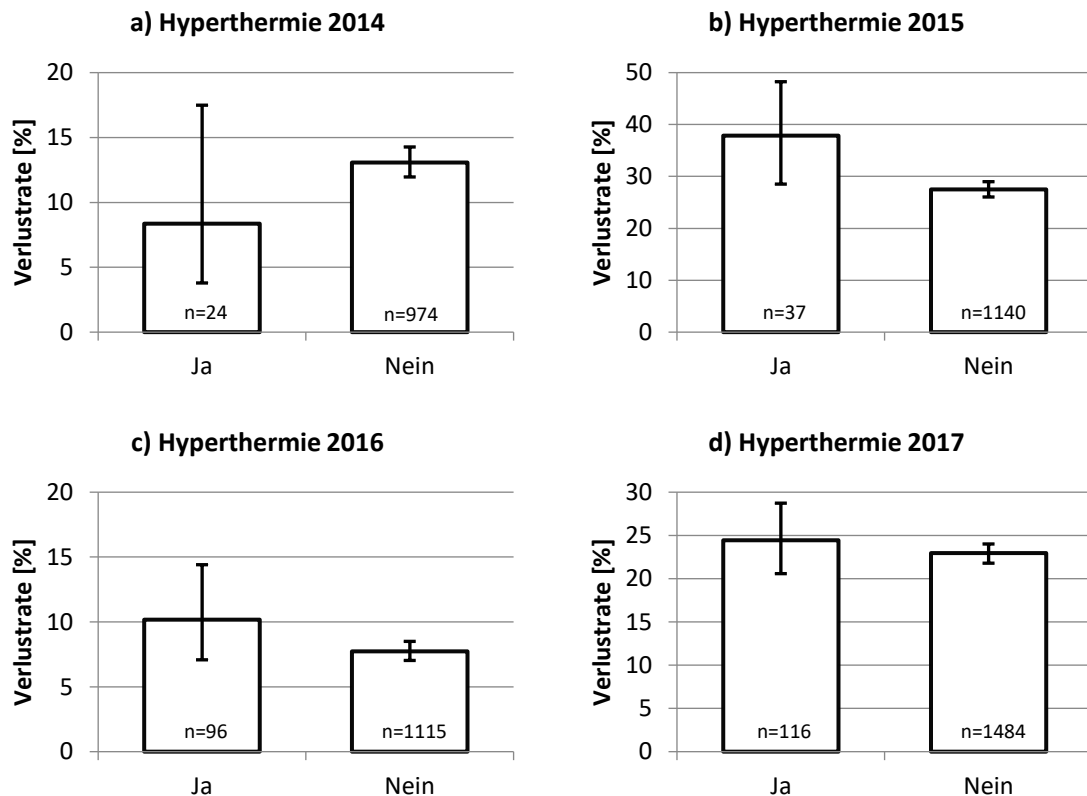


Abbildung 1.34a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „Hyperthermie“. Es besteht in keinem Winter ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

1.4.6.6.9 Andere biotechnische Methoden (ohne Hyperthermie und ohne Drohnenbrutentnahme)

Andere biotechnische Methoden, mit Ausnahme von Hyperthermie und Drohnenbrutentnahme, wurden zusammengefasst abgefragt. Dazu zählen die Verwendung von Fangwaben oder Bannwaben und die komplette Arbeiterinnenbrutentnahme. 2014/15 lag die Verlustrate bei Anwendung solcher Methoden bei 22,1% (Konfidenzintervall: 19,5-25%) und somit signifikant unter jener von Betrieben, die keine anderen biotechnischen Methoden verwendeten (40,1%, Konfidenzintervall: 28,4-31,9%). Signifikant geringere Winterverluste (18,4%, Konfidenzintervall: 16,1-21%) konnten auch 2016/17 bei Anwendung dieser Methoden im Gegensatz zu keiner Anwendung (23,9%, Konfidenzintervall: 22,9-25%) festgestellt werden (Abbildung 1.35a-d).

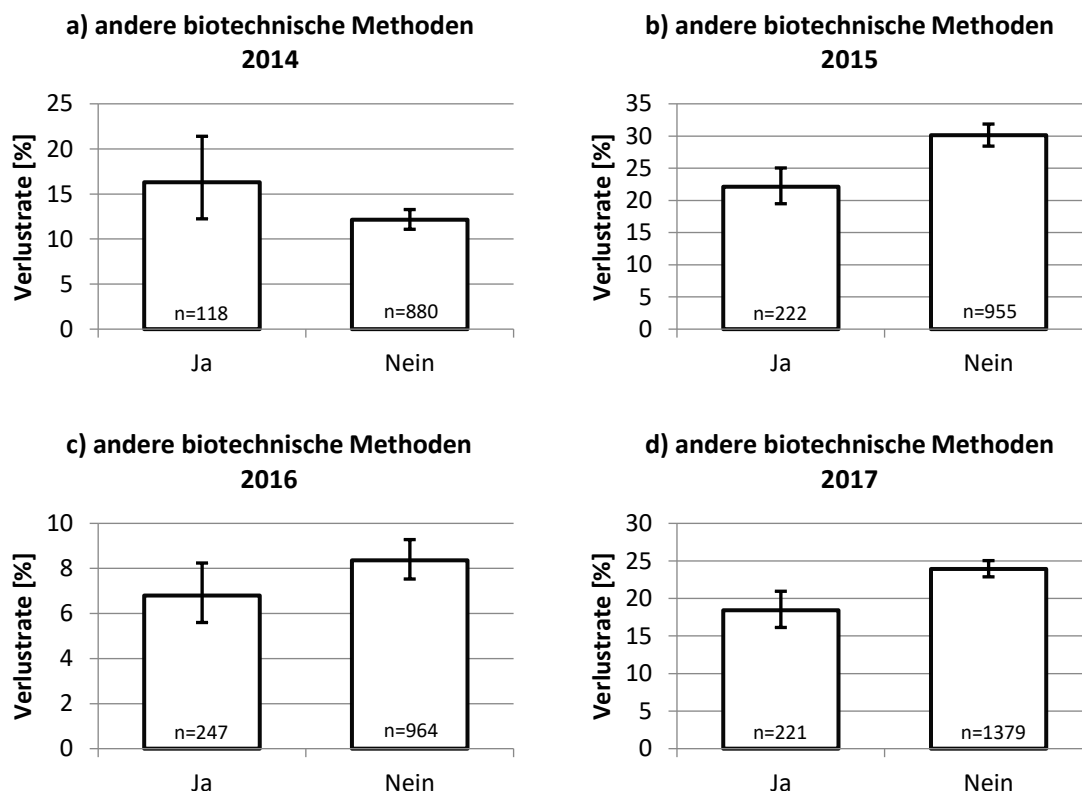


Abbildung 1.35a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%$ CI) in Abhängigkeit von der Behandlungsmethode „andere biotechnische Methoden“. 2014/15 und 2016/17 bestehen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

1.4.6.6.10 Königinnen-Probleme

Das Überleben der Völker hängt unter anderem auch von der Gesundheit der Königin ab. Die Imkereien wurden deshalb auch über das Ausmaß von Königinnen-Problemen befragt und konnten zwischen den vier Antworten „Häufiger“, „Normal“, „Seltener“ und „Weiß nicht“ (im Vergleich zu den Vorjahren) entscheiden. Tabelle 1.11 zeigt die Angaben der TeilnehmerInnen von 2013/14 bis 2016/17. Bei der Erfassung der Winterverluste 2013/14 konnten signifikant höhere Verluste bei der Angabe von „Häufiger“ (19,6%, Konfidenzintervall: 15,5-24,5%) im Vergleich zu „Normal“ (11,1%, Konfidenzintervall: 9,7-12,7%) festgestellt werden. Auch 2016/17 waren signifikant geringere Verluste bei der Angabe „Normal“ (22,3%, Konfidenzintervall: 20,6-24%) und „Seltener“ (22,0%, Konfidenzintervall: 20,5-23,5%), verglichen mit „Häufiger“ (29,8%, Konfidenzintervall: 26,6-33,2%), zu erkennen. 2014/15 hatten Imkereien, welche nicht zu ihren Königinnen-Problemen antworten

Tabelle 1.11: Häufigkeit der Königinnen-Probleme im Vergleich zum Vorjahr in Prozent. n=Betriebe.

Königinnen-Probleme [%]	2013/14 (n=953)	2014/15 (n=1166)	2015/16 (n=1206)	2016/17 (n=1570)
Häufiger	8,0	16,6	5,2	10,2
Normal	48,1	44,0	40,7	47,4
Seltener	22,2	15,5	33,1	25,2
Weiß nicht	21,7	23,9	21,0	17,3

konnten oder wollten, signifikant höhere Verluste (37,3%, Konfidenzintervall: 33,6-41,1%) als jene, die „Häufiger“ angaben (23,3%, Konfidenzintervall: 20,6-26,3%) (Abbildung 1.36a-d).

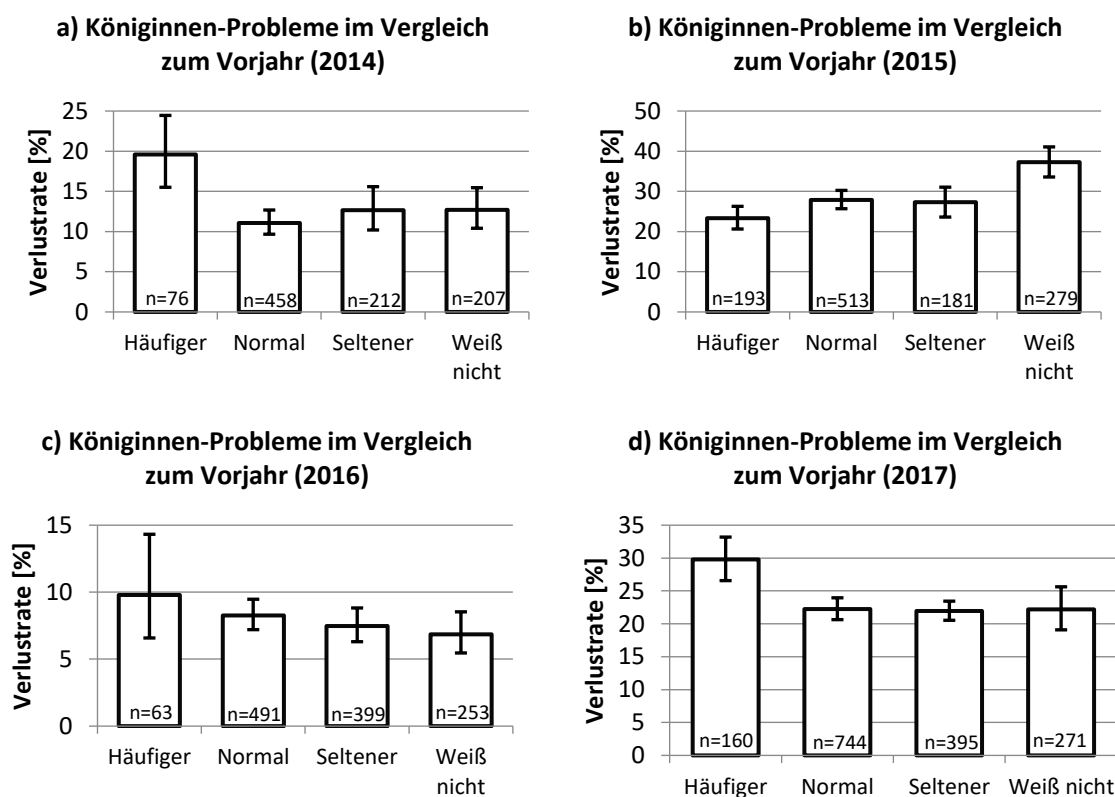


Abbildung 1.36a-d: Höhe der Winterverluste von 2013/14 bis 2016/17 im Zusammenhang mit den beobachteten Königinnen-Problemen in Prozent ($\pm 95\%$ CI). 2013/14 und 2016/17 besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen „Häufiger“, „Normal“ und „Seltener“. 2015/16 besteht kein Unterschied zwischen den vier Gruppen. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

1.4.6.6.11 Im Einwinterungsjahr begattete Königin („junge Königin“)

2014/15 und 2015/16 wurden die ImkerInnen auch um eine Einschätzung der Überlebenschancen von Völkern mit einer jungen, das heißt im Jahr 2014 (Erhebung der Winterverluste 2014/15) bzw. 2015 (Erhebung der Winterverluste 2015/16) begatteten Königin, im Vergleich zu Völkern mit einer älteren Königin gebeten. Die Antwortmöglichkeiten waren: „Besser“, „Gleich“, „Schlechter“ oder „Weiß nicht“. 1139 bzw. 1185 ImkerInnen haben diese Frage beantwortet. In beiden Jahren haben die TeilnehmerInnen die Überlebenschancen von Völkern mit einer jungen Königin und solchen mit einer älteren Königin zum Großteil (52,9% bzw. 59%) als „Gleich“ beschrieben (Tabelle 1.12).

Hinsichtlich der Verlustraten konnten signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von der Einschätzung der ImkerInnen gefunden werden. 2014/15 verzeichneten jene Betriebe, die das Überleben mit einer 2014 begatteten Königin als „Besser“ (28,9%, Konfidenzintervall: 25,0-32,7%) bezeichneten, signifikant geringere Verluste als jene, die das Überleben mit „Weiß nicht“ (37,2%, Konfidenzintervall: 33,5-41,1%) beurteilt haben. Wurde „Gleich“ (23,6%, Konfidenzintervall: 21,7-25,5%) angegeben, war die Verlustrate signifikant geringer als bei der Angabe „Schlechter“ (34,9%, Konfidenzintervall: 30,8-39,3%) oder „Weiß nicht“. ImkerInnen, die 2015/16 die Überlebenschancen ihrer Völker mit jungen Königinnen mit „Besser“ (7,6%, Konfidenzintervall: 6,3-9,2%) oder

„Gleich“ (7,0%, Konfidenzintervall: 6,2-7,9%) beurteilt haben, hatten eine signifikant niedrigere Verlustrate als ImkerInnen, die diese Frage mit „Schlechter“ (14,3%, Konfidenzintervall: 10,6-19,1%) beantwortet haben. Wurde „Weiß nicht“ (10,5%, Konfidenzintervall: 8,5-12,9%) angegeben, konnten signifikant höhere Verluste als bei „Gleich“ festgestellt werden (Abbildung 1.37a-b).

Tabelle 1.12: Einschätzung der Imkereien hinsichtlich des Überwinterungserfolges ihrer Völker mit einer 2014 bzw. 2015 begatteten Königin im Vergleich mit jenem ihrer Völker mit einer älteren Königin.

Überleben mit einer im Einwinterungsjahr begatteten Königin [%]	Umfrage 2015 (n=1139)	Umfrage 2016 (n=1185)
Besser	12,7	16,3
Gleich	52,9	59,0
Schlechter	12,3	6,0
Weiß nicht	22,0	18,7

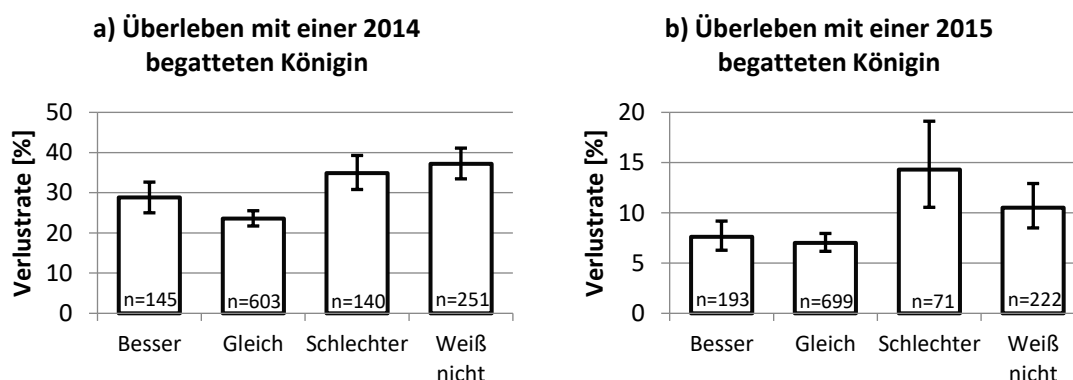


Abbildung 1.37a-b: Winterverlustrate 2014/15 und 2015/16 in % ($\pm 95\%$ CI). Einschätzung des Überwinterungserfolges von Völkern mit einer 2014 bzw. 2015 begatteten Königin im Vergleich zu solchen mit einer älteren Königin. 2014/15 gab es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen „Gleich“ und „Schlechter“, 2015/16 gab es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen „Besser“ bzw. „Gleich“ und „Schlechter“.

1.4.6.6.12 Betriebsweise 2016/17

2016/17 wurden die TeilnehmerInnen erstmals zu weiteren Details ihrer Betriebsweise befragt. Dabei konnten Angaben zu den Beuten gemacht und festgestellt werden, ob der Betrieb eine zertifizierte Bio-Imkerei ist, auf Varroa-Toleranz züchtet oder Wachs zukauf. Über die Hälfte der TeilnehmerInnen haben angegeben, die Beuten im Winter zu isolieren oder Wachs von außerhalb des Betriebes zu kaufen. Nur ein kleiner Anteil an Betrieben (6,6%) bevorzugt den Naturwabenbau ohne Mittelwand. 132 von 1441 antwortenden TeilnehmerInnen erfüllen die Kriterien, um sich als zertifizierte Bio-Imkerei bezeichnen zu können. Einige ImkerInnen haben bei unserer Umfrage angegeben, „bio-nahe“ bzw. „fast bio“ zu arbeiten, jedoch ohne Zertifikat. Diese TeilnehmerInnen haben wir nicht zu den zertifizierten Bio-Betrieben gezählt. Die für eine zertifizierte Bio-Imkerei zu erfüllenden Richtlinien sind auf der Homepage der „Biene Österreich“ nachzulesen. Einen Überblick über die Häufigkeit der verschiedenen Betriebsweisen (Angaben „Ja“, „Nein“ und „Unsicher“) bietet die Abbildung 1.38. Abbildung 1.39 zeigt den Einfluss der verschiedenen Betriebsweisen auf die Winterverlustrate. Signifikant höhere Winterverluste erlitten Imkereien, die im Winter die Beuten isolierten (27,2%, Konfidenzintervall: 24,4-30,3%). Auch kleine Brutzellen ($\leq 5,1\text{mm}$) stehen im

Winter 2016/17 im Zusammenhang mit einer höheren Verlustrate (32,4%, Konfidenzintervall: 26,9-38,5%). Weiter konnte ein geringerer Verlust bei zertifizierten Bio-Imkereien (19,7%, Konfidenzintervall: 18,2-21,4%) im Vergleich zu konventionellen Imkereien (25,4%, Konfidenzintervall: 24-26,7%) beobachtet werden.

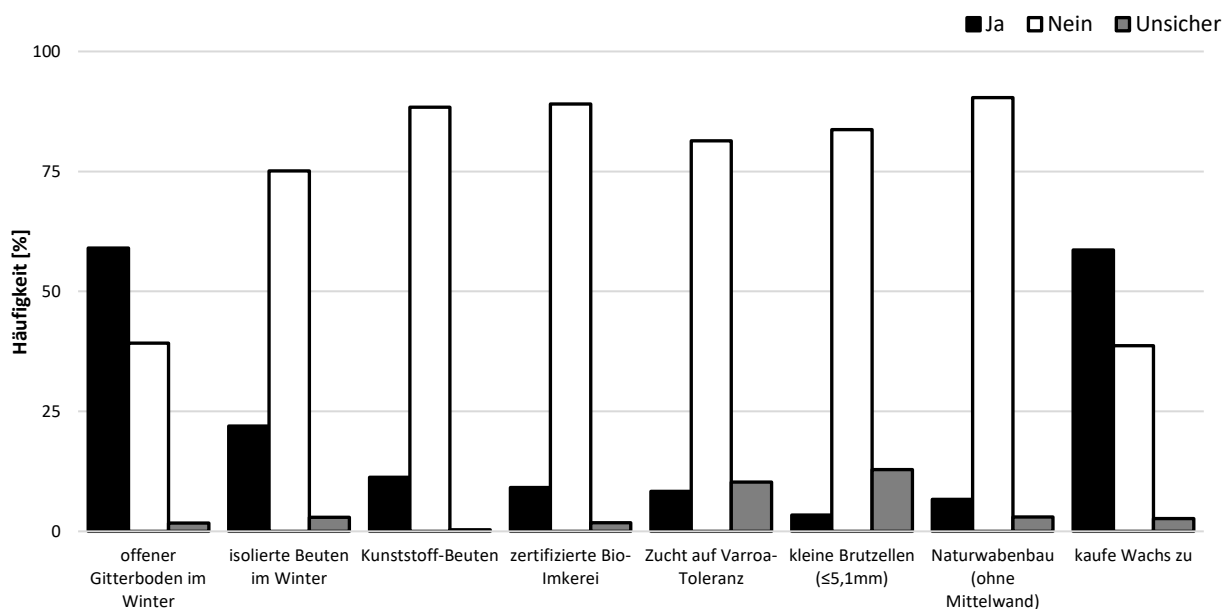


Abbildung 1.38: Häufigkeit der Betriebsweisen von 1438 bis 1568 TeilnehmerInnen 2016/17 in Prozent.

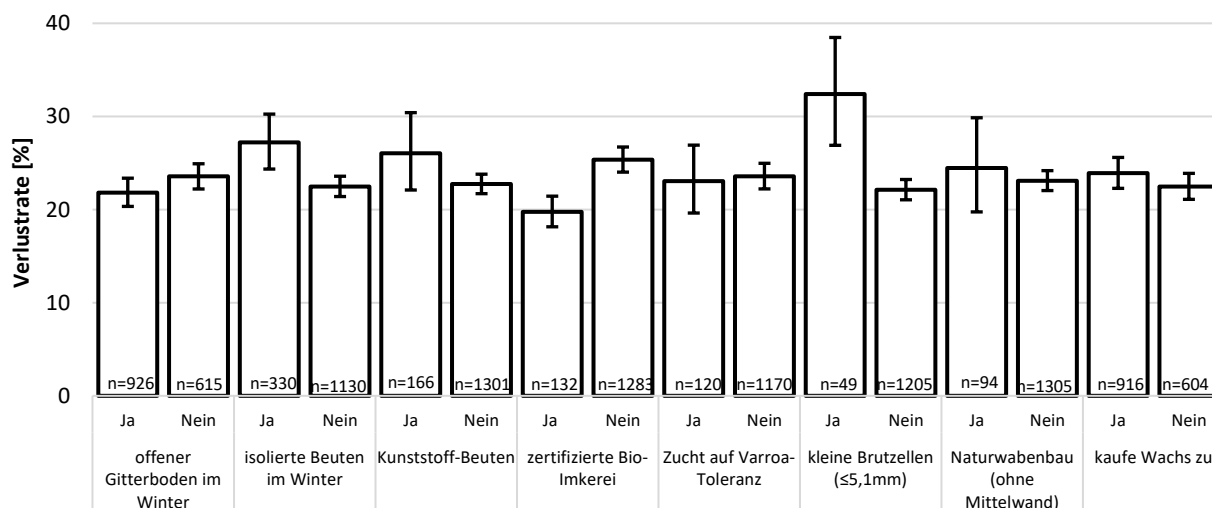


Abbildung 1.39: Höhe der Winterverluste 2016/17 in Prozent ($\pm 95\%CI$) in Abhängigkeit von der Betriebsweise der TeilnehmerInnen. Es gibt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Für Details zu den Unterschieden siehe Text.

1.4.7 Zusammenfassung von Risikofaktoren – Mehrjahresvergleich

Wir präsentieren hier einen Mehrjahresvergleich von allen vier Untersuchungs Jahren, um gemeinsame Trends darzustellen. Dafür wurden die Ergebnisse der Winterverluste aus den Wintern 2013/14 bis 2016/17 herangezogen (Tabelle 1.13). In drei von vier Jahren gab es keinen Unterschied zwischen anonymer und nicht-anonymer Teilnahme. Im Winter 2016/17 verzeichneten

nicht-anonyme TeilnehmerInnen geringere Verluste als anonyme TeilnehmerInnen. Der Vergleich der Winterverlustraten von Online- und Papier-TeilnehmerInnen zeigte über den gesamten Untersuchungszeitraum keine signifikanten Unterschiede.

Die Betriebsgröße ist ein Sammelparameter, der verschiedene Faktoren wie Erfahrung, Betriebsweise und Erwerbsorientierung beinhaltet. Es hat sich gezeigt, dass größere Betriebe geringere Winterverluste zu beklagen haben: In zwei von vier Wintern konnten wir signifikant geringere Verluste bei Betrieben mit mehr als 50 Völkern im Vergleich zu Betrieben mit weniger als 50 Völkern finden. Unter Ausschluss von zwei großen Imkereien mit über 1000 eingewinterten Völkern, lässt sich auch im Winter 2016/17 dieser Trend feststellen. Von 2013/14 bis 2015/16 zeigte sich die Betriebsgröße bei einer Einteilung in drei Gruppen als signifikanter Einfluss auf die Winterverlustrate – Betriebe mit mehr als 50 Völkern verzeichneten geringere Verluste als Betriebe mit bis zu 20 Völkern. Der Transport von Bienenvölkern zu Trachten oder Bestäubungseinsätzen hatte in keinem der vier Jahre einen signifikanten Einfluss auf die Verlustrate. Beim Austausch von Waben, der Wabenhigiene, konnten wir über den Untersuchungszeitraum kein einheitliches Muster bezüglich der Winterverlustrate erkennen. Über alle vier Winter hinweg fanden wir hingegen eine signifikant geringere Sterblichkeit von Bienenvölkern, wenn die Trachtpflanze Mais fehlte, im Vergleich zu Völkern, denen diese Trachtpflanze zur Verfügung stand. Das Fehlen von Raps und Buchweizen stand 2013/14 bis 2015/16 in Zusammenhang mit geringeren Verlustraten. Sonnenblume als Trachtpflanze führte in den Wintern 2013/14 und 2015/16 zu höheren Verlusten. Ein weiterer Risikofaktor, der über die vier Winter hinweg einen signifikanten Einfluss auf die Verlustrate hatte, war die Seehöhe. Die Verlustrate von höher gelegenen Bienenvölkern (über 600m im Winter 2013/14, über 800m im Winter 2014/15, über 400m im Winter 2015/16, über 800m im Winter 2016/17) war signifikant geringer als jene von Bienenvölkern in tieferen Höhenlagen. 2016/17 ist dieser Trend nur bei Betrieben auf einer Höhe zwischen 201m und 400m im Vergleich zu Betrieben, die ihre Bienen über 800m Seehöhe halten, zu finden. 2016/17 verzeichneten Imkereien, die ihre Völker unter 200m halten, einmalig geringere Verluste als höher gelegene.

2015/16 war der Völkerverlust bei Betrieben, die eine Varroabestimmung durchgeführt haben, signifikant geringer als bei Betrieben, die keine Bestimmung gemacht haben. In drei von vier Wintern zeigte eine mehrmalige Anwendung (in einem bis drei Monaten und/oder in mehr als drei Monaten) dieser Methode Erfolge hinsichtlich der Sterblichkeit von Bienenvölkern im jeweiligen Winter. Von 2013/14 bis 2015/16 hatte die Drohnenbrutentnahme keinen signifikanten positiven oder negativen Einfluss auf die Verlustraten. Im Winter 2016/17 verzeichneten Betriebe, die keine Entnahme gemacht haben, signifikant geringere Verluste als Betriebe, die die Drohnenbrutentnahme angewandt haben. Ein ähnliches Ergebnis konnten wir bei unterschiedlicher Dauer der Methode finden: Einzig 2016/17 gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe, die keine Drohnenbrutentnahme durchgeführt hat, und der Gruppe, die in einem bis drei Monaten diese Methode angewandt hat. Über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg hat sich der Zeitpunkt der Entnahme von Drohnenbrut als unbedeutend auf den Überwinterungserfolg dargestellt.

Bei einer Varroabekämpfung mit Ameisensäure konnten wir in allen vier Wintern höhere Verlustraten bei der Gruppe, die Kurzzeitbehandlung anwandte, feststellen. Im Winter 2016/17 stellte sich eine Ameisensäure-Langzeitbehandlung als vorteilhaft gegenüber allen anderen Behandlungen heraus. Beim Vergleich der alleinigen Kurz- oder Langzeitbehandlungen mit Ameisensäure zeigten sich über alle vier Jahre Vorteile bei der Langzeitanwendung. Die Methoden „Oxalsäure“ (Träufeln, Verdampfen und Bienenwohl) und „Hyperthermie“ hatten in keinem Untersuchungsjahr einen

signifikanten Einfluss auf die Sterblichkeit von Bienenvölkern. Zu signifikant geringeren Verlusten führte 2013/14 eine Behandlung mit Thymol in mehr als einem Monat. Verglichen mit Betrieben, die Thymol nicht anwandten, zeigte sich bei Betrieben, die Thymol mindestens einmal im Bienenjahr verwendeten, kein Effekt auf die Verlustrate ihrer Bienenvölker. Der Gebrauch von anderen biotechnischen Methoden (wie Bann- oder Fangwaben) sorgte in den Wintern 2014/15 und 2016/17 für die gewünschten Erfolge in Form von geringeren Winterverlusten.

Bezüglich Königinnen-Problemen konnten wir in zwei von vier Untersuchungsjahren einen Zusammenhang zwischen häufiger beobachteten Problemen und einer signifikant höheren Winterverlustrate finden. Zudem verzeichneten ImkerInnen, die das Überleben mit einer im Vorjahr begatteten Königin als „Gleich“ sowie „Gleich“ und „Besser“ einschätzten, in beiden untersuchten Wintern geringere Verluste.

Tabelle 1.13: Einfluss möglicher Risikofaktoren auf die Wintersterblichkeit. Mehrjahresvergleich.

Möglicher Risikofaktor	Winter 2013/14 Verlustrate: 12,8%	Winter 2014/15 Verlustrate: 28,4%	Winter 2015/16 Verlustrate: 8,1%	Winter 2016/17 Verlustrate: 23%	Geringere Verluste:
Anonymität	X	X	X	✓	Nicht-Anonyme Teilnahme
Online- vs. Papier-Teilnahme	X	X	X	X	
Betriebsgröße (1-50 und >50 Völker)	X	✓	✓	X	Bei Betrieben mit >50 Völkern
Betriebsgröße (1-20, 21-50 und >50 Völker)	✓	✓	✓	X	Bei Betrieben mit >50 Völkern im Vergleich zu Betrieben mit 1-20 Völkern
Wanderimker	X	X	X	X	
Wabenhigiene	✓	X	✓	X	Bei Wabentausch 1-30% vs. >50% (2013/14) >50% vs. 1-30% und 31-50% (2015/16)
Trachtpflanzen					
Raps	✓	✓	✓	X	Bei Fehlen dieser Trachtpflanzen
Mais	✓	✓	✓	✓	
Sonnenblume	✓	X	✓	X	
Buchweizen	✓	✓	✓	X	
Seehöhe	✓	✓	✓	✓	Über 600 m (2013/14), über 800 m (2014/15), über 400 m (2015/16) ≤200m und >800m (2016/17)

Varroabestimmung	X	X	✓	X	Bei Bestimmung
Varroabestimmung (0, 1-3, >3 Monate)	X	✓	✓	✓	>3 Monate (2014/15) 1-3 und >3 Monate (2015/16) >3 Monate (2016/17)
Drohnenbrutentnahme	X	X	X	✓	Ohne Entnahme
Drohnenbrutentnahme (April-Juli)	X	X	X	X	
Drohnenbrutentnahme (0, 1-3, >3 Monate)	X	X	X	✓	0 Monate
Ameisensäure-Behandlung					
Kurzzeit	X	✓	✓	✓	Bei Nichtanwendung
Langzeit	X	X	X	✓	Bei Anwendung
Kurz- vs. Langzeit	✓	✓	✓	✓	Bei Langzeitbehandlung
Oxalsäure-Behandlung					
Träufeln	X	X	X	X	
Verdampfen	X	X	X	X	
November vs. Dezember	X	X	X	X	
Bienenwohl	X	X	X	X	
Thymol	X	X	X	X	
Thymol (0, 1, >1 Monate)	✓	X	X	X	>1 Monate Behandlung
Hyperthermie	X	X	X	X	
Andere biotechnische Methoden	X	✓	X	✓	Bei Anwendung
Königinnen-Probleme	✓	X	X	✓	Bei Angabe „Normal“ im Vergleich zu „Häufiger“ (2013/14) Bei Angabe „Normal“ und „Seltener“ im Vergleich zu „Häufiger“
Überleben mit junger Königin	NA	✓	✓	NA	Bei Angabe „Gleich“ (2014/15) „Gleich“ und „Besser“ (2015/16)

Legende: ✓ = signifikanter Unterschied, x = kein signifikanter Unterschied, NA = keine Daten (nicht gefragt).

1.5 Diskussion

Seit 2008 wird die Untersuchung der Winterverluste vom Zoologischen Institut der Universität Graz nun durchgeführt, wobei dieser Bericht die Ergebnisse der letzten vier Winter zusammenfasst. Die dabei erhobenen Verlustraten schwanken zwischen 8,1% (2015/16), die niedrigste seit Beginn der Erhebungen, und der bisher höchsten gemessenen Verlustrate von 28,4% im Winter 2014/15. Diese großen Schwankungen in den Verlustraten, deren genaue Ursachen noch größtenteils unverstanden sind, machen die große Bedeutung eines Bienenmonitorings und der anschließenden Ursachenforschung deutlich. Eine internationale Vergleichbarkeit der erhobenen Daten wird durch die vom Forschungsnetzwerk COLOSS festgelegten Fragen ermöglicht (von der Zee et al., 2013; Brodschneider et al., 2016). Diese Art der Untersuchung ist nur eine Möglichkeit, den Ursachen hoher Winterverluste auf den Grund zu gehen. In weiterer Folge sollen die durch die Umfragen erlangten Erkenntnisse durch gezielte Probenentnahmen ergänzt werden (van der Zee et al., 2015), wie dies auch im Modul „Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten“ für den Winter 2015/16 im Rahmen des Projekts „Zukunft Biene“ durchgeführt wurde.

Alle seit der Überwinterung 2010/11 in Österreich gesammelten Daten im Rahmen der Untersuchung der Winterverluste von Bienenvölkern sind in der Datenbank von Bienenstand.at archiviert. Unter <http://bienenstand.at/datenbank/> können diese Daten nach unterschiedlichen Variablen zu Gruppen geordnet und ausgewertet werden. Dies ermöglicht allen an der Thematik Interessierten, unsere Auswertungen nachzuvollziehen oder weitere Fragestellungen, die in diesem Bericht vielleicht nicht berücksichtigt wurden, selbst auszuwerten. Die Grundlage für die hier vorliegende Analyse der Völkerverluste der Winter 2013/14, 2014/15, 2015/16 und 2016/17 bilden die insgesamt 5227 Antworten von Imkereien aus ganz Österreich, welche in diesem Zeitraum gesamt 83.850 Völker eingewintert haben. Die hier präsentierten Ergebnisse beruhen dabei rein auf den Angaben der ImkerInnen. Um eindeutige Antworten zu erhalten, wurde versucht die Fragestellungen bewusst einfach zu gestalten. Vergleichbare Ergebnisse mit derselben Methode liegen für den Winter 2015/16 aus insgesamt 29 Ländern vor, und es zeigt sich, dass auch in den an Österreich angrenzenden Ländern die Verluste in jenem Winter sehr gering waren (Brodschneider et al., 2016).

Um eine möglichst große Beteiligung der österreichischen ImkerInnen zu erreichen, wurde in allen vier Jahren sowohl online, in Zeitschriften, bei Veranstaltungen als auch über bereits bestehende Kontakte zu einer Teilnahme bei unserer Untersuchung aufgerufen. 2013/14 beteiligten sich 4,0% aller Imkereien in Österreich an unserer Erfassung der Winterverluste, im Winter 2016/17 konnten wir immerhin schon Daten von 6,2% aller österreichischen Imkereien gewinnen. Wir können die Ergebnisse unserer Untersuchung hinsichtlich des Erfassungsmodus als repräsentativ erachten: in drei von vier Wintern konnten keine signifikanten Unterschiede in den Verlustraten zwischen anonymer und nicht-anonymer Teilnahme festgestellt werden, einzig 2016/17 verzeichneten nicht-anonyme TeilnehmerInnen geringere Verluste. Hinsichtlich Online-Teilnahme versus Papierfragebogen-Teilnahme konnten in keinem Jahr signifikanten Unterschiede in der Höhe der Winterverluste festgestellt werden. Da die Teilnahme sowohl online, als auch zu einem beträchtlichen Anteil über die Papier-Fragebögen stattfand, können wir davon ausgehen, dass wir nicht nur eine spezielle Gruppe von ImkerInnen (in diesem Fall ImkerInnen, denen der Umgang mit dem Internet vertraut ist) erfasst haben. Die durchschnittliche Völkeranzahl der im Projekt „Zukunft Biene“ an dieser Erhebung teilnehmenden Imkereien lag 2013/14 bis 2015/16 bei rund 18 Völkern, für 2016/17 bei 19 Völkern (unter Ausschluss von Betrieben mit mehr als 1000 Völkern) und damit leicht über der mittleren Imkereigröße für Österreich von 13,3 Völkern (Daten der „Biene Österreich“ für 2016). Dies könnte als leichte Überrepräsentierung größerer Imkereien gedeutet werden. Andererseits betreuten mehr als die Hälfte der teilnehmenden Betriebe in allen vier Untersuchungsjahren zehn oder weniger Völker (Median), sind also Klein-Imkereien. Auch daraus folgern

wir, dass die dieser Auswertung zugrunde liegenden Daten einer durchmischten und annähernd repräsentativen Gruppe der österreichischen Imkereien entstammen.

Eine weitere Bestätigung der Repräsentativität unserer erhobenen Daten bringt ein Vergleich mit der im Winter 2015/16 durchgeführten Beobachtungsstudie, einem weiteren Modul des Projekts „Zukunft Biene“. Bei dieser Studie wurden von geschulten Experten die Winterverluste von 187 ausgewählten und genau bekannten Bienenständen in ganz Österreich erhoben, wohingegen sich bei unserer Erhebung alle österreichischen ImkerInnen, auf Wunsch auch anonym, beteiligen konnten. Wir haben also die Möglichkeit, die Verlustraten von zwei Untersuchungen eines Winters miteinander zu vergleichen. Die an der Beobachtungsstudie teilnehmenden Betriebe verzeichneten 2015/16 einen Verlust auf Betriebsebene von 8,6% (Konfidenzintervall: 7,5-9,9%), die 1289 TeilnehmerInnen unserer groß angelegte Studie einen Verlust von 8,1% (Konfidenzintervall: 7,4-8,8%). Aufgrund der überlappenden Konfidenzintervalle kann ein signifikanter Unterschied zwischen den auf unterschiedliche Art und Weise erhobenen Winterverlustraten ausgeschlossen und die beiden Ergebnisse daher als bestätigt betrachtet werden.

88,8% der insgesamt 5227 an der Untersuchung teilnehmenden ImkerInnen halten ihre Bienen innerhalb von 15 km des von ihnen angegebenen Standortes. Diese Informationen sind wichtig für alle standortbezogenen weiteren Auswertungen. Dazu zählen etwa die Seehöhe, der Einfluss des Wetters (siehe Kapitel 2a „Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit: Witterung und Winterverluste“) sowie die Landnutzung (ebd.: Landnutzung und Winterverluste“; Clermont et al., 2015a).

Die Winterverluste sind österreichweit nicht gleich verteilt, 2013/14 bis 2016/17 sind Unterschiede in den Verlustraten der Bundesländer zu erkennen (siehe Abschnitt 1.4.3.2, Tabelle 1.8). Wir haben Daten von Imkereien aus beinahe allen Bezirken gewonnen und auch große Unterschiede auf Bezirksebene feststellen können.

Wir erhalten in dieser Untersuchung die größtmögliche Information über die Symptome der in Österreich verstorbenen Bienenvölker. Dadurch können die Ursachen für Winterverluste, wenn schon nicht klar einer einzelnen Ursache zugeordnet, so zumindest doch eingegrenzt werden. Der Symptomkatalog wurde dabei bewusst einfach gewählt, um den ImkerInnen eine eindeutige Zuordnung ohne Hilfsmittel wie Laboruntersuchungen zu erleichtern. Auch bei demselben Schadbild können noch immer unterschiedliche Gründe hinter dem Völkerverlust stecken. Außerdem gilt zu berücksichtigen, dass zwischen dem Auftreten des Verlusts und der Symptombeschreibung durch ImkerInnen ein beträchtlicher Zeitraum liegen kann, in dem Spuren, wie tote Bienen vor dem Volk, verwischen und daher nicht mehr eindeutig zugeordnet werden können. Das Auftreten der einzelnen Symptome wurde für die Winter 2014/15, 2015/16 und 2016/17 genauer untersucht. Unsere drei für die zu dieser Frage durchgeführten Auswertungen, welche die Häufigkeiten der genannten Symptome von ausschließlich toten bzw. verlorenen Völkern ohne Mehrfachnennung, die Häufigkeiten aller Symptom-Nennungen bezogen auf den Gesamtverlust (verlorene Völker und Völker mit Königinnen-Problemen) ohne Mehrfachnennung und die Häufigkeiten aller Symptom-Nennungen inklusive Mehrfachnennungen und unvollständigen Datensätzen beinhalten, zeigen alle drei ähnliche Ergebnisse. Die dennoch manchmal zutreffende Ungenauigkeit im Zuordnen der Symptome durch ImkerInnen ist also vernachlässigbar. Eindeutig am häufigsten über den Untersuchungszeitraum 2014/15 bis 2016/17 wurde angegeben, „keine oder nur wenige tote Bienen im oder vor dem Volk“ beobachtet zu haben. Dieses Symptom ist relativ unspezifisch, und kann unterschiedlichste Ursachen haben. Dieses Schadbild wurde auch als charakteristisch für CCD beschrieben und in den USA aber auch in Europa (Dainat et al., 2012) in den letzten Jahren häufig beobachtet (VanEngelsdorp et al., 2009; Williams et al., 2010; Steinhauer et al., 2014).

Eines der wenigen relativ eindeutig einer Ursache zuordenbaren Symptome ist das Vorhandensein von toten Bienen, die mit dem Kopf voran in Zellen stecken. Bei gleichzeitigem Mangel von Futter im Volk, kann dieses Schadbild relativ sicher als Verhungern gedeutet werden. Dabei gilt es zwei unterschiedliche Formen zu unterscheiden, die im Winter 2015/16 gleich häufig zu jeweils etwa 10% beobachtet werden konnten: Zum einen der bereits erwähnte Futtermangel, zum anderen aber auch noch verbliebene Futterreserven, wobei die Bienen aus der Wintertraube durch widrige Umstände diese aber nicht erreicht haben. Es wird dabei vom Futterabriss der Wintertraube gesprochen. 2014/15 und 2016/17, zwei Untersuchungsjahre mit hohen Verlusten, wurde häufiger angegeben, tote Bienen in den Zellen, aber genügend Futter im Stock als tote Bienen in den Zellen bei keinem Futter im Stock vorgefunden zu haben.

Elementarschäden, d.h. Verluste etwa durch Flut, Vandalismus, Specht oder andere externe Faktoren spielen in Österreich eine untergeordnete Rolle. In den Jahren 2014/15 und 2015/16 waren sie Teil des Symptomkatalogs und konnten von den ImkerInnen als mögliches Symptom von toten bzw. leeren Völkern bzw. Völkern mit Königinnen-Problemen angegeben werden. Ab der Untersuchung 2016/17 haben wir die Elementarschäden als eigene Kategorie von Verlusten betrachtet. Die Winterverlustrate von 23,0% für 2016/17 wurde ohne Völker, die durch Elementarschäden verloren worden sind, berechnet. Berücksichtigt man die 163 durch Elementarschäden verlorenen Völker, liegt die Verlustrate für den Winter 2016/17 bei 23,4%. Bei unserer Risikoanalyse haben wir die durch diese Ursache verlorenen Bienenvölker nicht berücksichtigt. Durch Elementarschäden verursachte Winterverluste ermöglichen keine epidemiologischen Rückschlüsse auf Krankheiten oder Betriebsweisen, die erhöhte Winterverluste verursachen.

Die USA beziehen nicht nur die Verlustraten, sondern auch den durchschnittlichen Verlust (siehe Abschnitt 1.4.5) der Imkereien in ihre Analysen der Winterverluste mit ein (vanEngelsdorp et al., 2011; Steinhauer et al., 2014; Lee et al., 2015a). Der Gesamtverlust aller in Österreich eingewinterten Völker ergibt eine Verlustrate für den jeweiligen Winter. Diese ermöglicht, im Gegensatz zum durchschnittlichen Verlust, eine bessere Vergleichbarkeit sowohl zwischen den einzelnen Untersuchungsjahren als auch zwischen den Bundesländern und den Bezirken. Die von uns präsentierte Verlustrate ist vergleichbar mit den Statistiken betreffend Verkehrstote im Straßenverkehr: um die erhobenen Daten unterschiedlicher Bundesländer einander gegenüberstellen zu können, wird die Zahl der Verkehrstote beispielsweise pro 100.000 Einwohner angegeben. Während große Betriebe die Verlustrate stärker beeinflussen, treiben hohe Verluste kleiner Betriebe den durchschnittlichen Verlust in die Höhe. Betrachten wir die Verlustrate des Winters 2016/17: Die Verlustrate liegt hier bei 23,0%. Der Mittelwert des durchschnittlichen Verlusts der Imkereien jedoch bei 26,5%. Dieser Unterschied könnte auch erklären, warum einige ImkerInnen die veröffentlichten Verlustraten als zu gering empfinden.

Unsere Untersuchung hat gezeigt, dass Winterverluste mit zunehmender Betriebsgröße abnehmen. Dabei konnten wir in zwei Jahren (2014/15 und 2015/16) statistisch signifikant geringere Verluste bei Betrieben mit mehr als 50 Völkern feststellen. Werden bei der Untersuchung 2016/17 die beiden Betriebe mit über 1000 eingewinterten Völkern in der Risikoanalyse nicht berücksichtigt, lassen sich auch in diesem Winter signifikant geringere Verluste bei großen Betrieben erkennen (siehe Abschnitt 1.4.6.1). Eine genauere Analyse mit drei Gruppen von Betriebsgrößen bestätigte dieses Ergebnis für die Jahre 2013/14 bis 2015/16. Wir konnten hier signifikante Unterschiede zwischen Imkereien, die ein bis 20 Völker und Imkereien, die mehr als 50 Völker betreuten, verzeichnen. Vorangegangene Untersuchungen der Winterverluste der Jahre 2007/08 und 2008/09 haben jedoch keinen signifikanten Einfluss der Betriebsgröße auf die Verlustrate gezeigt (Brodtschneider et al., 2010). Die Ergebnisse, die wir während der Projektlaufzeit von „Zukunft Biene“ gefunden haben, werden durch internationale Untersuchungen, die mehrere europäische Länder umfassen, bestätigt (van der Zee et al., 2014; Brodtschneider et al.,

2016). Auch in den USA sind in bestimmten, aber nicht allen Untersuchungsjahren bei steigender Betriebsgröße geringere Winterverluste festgestellt worden. Die an der Untersuchung teilnehmenden ImkerInnen wurden dort anhand der Anzahl ihrer Völker in drei Kategorien eingeteilt: „backyard beekeepers“ (<50 Völker), „sideline beekeepers“ (51-500 Völker) und „commercial beekeepers“ (>500 Völker). Als Ursache für die Unterschiede in den Verlusten werden mehrere Faktoren diskutiert. Es wird zum Beispiel ein Einfluss der Betriebsgröße auf die Betreuungsqualität der Völker angenommen: „Commercial beekeepers“ zeigen oft mehr technisches Wissen in der Schädlingsbekämpfung ihrer Bienen – insbesondere bei der Bekämpfung der Varroamilbe – als „backyard beekeepers“, welche die Bienenhaltung nicht gewerbsmäßig betreiben (Lee et al., 2015a). Auch die Wahl der Methode und Qualität der verwendeten Bekämpfungsmaßnahmen könnte in Abhängigkeit von der Betriebsgröße eine andere sein. Diese Argumente lassen sich möglicherweise eingeschränkt auch auf die österreichischen Imkereien übertragen, auch wenn hier Betriebe mit über 500 Völkern die Ausnahme bilden.

Trotz der Annahme, dass „commercial beekeepers“ und „sideline beekeepers“ höhere Verluste aufgrund der räumlichen Nähe vieler Völker und dem Transport von Bienen zu neuen Trachtquellen verzeichnen würden, zeigen die Untersuchungen von Lee et al. (2015a), dass die Winterverluste bei Wanderimkereien unter den „sideline beekeepers“ sogar geringer ausfallen. Bei den „commercial beekeepers“ konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Wander- und StandimkerInnen festgestellt werden. Allerdings lag der p-Wert hier bei 0,065. Dies bedeutet einen Trend zu geringeren Winterverlusten bei Wanderimkereien. Zu ähnlichen Ergebnissen betreffen die Betriebsgröße kamen auch alle vorangegangenen Untersuchungen in den USA (vanEngelsdorp et al., 2007, 2008, 2010, 2011, 2012; Spleen et al., 2013; Steinhauer et al., 2014). Der Wanderimker wird in den letzten beiden Untersuchungen aus den USA keine wichtige Rolle als Risikofaktor für Völkerverluste mehr eingeräumt (Seitz et al., 2016; Kulhanek et al., 2017). Wir konnten über die hier präsentierten vier Winter hinweg ebenfalls keinen Unterschied in den Verlusten von Wander- und StandimkerInnen feststellen. Somit scheint in Österreich der im Vergleich zu den USA viel kleinräumigere Transport von Bienen zu Trachtquellen oder Bestäubungseinsätzen keinen epidemiologisch wirksamen Einfluss auf deren Überwinterungserfolg zu haben.

Die Annahme, dass eine Erneuerung des Wabenmaterials zu geringeren Winterverlusten führe, wurde nur im Winter 2015/16 bestätigt. ImkerInnen, die mehr als 50% ihrer Waben erneuerten, hatten signifikant geringere Verluste als ImkerInnen, die zwischen einem und 30% bzw. zwischen 31% und 50% ihrer Waben erneuerten. Ansammlungen von Pestizidrückständen, wie auch von Krankheitserregern im Wachs, könnten die Überlebensrate von Bienenvölkern vermindern. Eine vollständige Rückstandsfreiheit des neuen Wabenmaterials kann in unserer Untersuchung mangels Überprüfung allerdings nicht als gegeben angenommen werden. Allerdings führten 2013/14 ein bis 30% ausgetauschte Waben zu einer geringeren Winterverluste als über 50% ausgetauschtes Wabenmaterial. In den anderen beiden Wintern konnten keine signifikanten Unterschiede im Überwinterungserfolg zwischen den unterschiedlich großen Anteilen ausgetauschter Waben festgestellt werden. Ein eindeutiges Muster lässt sich also nicht erkennen.

Unsere Studie zeigt, ebenso wie auch die Untersuchung des internationalen Datensatzes von van der Zee et al. (2014), dass in den Wintern 2013/14 bis 2015/16 zwischen der von ImkerInnen angegebenen Verfügbarkeit von Raps für ihre Bienen und dem Überwinterungserfolg ein statistisch signifikanter, negativer Zusammenhang bestand. Gleiches gilt, wenn Buchweizen vorhanden war. Die Trachtpflanze Mais hatte sogar über alle vier Winter hinweg einen negativen Einfluss auf den Überwinterungserfolg. Wir beobachteten im Winter 2013/14 und 2015/16 außerdem, dass Betriebe, die die Sonnenblume als Bestandteil der Bienentracht angegeben hatten, signifikant höhere Verluste erlitten, als jene Betriebe, die Sonnenblume nicht als Trachtpflanze genannt haben. Die Ursachen dafür sind nicht näher bekannt, diskutiert wird der

Einsatz von Pflanzenschutzmitteln und einseitige Ernährung (Brodschneider & Crailsheim, 2013), es kommen aber auch andere, bisher nicht näher identifizierte Faktoren in Frage. Rundlöf et al. (2015) zeigen in ihrer Studie aus Schweden negative Effekte von mit Pestiziden behandelten Kulturen auf Wildbienen (solitäre Bienen, Hummeln), die Untersuchung konnte aber keinen signifikanten Einfluss auf die Überwinterung von Honigbienenvölkern nachweisen. Dieser wurde von Woodcock et al., (2017) in einer groß angelegten Feldstudie teilweise erbracht. Als weitere Ursache für hohe Winterverluste im Zusammenhang mit Trachtpflanzen wird eine einseitige Ernährung durch mangelndes Trachtangebot, welches durch Monokulturen zustande kommt, angenommen (Brodschneider & Crailsheim, 2013). Aus epidemiologischer Sicht können wir also einen signifikanten Zusammenhang mit bestimmten vorhandenen Trachtquellen festhalten, wobei diese Trachtquellen auch stellvertretend für andere (nicht abgefragte oder bisher unbekannt) abträgliche Standortverhältnisse stehen können. Es können also keine kausalen Gründe für die erhöhten Verluste beim Vorhandensein bestimmter Trachtpflanzen genannt werden, diese Trachtpflanzen können aber als Indikator von für Bienenvölker nicht idealen Standorten gesehen werden. Für weitere kausale Aussagen müssen hier tiefergehende Untersuchungen durchgeführt werden, wie sie beispielsweise im Modul „Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit – Landnutzung und Wintersterblichkeit“ näher betrachtet werden. Auch die Qualität und Rückstandsbelastung der von den Bienen an den Pflanzen gesammelten Gütern (Nektar, Pollen, Wasser) ist in separaten Studien zu überprüfen.

Zusätzlich wurde der epidemiologische Zusammenhang zwischen dem Überwinterungserfolg von Bienenvölkern und der Seehöhe des Bienenstands untersucht: Bienenstände, die über 200m Seehöhe liegen, hatten in den Wintern 2013/14 bis 2015/16 signifikant geringere Winterverluste. Der Trend, dass höher gelegene Betriebe geringere Verluste verzeichnen, hat sich auch im Winter 2016/17 gezeigt, allerdings nur beim Vergleich von Imkereien, welche ihre Bienen auf über 800m betreuen und Betrieben, die ihre Völker auf einer Höhe zwischen 201m und 400m halten. Ein möglicher Grund für die geringeren Verluste könnte in der Landnutzung liegen. Diese wird speziell in höheren Lagen weniger stark vom Menschen beeinflusst. Außerdem hat die Seehöhe Auswirkungen auf das Klima, was sich wiederum in den natürlichen Vegetationsunterschieden bemerkbar macht, aber auch in späterem Brutbeginn aber früherer Brutfreiheit bemerkbar macht. Damit verkürzt sich auch die Zeitspanne, in der sich die Varroamilbe in der Brut vermehren kann (Switaneck et al., 2017). Entgegen dem vorangegangenen Muster verzeichneten ImkerInnen, welche ihre Völker auf weniger als 200m Seehöhe betreuen, bei der Erhebung 2016/17 geringere Verluste. Diese Erscheinung kann aber als „Ausreißer“ der vier Winter betrachtet werden. Bei einer genaueren Analyse unserer Daten konnten wir feststellen, dass die starke Beteiligung aus Vorarlberg und Tirol in Kombination mit den dortigen hohen Verlustraten in diesem Winter nicht ausschlaggebend für dieses Ergebnis war.

Bei der Erhebung der Winterverluste 2016/17 wurden die ImkerInnen erstmals zu weiteren Details ihrer Betriebsweise befragt. Entscheidenden Einfluss auf die Verlustrate hatten im Winter 2016/17 isolierte Beuten, wie durch eine zusätzliche Isolierungsschicht oder Beuten aus Styropor, kleine Brutzellen (<5,1mm) und ob der Betrieb als Bio-Imkerei zertifiziert ist. Betriebe mit isolierten Beuten und kleinen Brutzellen verzeichneten höhere Winterverluste als Betriebe, die diese Betriebsweisen nicht anwenden. Zu beachten ist hierbei, dass nur ein geringer Anteil der Teilnehmer, nämlich 49 der 1439 antwortenden ImkerInnen, angegeben hat, kleine Brutzellen zu verwenden. Da diese Betriebsweise im Kampf gegen die Varroa-Milbe propagiert wird, könnte die Intensität der üblichen Varroa-Bekämpfungsmethoden reduziert werden, was einen Einfluss auf die Winterverlustrate haben kann. Die Effizienz kleinerer Brutzellen gegen die Varroa-Milbe wird wissenschaftlich angezweifelt (Berry et al., 2010; Ellis et al., 2009; Saucy 2014; Seeley et al., 2011). Signifikant geringere Verluste fanden wir hingegen bei Imkereien, die angaben, ein zertifi-

zierter Bio-Betrieb zu sein. Der Begriff „bio“ ist allerdings umstritten – nur 9,2% der TeilnehmerInnen können sich als zertifizierte Bio-Imkerei ausweisen. TeilnehmerInnen haben jedoch bei unserer Umfrage vermehrt als Kommentar angegeben, „wie bio“ oder „bio-nahe“ aber ohne Zertifizierung zu arbeiten. Wir haben für unsere Auswertungen nur Imkereien mit Zertifikat als Bio-Imkereien gewertet. Die genauen Richtlinien für Bio-Betriebe sind auf der Homepage der „Biene Österreich“ nachzulesen. Im Rahmen von „Zukunft Biene“ wurde eine solche Untersuchung mit einer kleineren Stichprobe im Winter 2015/16 schon einmal durchgeführt. Dabei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Bio- und konventionellen Imkereien gefunden werden (siehe Abschnitt 3a.4.5.4.3 Bewirtschaftungsart (Bio/Konventionell)).

Weitere Untersuchungen zu Vor- und Nachteilen der Bio-Imkerei, auch bezüglich der Höhe von Winterverlusten, sind notwendig und sinnvoll. Andere Betriebsweisen, wie etwa die Verwendung von Kunststoffbeuten, Naturwabenbau oder der Zukauf von Wachs erwiesen sich als unbedeutend auf die Wintersterblichkeit. Die Frage nach dem Zukauf von Wachs wurde nach Berichten über verfälschtes Bienewachs in den Fragenkatalog aufgenommen. Unsere Beobachtung, dass es für die Winterverlustrate unerheblich ist, ob der Gitterboden geschlossen oder offen ist, wird durch eine Untersuchung aus Spanien (Sánchez, 2015) gestützt. Dabei wurde die Temperatur im Stock bei Völkern mit offenen und geschlossenem Gitterboden im Winter verglichen, und kein Unterschied gefunden. Freilich haben Bienenvölker in Spanien mit anderen Kälte-Einbrüchen zu kämpfen als im Winter 2016/17 in Österreich.

Im Kampf gegen hohe Winterverluste spielt die Behandlung der Völker gegen die Varroamilbe eine wichtige, wenn nicht die zentrale Rolle. Der Parasit hat einen großen Einfluss auf den Überwinterungserfolg von Bienenvölkern (Dahle, 2010). Insbesondere auch dadurch, dass die Milbe als Vektor für andere Pathogene, wie Viren, dient (Rosenkranz et al., 2010). Deshalb waren die Häufigkeit und der Zeitpunkt der Behandlungsmethoden wichtiger Bestandteil unserer Untersuchungen.

Ameisensäure kam in allen vier Jahren vermehrt von Juli bis Oktober zum Einsatz, wobei sowohl die Kurzzeit- als auch die Langzeitbehandlung am häufigsten im August stattfanden. Etwa 60% der TeilnehmerInnen haben eine Form der Ameisensäure-Behandlung im August durchgeführt, insgesamt wird Ameisensäure von mehr als 80% der Imkereien in Österreich angewendet. Etwa dreiviertel aller Imkereien folgen den Empfehlungen der von der „Biene Österreich“ herausgegebenen Broschüre zur Varroabekämpfung (Moosbeckhofer et al., 2015) und kombinieren eine Ameisensäurebehandlung mit Oxalsäure zur Restentmilbung (siehe Abschnitt 1.4.6.6). Die Bekämpfung der Milbe mit Oxalsäure nahmen die meisten ImkerInnen im Dezember vor. Dabei wurde Bienenwohl am häufigsten angewandt. Thymol fand vermehrt Verwendung im August und September, biotechnische Methoden (ohne Hyperthermie und ohne Drohnenbrutentnahme) von Mai bis August. Eine Bestimmung des Befalls der Völker mit der Varroamilbe wurde von den ImkerInnen über die vier Jahre hinweg am häufigsten im Monat August durchgeführt.

Nach Betrachtung der Häufigkeit und des Zeitpunktes wurden die Methoden bezüglich ihres Einflusses auf die Winterverlustrate analysiert. Im Vergleich zu Betrieben, die keine Varroabestimmung (zum Beispiel Zählen des Milbenbefalls, Staubzuckermethode) durchgeführt haben, verzeichneten nur im Winter 2015/16 jene Betriebe, die eine Bestimmung gemacht haben, einen signifikant geringeren Völkerverlust. In den anderen drei Untersuchungsjahren konnte kein Effekt auf die Höhe der Winterverluste festgestellt werden. Somit hat eine Varroabestimmung nur in Jahren mit geringen Winterverlusten Erfolge gezeigt. Die Dauer der Bestimmung hatte in den Wintern 2014/15 und 2016/17 einen Einfluss auf die Höhe der Winterverluste – im Vergleich zu Betrieben, welche in einem, zwei oder drei Monaten eine Befalls-Bestimmung durchgeführt haben, verzeichneten Betriebe, die in mehr als drei Monaten den Befall mit der Varroamilbe bestimmt

haben, geringere Verluste. Im Winter 2015/16 zeigte sich, dass die Methode an sich und nicht die Dauer ausschlaggebend für den Überwinterungserfolg war. Daraus lässt sich die Empfehlung einer Bestimmung in mehr als drei Monaten im Jahr zur besseren Kenntnis des Befallsstandes und damit zur Reduktion der Winterverluste ableiten. Im Vergleich von Betrieben, welche über den Zeitraum April des Einwinterungsjahres bis April des Auswinterungsjahres eine Bestimmung des Varroabefalls ihrer Völker durchgeführt haben, zu Betrieben, die im jeweiligen Monat keinen Varroabefall bestimmt haben, konnten wir signifikante Unterschiede in den Winterverlusten erkennen. Dabei haben wir in den Untersuchungsjahren 2014/15 bis 2016/17 bei Imkereibetrieben, welche ihre Völker einer Bestimmung in den Wintermonaten unterzogen haben, signifikant geringere Verluste feststellen können. Dabei handelt es sich nur um einen relativ kleinen Prozentsatz von Imkereien, vermutlich jene Imkereien, die das ganze Jahr über den Varroabefall ihrer Völker beobachten und nicht nur gezielt im Winter bestimmen.

Drohnenbrut wird von den Varroamilben vorrangig parasitiert (Rosenkranz et al., 2010), und die Entnahme von Drohnenbrut stellt mit 63,3% auch eine der am häufigsten von den Imkereien durchgeführten Bekämpfungsmethoden dar. Vorangegangene Untersuchungen haben gezeigt, dass sich eine Drohnenbrutentnahme im April positiv auf den Überwinterungserfolg auswirkt (Brodschneider & Crailsheim, 2013). Dies konnten wir bei unseren Untersuchungen nicht auf Signifikanz-Niveau bestätigen. Über die vier Winter hinweg konnten wir bei der Entnahme der Drohnenbrut in den Monaten April bis Juli, verglichen mit Imkereien, die in den jeweiligen Monaten keine Drohnenbrut entfernt haben, keine statistisch signifikant geringeren Verluste feststellen. Aufgrund einer signifikant höheren Winterverluste bei Anwendung dieser Methode im Winter 2016/17 und dem Ergebnis, dass eine Entnahme in einem bis drei Monaten zu signifikant höheren Verlusten als der Verzicht dieser Methode führte, wird die Wirksamkeit der Drohnenbrutentnahme zur Reduktion von Winterverlusten in Frage gestellt. Für uns sind diese Ergebnisse nicht ganz erklärbar, keinesfalls wollen wir aber aufgrund dieser Feststellungen von der Drohnenbrutentnahme abraten, da sie Teil der österreichischen Empfehlung zur Bekämpfung von *Varroa destructor* ist (Moosbeckhofer et al., 2015). Hier ist auch anzumerken, dass andere Studien durchaus zu dem Ergebnis gekommen sind, dass eine konsequente, mehrmals durchgeführte Drohnenbrutentnahme den Anstieg der Varroapopulation stärker verringert, als eine einmalige Entnahme (Calderone, 2005).

Eine Thymolbehandlung führte nur im Winter 2013/14 zu signifikant geringeren Verlusten als andere Methoden ohne Thymol. Dabei sorgte eine Behandlung in mehr als einem Monat im Vergleich zu keiner Behandlung und im Vergleich zur Gruppe, die nur in einem Monat eine Behandlung durchgeführt hat, für signifikant geringere Völkerverluste.

Wir konnten bei unserem Vergleich der vier Winter feststellen, dass die Anwendung einer Hyperthermie-Behandlung über die Jahre hinweg zugenommen hat. Dennoch haben Betriebe, die diese Methode verwenden, keine signifikant höheren oder niedrigeren Winterverluste als andere Betriebe. Damit wird bestätigt, dass die Hyperthermie nur eine begleitende Maßnahme ist. Oft gehen weitere (andere) Behandlungen gegen die Varroamilbe zusätzlich damit einher.

Eine Behandlung mit Ameisensäure stellt die wichtigste Behandlungsmethode gegen die Varroamilbe im Sommer dar. 83% der TeilnehmerInnen haben angegeben, eine Kurz- oder Langzeitbehandlung mit Ameisensäure durchgeführt zu haben. Über die untersuchten Winter hinweg konnten wir bei der Bekämpfung der Varroamilbe mit einer Ameisensäure-Kurzzeitbehandlung in drei von vier Wintern feststellen, dass Anwendungen anderer Bekämpfungsmethoden gegen die Varroamilbe hinsichtlich der Winterverluste gegenüber dieser Behandlung von Vorteil sind. Dabei ist es unbedeutend, ob es sich um einen Winter mit geringen oder hohen Verlusten handelt. 2016/17 fanden wir signifikant geringere Winterverluste bei Anwendung einer Ameisensäure-Langzeitbehandlung im Vergleich zu Betrieben, die keine Langzeitbehandlung durchgeführt haben.

Wird Ameisensäure in der Bekämpfung der Varroamilbe angewandt, zeigt sich in allen vier Jahren, dass eine alleinige Anwendung der Langzeitbehandlung Winterverluste stärker reduzierte, als eine alleinige Kurzzeitbehandlung. Über die tatsächlich beste Art der Anwendung und die dabei idealerweise vorherrschenden Umweltbedingungen können keine Aussagen getroffen werden, diese Erkenntnisse könnten aber die bereits jetzt sehr wichtige Ameisensäure als Bekämpfungsmethode weiter stärken und sollten in Feldversuchen untersucht werden.

Die Art und Weise der Winterbehandlung mit Oxalsäure hat keinen Einfluss auf die Sterblichkeit im aktuellen Winter. Unsere Untersuchung hat gezeigt, dass rund dreiviertel der teilnehmenden ImkerInnen eine Form der Oxalsäure-Behandlung im Winter zur Bekämpfung der Varroamilbe eingesetzt haben. Dabei kann die Oxalsäure geträufelt, gesprüht oder als Bienenwohl eingesetzt werden. Bei Betrachtung von Art und Zeitpunkt (Winterbehandlung im November oder Dezember) der Oxalsäure-Behandlung zeigen sich in keinem der vier Winter Unterschiede in den Verlustaten. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Oxalsäurebehandlung über den beobachteten Zeitraum fast flächendeckend stattfand und dadurch fast immer eine solche Behandlung angewandt wurde. Es gibt also keine verlässliche Kontrollgruppe von Imkereien, die nicht mit Oxalsäure arbeitet. Das unterstreicht die Bedeutung der Oxalsäure und die Alternativlosigkeit in der Winterbehandlung. Außerdem wirken Behandlungen mit Oxalsäure auf die an Bienen ansitzenden Varroamilben, und damit ausschließlich bei Brutfreiheit der Völker (Rosenkranz et al., 2010). Über das tatsächliche Vorherrschen von Brutfreiheit bei Anwendung der Oxalsäure kann im Rahmen dieser Untersuchung keine Aussage getroffen werden. Die Behandlung mit Oxalsäure zielt dabei auf eine Reduktion der Milbenpopulation im Folgejahr ab.

Betrachtet man die Winterverluste von 2014/15 und 2016/17 ist zu erkennen, dass biotechnische Methoden (ohne Hyperthermie und ohne Drohnenbrutentnahme), wie zum Beispiel Bann- oder Fangwaben oder die komplette Entnahme verdeckelter Arbeiterinnenbrut, das Potential besitzen, Winterverluste signifikant zu reduzieren, vor allem in Wintern mit hohen Verlusten. In den Wintern 2013/14 und 2015/16, wo wir keine so hohen Verlustaten, wie in den anderen beiden Wintern feststellen konnten, fanden wir keine statistisch belegbaren Unterschiede in der Verlustrate zwischen ImkerInnen, welche *Varroa destructor* mit biotechnischen Methoden bekämpft haben, und jenen Betrieben, die keine solchen Methoden verwendet haben. Eine Empfehlung, die Varroamilbe mit biotechnischen Methoden zu bekämpfen, kann aufgrund der zwei Winter mit vergleichsweise hohen Verlusten aber ausgesprochen werden.

Ein weiterer wichtiger Faktor im Überleben von Bienenvölkern ist die Vitalität der Königin. In allen vier Wintern haben nur zwischen 5,2% und 16,6% der ImkerInnen häufigere Königinnen-Probleme in ihren Völkern als im Vorjahr angegeben. Mehr, nämlich zwischen 15,5% und 33,1%, haben sogar seltener von solchen Problemen berichtet und für fast die Hälfte der TeilnehmerInnen waren die Probleme „normal“ im Vergleich zum Vorjahr. Königinnen-Probleme scheinen sich also für die ImkerInnen in allen vier untersuchten Wintern in einem „normalen“ Rahmen zu bewegen. Eine internationale Untersuchung von van der Zee et al. (2014) dazu ergab, dass Imkereien, die angaben, mehr Königinnen-Probleme als im Vorjahr beobachtet zu haben, auch höhere Winterverluste hatten. In zwei von vier von uns untersuchten Wintern deckt sich die Beobachtung von häufigeren Königinnen-Problemen mit einer signifikant höheren Winterverlustrate. Die Erhebungen der Winterverluste 2013/14 und 2016/17 bestätigen also das Ergebnis dieser Studie: signifikant höhere Verluste konnten bei der Angabe „Häufiger“ im Vergleich zu „Normal“ (2013/14 und 2016/17) und „Seltener“ (2016/17) festgestellt werden. Für den Winter 2015/16 konnten wir keinen solchen Zusammenhang mit der Frage nach Königinnen-Problemen beobachten – die Winterverluste der drei Gruppen „Häufiger“, „Normal“ und „Seltener“ unterschieden sich nicht signifikant. Zudem stellten sowohl van der Zee et al. (2014) als auch Genersch et al. (2010) fest, dass junge Königinnen, das bedeutet im Vorjahr begattete Königinnen, einen positiven Einfluss auf die

Überlebenswahrscheinlichkeit der Völker haben. Als Grund wird unter anderem die größere Menge an Brut angenommen. Genauere Ursachen für den gesteigerten Überwinterungserfolg konnten jedoch noch nicht gefunden werden. Eine weitere Ursache für einen verminderten Überwinterungserfolg von Völkern mit einer älteren Königin könnte in der gesundheitlichen Beeinträchtigung dieser Königin aufgrund der akkumulierten Belastung mit Pestiziden liegen (Williams et al., 2015). Ein positiver Einfluss junger Königinnen auf die Winterverluste nach Einschätzung der ImkerInnen wurde bei der Analyse der Winterverluste 2014/15 und 2015/16 in Österreich erfragt. ImkerInnen, die den Überwinterungserfolg 2015/16 von Völkern mit einer jungen Königin als „besser“ oder „gleich“ einschätzten, hatten signifikant geringere Verluste zu verzeichnen als jene, die den Überwinterungserfolg als „schlechter“ empfanden. Bei der Untersuchung 2014/15 war die Winterverluste bei der Angabe „Gleich“ signifikant geringer als bei der Angabe „Schlechter“. Eine regelmäßige Verjüngung der Königinnen kann also aufgrund der vorliegenden Ergebnisse und der Literatur empfohlen werden.

Wir haben aus den Winterverlusten und dem Völkerstand im Frühjahr davor eine hypothetische Populationsdynamik der Bienenvölker vom Frühjahr 2013 bis zum Frühjahr 2017 modelliert (siehe Abschnitt 1.4.3.1.1., Abbildung 1.6). Dabei zeigt sich, dass eine Vermehrung über den Sommer, etwa durch eigene Nachschaffung oder Zukäufe, eine konstante, sogar steigende, Bienenpopulation in Österreich erlaubt. In Jahren mit geringen Völkerverlusten, wie etwa im Winter 2015/16, sind die ImkerInnen in der Lage, Winterverluste im Sommer auszugleichen und eine größere Anzahl an Bienenvölkern im folgenden Herbst einzuwintern. Einzig im Frühjahr 2015 hatten die Teilnehmer um 11% weniger Völker als im Frühjahr 2014. Da in diesem Winter die Verluste mit rund 28% relativ hoch war, konnten sie den Stand des Vorjahres nicht erreichen. Unser Modell ist aber nur unter Einschränkung möglich – je nach Höhe der Winterverluste sind von den ImkerInnen dementsprechend Zeit und Geld zu investieren, um eine Population vergleichbar mit dem Vorjahr aufzubauen bzw. zu erhalten. Die Arbeit und Kosten für die Nachschaffung werden dabei vorwiegend von Kleinimkereien, welche den Großteil der Bienenpopulation in Österreich betreuen, getragen. Ökonomische Abschätzungen dieser Leistungen zum Erhalt einer starken Bienenpopulation sollten für eine nachhaltige Entwicklung des Imkereisektors berücksichtigt werden.

Die Winterverluste sind nicht nur von einzelnen Betriebsweisen oder Methoden der Varroa-bekämpfung abhängig, sondern von vielen Entscheidungen, die im Laufe eines Bienenjahres von den ImkerInnen getroffen werden. Vergleicht man die Ergebnisse der Risikoanalyse der letzten vier Untersuchungsjahre, können aber über die Jahre hinweg gemeinsame Muster erkannt werden. In allen vier Wintern konnten wir signifikante Einflüsse der Betriebsgröße, dem Angebot an Trachtpflanzen und der Seehöhe auf die Winterverluste erkennen. Bei der Wanderimkerei hingegen konnten in unserem Untersuchungszeitraum keine epidemiologisch wirksamen Effekte auf die Wintersterblichkeit gefunden werden. Bei der Wabenhygiene können wir in zwei von vier Wintern Effekte auf den Überwinterungserfolg feststellen. Empfehlungen können daraus allerdings nicht gezogen werden, da sich in diesen beiden Wintern kein klares Muster erkennen lässt. Bezüglich der Bekämpfungsmethoden gegen die Varroamilbe lässt sich festhalten, dass eine Bestimmung des Varroabefalls in mehr als drei Monaten in drei von vier Jahren effektiver war, als eine Bestimmung in nur einem Monat. Dabei ist zu beachten, dass der positive Effekt auf die Winterverluste nicht ursächlich durch die Bestimmung des Milbenbefalls erreicht wird, sondern das Ergebnis von mehreren Handlungen sowie Methoden ist. Es ist anzunehmen, dass die signifikante Reduktion der Winterverluste bei Betrieben, die den Milbenbefall der Völker bestimmen, von besserer Kenntnis des Befallsstandes und damit auch von zeitgerechterer und damit erfolgreicherer Bekämpfung der Varroamilbe begleitet wird. Aus den statistisch belegten positiven Effekten, vor allem in den beiden Wintern mit hoher Wintersterblichkeit, lässt sich also die Empfehlung ableiten, möglichst gut über den Befallsstand der Bienenvölker mit der Varroa-Milbe Bescheid zu wissen und durch geeignete Maßnahmen auch entsprechend zu handeln. Weitere

klare Vorteile im Überwinterungserfolg zeigten sich bei alleiniger Ameisensäure-Langzeitbehandlung gegenüber alleiniger Ameisensäure-Kurzzeitbehandlung über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg. Somit ist der Ameisensäure-Langzeitbehandlung, statistisch gesehen, der Vorzug zu geben. Aufgrund der Tatsache, dass eine Oxalsäure-Behandlung fast flächendeckend von österreichischen ImkerInnen angewandt wird und deren Effekt in der Bekämpfung der Varroamilbe erst im Folgejahr zu erkennen ist, können keine eindeutigen Aussagen dazu getroffen werden. Eine Behandlung mit Thymol führte nur in einem der vier Winter, und zwar bei mehrmaliger Anwendung, zu einer signifikant geringeren Verlustrate. In Wintern mit sehr hohen Verlusten haben sich biotechnische Methoden (Bann- oder Fangwaben oder die komplette Entnahme verdeckelter Arbeiterinnenbrut, etc.) als besonders wirksam erwiesen, Verluste zu reduzieren und können daher empfohlen werden. Diese Maßnahmen gehen allerdings auch mit einem gesteigerten Arbeitsaufwand einher.

Weiterhin nicht vollständig geklärt bleibt die Frage, warum in manchen Jahren sehr viele und in anderen Jahren sehr wenige Bienenvölker den Winter nicht überleben. In Ansätzen scheint das Wetter für diesen Effekt verantwortlich zu sein (siehe nächsten Abschnitt; Switanek et al., 2017). Das könnte auch erklären, warum manche in dieser Risikoanalyse untersuchten Faktoren kein einheitliches Bild liefern, manche Faktoren nur in bestimmten Jahren zutreffen. Die Belastung der Bienenvölker variiert von Jahr zu Jahr, und in manchen Jahren ist es schwieriger, die Völker erfolgreich zu überwintern als in anderen Jahren. Gerade aus Wintern mit hohen Verlustraten können wir also wissenschaftlich belegte Empfehlungen über Anpassungen der Betriebsweise (inklusive Varroabekämpfungsstrategie) ablesen, wohingegen uns ein Winter mit geringen Verlusten wenig Gelegenheit bietet, die Spreu vom Weizen der Betriebsweisen zu trennen. Ein weiteres Argument bei der Interpretation stark schwankender Verlustraten ist der mögliche Einfluss von Mehrjahresdynamiken. Im Versuch, die Populationsdynamik der Bienenvölker mit Aufbau über den Sommer und teilweisem Absterben über den Winter abzubilden, liefert unsere Untersuchung auch Kennzahlen zur Nachschaffung von Bienenvölkern. Ausgelöst durch hohe Verluste, wie etwa 28,4% im Winter 2014/15, muss im darauffolgenden Sommer eine Nachschaffung von etwa 40% geleistet werden, um die leeren Beuten wieder aufzufüllen. Das bedeutet, dass durch Ablegerbildung und Zucht aus zehn Bienenvölkern am Ende der Saison 14 Bienenvölker gemacht werden müssen. Diese Nachschaffung geht mit einer Verjüngung der Königinnenpopulation, zwangsläufigen Brutpausen im Sommer durch Ablegerbildung und Erneuerung großer Teile des Wabenbaus und Materials einher, was sich positiv auf die nächste Überwinterung auswirken kann. Nach einem Winter mit geringen Verlusten ist die notwendige Nachschaffung (wieder unter der Annahme, die Population stabil zu halten) entsprechend geringer, was sich in weiterer Folge ebenfalls auswirken kann. Der Nachschaffung von Bienenvölkern, ihrer biologischen Bedeutung und ökonomischen Kosten, sollten auch aus diesem Grund weitere Beachtung geschenkt werden.

Um negative Einflüsse auf die sowohl ökologisch als auch ökonomisch bedeutsame Honigbiene zu reduzieren und sie dadurch als wichtigen Bestäuber von Kultur- und Wildpflanzen zu erhalten, ist es wichtig das Bienenmonitoring fortzusetzen und gezielte Ursachenforschung zu betreiben, insbesondere um hohe Winterverluste, wie jene des Winters 2014/15, zukünftig vermeiden zu können. Dies erfordert neben Probenahmen an gesunden und abgestorbenen Völkern, wie im Modul „Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten“ des Projekts „Zukunft Biene“ praktiziert, auch das weitere Sammeln von Daten zum Überwinterungserfolg. Dies würde die Durchführung noch detaillierterer epidemiologischer Untersuchungen ermöglichen und Hotspots für weitere Untersuchungen könnten identifiziert werden (van der Zee et al., 2015) und damit die Bienengesundheit verbessert werden (Lee et al., 2015b). Die im Rahmen dieses Moduls erhaltenen Daten stellen auch die Basis für weitere epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit dar, die in den nächsten beiden Abschnitten „Witterung und Wintersterblichkeit“ und „Landnutzung und Wintersterblichkeit“ abgehandelt werden.

(2) Epidemiologische Untersuchungen zur Wintersterblichkeit

(2a) Witterung und Winterverluste

2a.1 Einleitung

Seit Jahren beobachten und dokumentieren Wissenschaftler in den USA und Europa erhöhte Wintermortalitäten von Bienenvölkern (van der Zee et al., 2012; Steinhauer et al., 2014). Auch in Österreich liegen die jährlichen Verlustraten über den von Imkereien als „normal“ eingestuften Werten. Einzelne Betriebe, aber auch ganze Regionen, verzeichnen dramatischere Verluste. So waren im Winter 2011/12 vor allem Vorarlberg, einzelne Bezirke im Süden Österreichs und der Nordosten Österreichs betroffen (Brodschneider & Crailsheim, 2013). Diese Regionen mit hohen Verlustraten sind über die Jahre nicht stabil, sondern wechseln stark. So sind zum Beispiel die im Winter 2011/12 stark betroffenen Regionen im Folgewinter zum Teil verschont geblieben, dafür verzeichneten andere Regionen in diesem Winter hohe Verluste. Auch die über ganz Österreich erhobene Verlustrate unterliegt starken jährlichen Schwankungen (siehe Abbildung 1.5), ohne dass bisher die letztendlich dafür verantwortlichen Ursachen gefunden wurden. Nicht nur die in den letzten Jahren heftig diskutierten Pflanzenschutzmittel aus der Gruppe der Neonicotinoide sondern auch verschiedene Krankheiten und Parasiten, mangelhafte Varroabekämpfung sowie Mangelernährung der Bienen infolge von Monokulturen stellen mögliche Faktoren dar, die die Wintermortalität von Bienenvölkern beeinflussen können (Genersch et al., 2010; Budge et al., 2015a, 2015b; Goulson et al., 2015; Lee et al., 2015a; Woodcock et al., 2017).

Einer der augenscheinlichsten Einflüsse auf die erfolgreiche Überwinterung von Bienenvölkern, die Witterung, wurde aufgrund des Fehlens notwendiger Daten zum Überwinterungserfolg bisher nicht untersucht. Das ist umso erstaunlicher, da der unmittelbare Einfluss des Wetters auf den Ausflug aber auch das Verhalten im Stock in beobachtenden oder experimentellen Untersuchungen einzelner Völker gut belegt ist (Szabo, 1980; Riessberger & Crailsheim, 1997; Puškadija et al., 2007; He et al., 2016). Ebenso konnte gezeigt werden, dass in Honigbienenvölkern sowohl die Verbreitung des Flügeldeformationsvirus (DWV) als auch die Höhe der Infektionsrate von der Wechselwirkung zwischen den klimatischen Bedingungen und der parasitischen Varroamilbe beeinflusst wird (Anguiano-Baez et al., 2016).

Im Gegensatz dazu stehen uns von meteorologischer Seite seit Jahrzehnten detaillierte Aufzeichnungen zur Verfügung. Dies ermöglicht uns nun, ausgehend von den in Modul (1) gewonnenen epidemiologischen Daten zum Wintersterben von Bienenvölkern, zu untersuchen, ob die Witterung die Wintermortalität beeinflusst und wenn ja, welchen Einfluss die Witterung auf den Überwinterungserfolg hat.

Der Alpenraum zählt hinsichtlich seiner meteorologischen Verhältnisse zu den am besten beobachteten Regionen der Erde. Durch den allgemeinen Fortschritt in Wissenschaft und Technik konnten im Laufe der Zeit beständig neue Beobachtungstechniken und Analysemethoden eingesetzt werden, um die Prozesse des Klimasystems und das diesem System zugrundeliegende Wettergeschehen im Alpenraum zu verstehen. Seit Mitte der 1990er Jahre wird von der Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (ZAMG) in Österreich ein Stationsnetzwerk von etwa 200 teilautomatischen Wetterstationen (TAWES) betrieben, das in zeitlich hoher Auflösung Wetterdaten liefert (Haiden et al., 2011). Nach erfolgter Qualitätskontrolle werden diese Daten einerseits in einer Datenbank gespeichert, andererseits zur Wettervorhersage verwendet. Seit 2004 betreibt

die ZAMG auch ein System zur kurzfristigen Wettervorhersage namens „Integrated Nowcasting through Comprehensive Analysis“ (INCA) (Haiden et al., 2011). INCA verschneidet dabei Wetterdaten der TAWES Stationen, der Stationen der angrenzenden Nachbarländer, mit Radardaten der Österreichischen Flugsicherung und Luftfahrtbehörde (Austro Control), und Daten des Wettervorhersagemodells des Europäischen Zentrums für Mittelfristige Wettervorhersage (EZMW). Es generiert meteorologische 2D Felder von meteorologischen Größen wie etwa Temperatur, Niederschlag, relative Luftfeuchtigkeit, Globalstrahlung, etc. in hoher räumlicher (1 km-Raster) und zeitlicher (1 h-Intervall) Auflösung für Österreich. Diese Daten werden nicht nur in der Wettervorhersage sondern auch in der Klimaforschung seit Jahren erfolgreich eingesetzt. Beispielsweise nutzt die Forschungsgruppe Regionale und Lokale Klimamodellierung und -analyse (ReLoClim) des Wegener Centers für Klima und globalen Wandel der Universität Graz diese Daten zur Evaluation von hochaufgelösten Klimasimulationen und trägt damit zur Verbesserung von Klimamodellen bei (zum Beispiel Awan et al., 2011; Prein et al., 2013; Suklitsch et al., 2009).

2a.2 Material und Methode

Ziel dieses Moduls ist die Verwendung meteorologischer Daten, um statistisch abgesicherte Einflüsse von Witterungsverhältnissen auf die Wintermortalität zu untersuchen. Dafür werden die vorliegenden Mortalitätsraten von Bienenvölkern verwendet, hier definiert als die Verlustrate für jede Imkerei (Zahl im Winter verlorener Völker / Zahl eingewinterter Völker). Die Standorte der

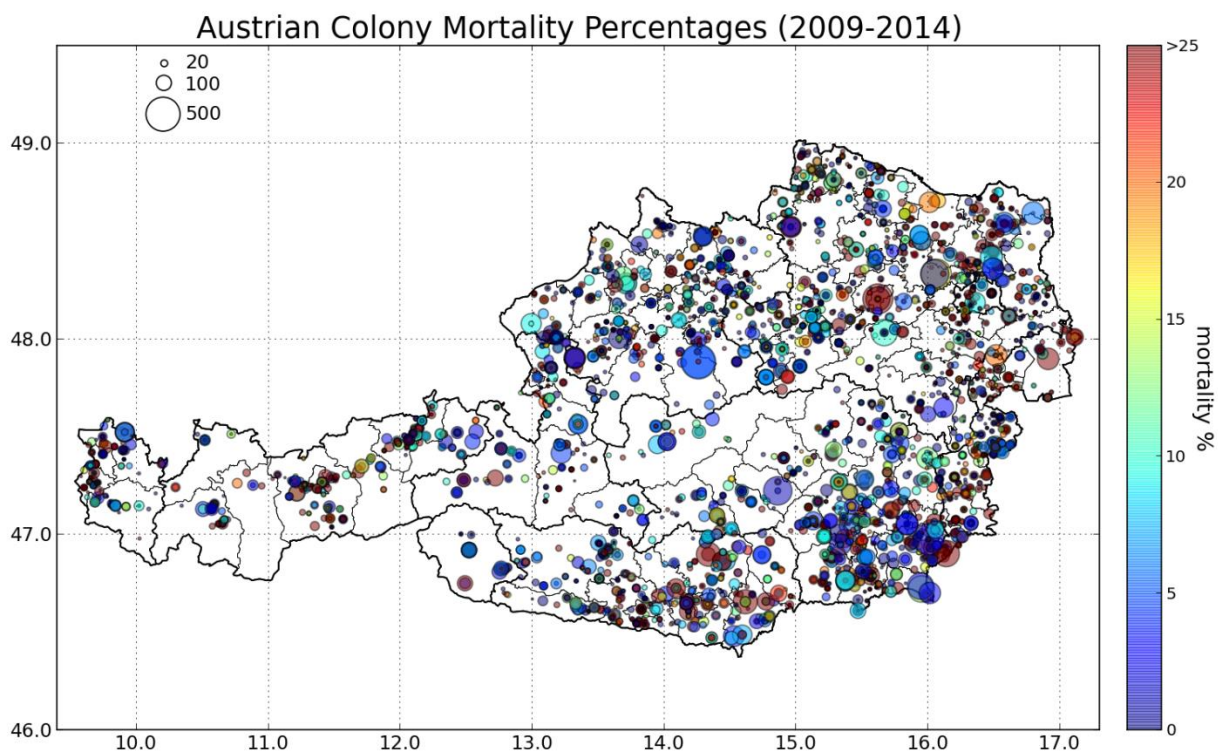


Abbildung 2.1: Zahl der eingewinternten Bienenvölker und Winterverluste in Österreich, 2009-2014. Die Größe der Datenpunkte korrespondiert dabei mit der Zahl der eingewinternten Völker, Referenzgrößen für Imkereien mit 20, 100 und 500 eingewinternten Völkern sind links oben angegeben. Die Farbe jedes Kreises spiegelt die Höhe der Winterverluste wider, die Farbskala auf der rechten Seite zeigt den genauen Verlauf der Mortalität in Prozent. Das gesamte Datenset besteht aus 106.675 Bienenvölkern die von 4983 Imkereien eingewintert wurden. X-Achse, Y-Achse: GPS-Koordinaten.

Bienenvölker aus den Untersuchungen der Winterverluste sind mittels GPS georeferenziert. In Abbildung 2.1 sind die Koordinaten und Mortalitätsraten (in Prozent, d.h. Verlustrate x 100) aller teilnehmenden Imkereien für den Zeitraum 2009–2014 dargestellt. Die Größe der Datenpunkte korrespondiert dabei mit der Zahl der eingewinterten Völker und reicht von 1 bis 520, Referenzgrößen für Imkereien mit 20, 100 und 500 eingewinterten Völkern sind links oben angegeben. Die Farbe jedes Kreises spiegelt die Höhe der Winterverluste wider, wobei wärmere Farben (Rottöne) hohe Verluste, und kältere Farben (Blautöne) geringere Verluste darstellen. Eine Farbskala auf der rechten Seite zeigt den genauen Verlauf. Das gesamte Datenset besteht aus 106.675 Bienenvölkern, die von 4983 Imkereien eingewintert wurden. Imkereien, die in mehreren Jahren teilgenommen haben, werden für jedes Jahr separat gezählt. Die durchschnittliche Mortalität über dieses gesamte Datenset beträgt 17,7%.

In unserer Untersuchung verwenden wir das bereits erwähnte INCA Datenset der ZAMG. Dieses Datenset steht uns beginnend mit dem Jahr 2004 zur Verfügung und beinhaltet meteorologische Variablen in einer räumlichen Auflösung von 1x1 km und einer zeitlichen Auflösung von 1 Stunde (Temperatur, Globalstrahlung, Windgeschwindigkeit) bzw. von 15 Minuten (Niederschlag). Für unsere Untersuchung haben wir die Daten durch Interpolation in ein 5x5 km Gitter (räumliche Auflösung) und auf eine zeitliche Auflösung von 24 Stunden umgerechnet. Dadurch konnten wir eventuelle Inkonsistenzen in den Klimadaten glätten, und Messfehler reduzieren. Zusätzlich wurde die zeitliche Auflösung von 24 Stunden auch auf einen Monat gerechnet. Tabelle 2.1 zeigt einen Überblick über die von uns verwendeten Parameter. Ein Beispiel für das so generierte Datengitter zeigt Abbildung 2.2, in der die Niederschlagsmenge für den Monat April 2013 dargestellt ist. Durch diese Datenverarbeitung kann nun der Einfluss sowohl kurzfristiger als auch langfristiger meteorologischer Ereignisse auf die Wintersterblichkeit von Bienenvölkern untersucht werden. Außerdem wurde ein Gewichtungsalgorithmus (inverse distance weighting algorithm) verwendet, um die meteorologischen Daten an den jeweiligen Standorten der Imkereien zu berechnen. Dabei wurden jeweils nur die Wetterdaten des Vorjahres und des jeweiligen Winters zur statistischen Modellierung verwendet. So wurden zum Beispiel für die Überwinterung 2014 die Wetterdaten zwischen März 2013 und Februar 2014 verwendet.

Tabelle 2.1: Aus dem INCA Datenset gewonnene Klimadaten, die in das 5x5 km-Gitter und auf tägliche und monatliche zeitliche Auflösung gerechnet wurden.

Aus dem INCA Datenset gewonnene Klimadaten
Niederschlag (Summenmenge)
Temperatur (Mittelwert, Minimum, Maximum)
Globalstrahlung (Mittelwert, Maximum)
Zonaler (breitengradparalleler) Wind (Mittelwert, Maximum)
Meridionaler (längengradparalleler) Wind (Mittelwert, Maximum)

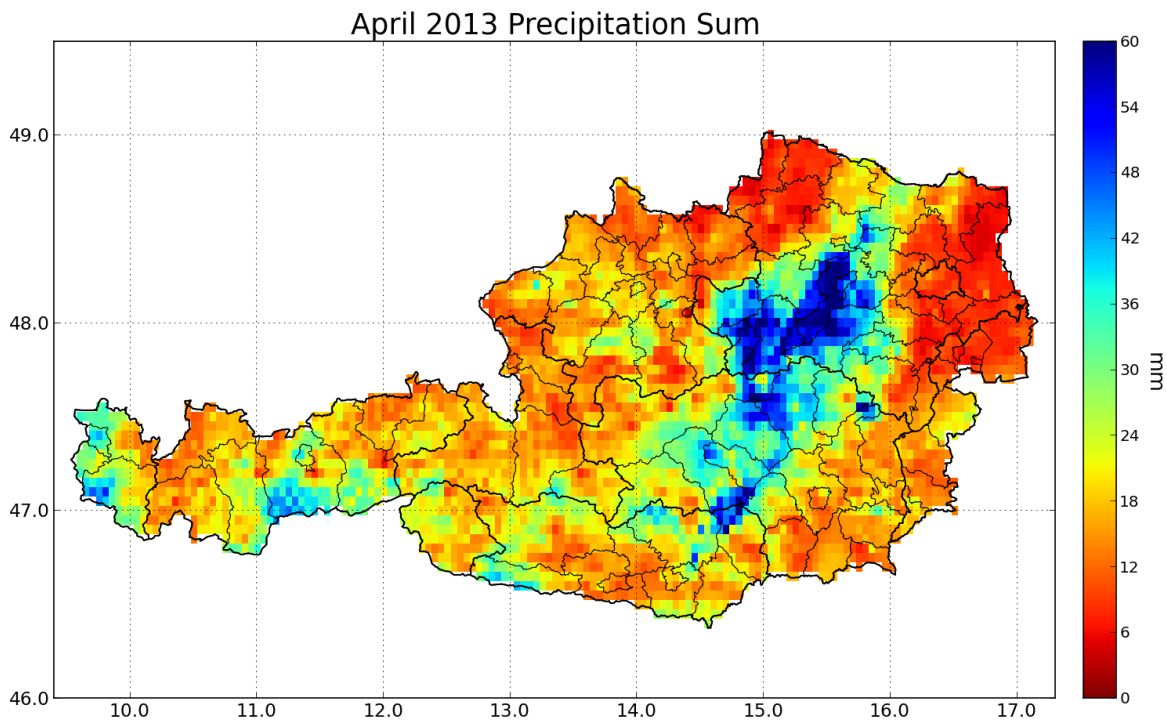


Abbildung 2.2: Ein Beispiel für die Auflösung des von uns verwendeten Datengitters: Niederschlagsmenge im April 2013.

2a.3 Ergebnisse und Diskussion

Anhand des beschriebenen Modells konnten wir den statistisch signifikanten Einfluss der Witterung auf das Überleben von Bienenvölkern erstmals nachweisen. Als ein Beispiel der Auswertung zeigt Abbildung 2.3 die Wintersterblichkeit (in Prozent) gegenüber der mittleren Maximaltemperatur für den Monat September. Die beiden großen, grauen Kreise sind die gewichteten Mittelwerte beider Achsen, nachdem der komplette Datensatz in zwei Hälften, eine untere und eine obere geteilt wurde. Wobei die untere Hälfte eine mittlere maximale Temperatur von 23,9°C (und Winterverluste von 14,9%) aufweist, und die obere Hälfte eine mittlere maximale Temperatur von 28,9°C (und Winterverluste von 20,2%). Der Unterschied zwischen den beiden Sterblichkeitsraten beträgt in diesem Beispiel 5,3% (Differenz 20,2%-14,9%). Mit Hilfe dieser Teilung des kompletten Datensatzes lassen sich die für uns relevanten meteorologischen Variablen erkennen, nämlich jene, die zwischen der unteren und der oberen Hälfte der Daten den höchsten absoluten Unterschied in den Sterblichkeitsraten aufweisen. Um diese Variablen zu finden, haben wir unterschiedliche statistische Modelle gerechnet: Lineare Modelle (LMs), Generalisierte Lineare Modelle (GLMs), Decision Trees, Support Vector Machine Models (SVMs) und die Nächste-Nachbarn-Klassifikation (Nearest Neighbors Models).

Die besten Resultate lieferte das sogenannte Nearest Neighbors Modell. Mit diesem Modell können meteorologische und klimatische Bedingungen modelliert werden und die Wintersterblichkeit von Bienenvölkern in Abhängigkeit von Zeit und Raum geschätzt werden. Diese Schätzung wird mathematisch jeweils mit einer durchschnittlichen Mortalität (Benchmark) verglichen. Unser optimiertes Nearest Neighbors Modell reduziert die Wurzel aus dem mittleren quadratischen Fehler (root mean square error, RMSE) um 10% und den mittleren absoluten Fehler (mean absolute

error, MAE) um 7%. Diese Modellverbesserungen basieren auf einer statistischen Sicherheit von 99,9%. RMSE und MAE zeigen, wie stark ein Schätzer von dem zu schätzenden Wert abweicht und erlauben es, Modelle miteinander zu vergleichen, wobei Modelle mit kleineren RMSEs und MAEs in der Regel als die besseren gelten. Das heißt, wir haben hiermit das am besten geeignete Modell gefunden, um die Wintersterblichkeit von Bienenvölkern mit meteorologischen und klimatischen Bedingungen in Beziehung setzen zu können.

Wir können also nachweisen, dass zumindest ein Teil der Winterverluste in einem statistisch belegbaren Zusammenhang mit der Witterung in der Saison vor und während der Überwinterung steht (siehe Abbildung 2.3). Gerade in einem Land wie Österreich, das intensiv landwirtschaftlich genutzte Tieflagen und weniger intensiv genutzte, zum Beispiel alpine Regionen, vereint, sei auch noch auf eine mögliche Korrelation mehrerer Faktoren, wie zum Beispiel Wetter und Landnutzung, hingewiesen. Mehr dazu findet sich im vorigen Teilabschnitt (unter 1.4.6.5 Seehöhe) sowie im nächsten Teilabschnitt dieses Zwischenberichts (Landnutzung und Winterverluste). Außerdem sei noch auf die derzeitige Limitierung unserer Völkerverlustdaten auf wenige Winter hingewiesen. Hier möchten wir davor warnen, kurzfristige Prognosen anhand einzelner Beobachtungen der Witterung vorzunehmen, da es neben den in der Einleitung erwähnten Faktoren auch noch Langzeiteffekte geben könnte, die die Höhe der Winterverluste beeinflussen. Hierzu müssten bestimmte Effekte über viele Jahre hindurch beobachtet werden, um herauszufinden ob etwa die Effekte nach einem Jahr mit hohen Verlusten ähnlich ausfallen, wie nach einem Jahr mit geringen Verlusten. Diese Studie, die im Rahmen des Projekts „Zukunft Biene“ durchgeführt wurde, wurde in englischer Sprache im wissenschaftlichen Journal „Science of the Total Environment“ (Switanek et al., 2017) publiziert.

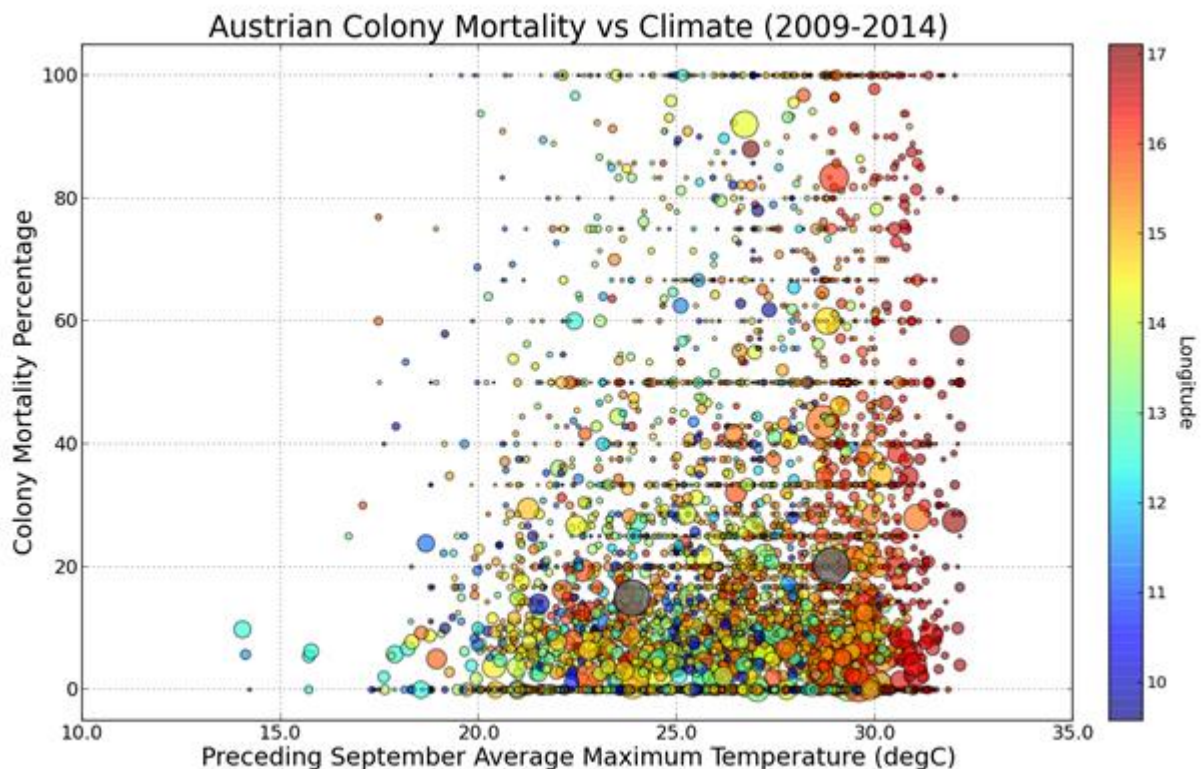


Abbildung 2.3: Mittlere Maximaltemperatur für den Monat September (X-Achse) und Mortalitätsrate im darauffolgenden Winter (in Prozent, Y-Achse). Die Größe der Datenpunkte korrespondiert mit der Zahl der eingewinterten Völker, Referenzgrößen sind ident mit Abbildung 2.1. Die Farbskala rechts zeigt die

geographische Länge, Kreise in warmen Farben (Rottöne) befinden sich im Osten Österreichs. Die beiden großen, grauen Kreise sind die gewichteten Mittelwerte beider Achsen, nachdem der komplette Datensatz in zwei Hälften, eine untere und eine obere geteilt wurde, wobei die untere eine mittlere maximale Temperatur von 23,9°C (und Winterverluste von 14,9%) aufweist, und die obere Hälfte eine mittlere maximale Temperatur von 28,9°C (und Winterverluste von 20,2%).

(2b) Landnutzung und Winterverluste

2b.1 Einleitung

Ziel des Moduls ist die Klärung der Frage, ob ein Zusammenhang zwischen der Wintersterblichkeit der Bienen und der Art der Landnutzung in der unmittelbaren Umgebung der jeweiligen Bienenstände besteht. In den jährlichen Untersuchungen der Winterverluste von Bienenvölkern gab es immer wieder Hinweise auf gehäuftes Auftreten hoher Verluste in der Nähe landwirtschaftlich intensiv genutzter Bereiche (Brodschneider & Crailsheim, 2013; van der Zee et al., 2014). Gründe dafür könnten sowohl die Exposition gegenüber Pestiziden (Greatti et al., 2006; Pistorius et al., 2009; Krupke et al., 2012; Goulson, 2013; Rundlöf et al., 2015; Budge et al., 2015) oder mangelnde Nahrungsversorgung (Höcherl et al., 2012; Donkersley et al., 2014) als auch das Zusammenspiel mehrerer Faktoren (Simon-Delso et al., 2014) sein. Für diese Untersuchung werden erstmals österreichweit Daten bezüglich der Winterverluste und der Art der Landnutzung aus unterschiedlichen Datenquellen zusammengetragen und miteinander verschnitten. Mit Hilfe statistischer Regressionsmodelle wird der Zusammenhang zwischen Winterverlusten und Art der Landnutzung unter Berücksichtigung weiterer möglicher Einflussgrößen wie Betriebs- und Managementfaktoren sowie zeitlicher Effekte untersucht.

2b.2 Material und Methode

Grundlage für die Analyse des Zusammenhangs von Landnutzung und Wintersterblichkeit bilden die in Modul 1 gewonnenen epidemiologischen Daten zum Wintersterben von Bienenvölkern, die in Modul 2a aufbereiteten Informationen zu den Wetterbedingungen sowie Informationen über die Landnutzung in Österreich. Die Art der Landnutzung in Österreich steht dabei im Fokus der Analyse, Wetterfaktoren sowie weitere erhobene Einflussfaktoren zu den Bienenvölkern werden als mögliche Störfaktoren berücksichtigt.

Die unterschiedlichen Datenquellen wurden über die Gemeindekennzahl miteinander verknüpft. Dafür wurde jeder Eintrag der Winterverlustdaten, ausgehend von den Bezirks- und Postleitzahlinformationen einer Gemeinde zugeordnet. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse über den betrachteten Zeitraum wurde gewährleistet, indem für alle Datensätze (auch für Daten vor und nach 2013) der Gebietsstand (Gemeindegrenzen) zum Zeitpunkt 2013 verwendet wurde.

Um dem Einfluss der heterogenen Verteilung der Gemeindegrößen in Österreich entgegenzuwirken, wurden die einzelnen Gemeinden für die Analyse in einem weiteren Schritt zu größeren Einheiten („Regionen“) zusammengefasst. Ausgangspunkt der Gemeindezusammenfassungen waren die wichtigsten ZAMG-Messstationen, also die Standorte jener Beobachtungs- und Messeinheiten, deren Daten im ZAMG-Jahrbuch kostenfrei zur Verfügung gestellt werden (ZAMG, 2016). Jede Gemeinde wurde dabei derjenigen Messstation zugewiesen, die die geringste Entfernung zum Gemeindezentroid aufweist. Gemeinden mit derselben zugewiesenen Wetterstation wurden zu einer Region zusammengefasst. Auf diesem Weg wurden die 2354 Gemeinden (Gebietsstand 2013) zu 263 Regionen für die weitere Analyse zusammengefasst.

Die Winterverluste je Gemeinde wurden in weiterer Folge auf Regionenebene aggregiert. Abbildung 2.4 zeigt die Entwicklung des Anteils der verlorenen Bienenvölker je Region über die

Jahre 2010–2015, wobei grau hinterlegte Flächen jene Regionen ausweisen, für die im entsprechenden Jahr keine Beobachtungen zu Winterverlusten vorlagen.

Die für die Analyse herangezogenen Informationen zur Landnutzung in Österreich stammen aus drei Datenquellen: der INVEKOS-Datenbank (BMLFUW, 2017), CORINE-Landnutzungsdaten sowie Daten des österreichischen Bundesforschungszentrums für Wald (BFW). Der INVEKOS (Integriertes Verwaltungs- und Kontrollsystem)-Datenpool des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft (BMLFUW) beinhaltet für jedes Jahr detaillierte Daten zu Land- und Schlagnutzungsarten. In diese Datenbank werden jährlich alle angebauten Feldfrüchte sowie Grünland aufgenommen. Kleinräumige Flächen (z.B. Felder) werden dabei jeweils einer von etwa 300 Kategorien bezüglich der Landnutzung zugeordnet. Für das Projekt stehen Daten der Jahre 2007–2015 zur Verfügung. Im Zuge der Datenaufbereitung wurde für jedes Jahr und für jede Region die Summe der angebauten Fläche je Landnutzungskategorie berechnet. Bei dem Vergleich der INVEKOS-Daten aller Jahre fiel auf, dass die Almfutterflächen 2015 deutlich von denen der Jahre zuvor abwichen. Vermutet wird hier eine Umstellung bei der Datenerfassung oder -auspielung. Da bis zum Zeitpunkt der Berichterstellung nicht geklärt werden konnte, ob dieser deutliche Anstieg der Almfutterflächen tatsächlich der Realität entspricht, wurden für die INVEKOS-Kategorie Almfutterflächen die Angaben aus dem Jahr 2014 auch für 2015 herangezogen.

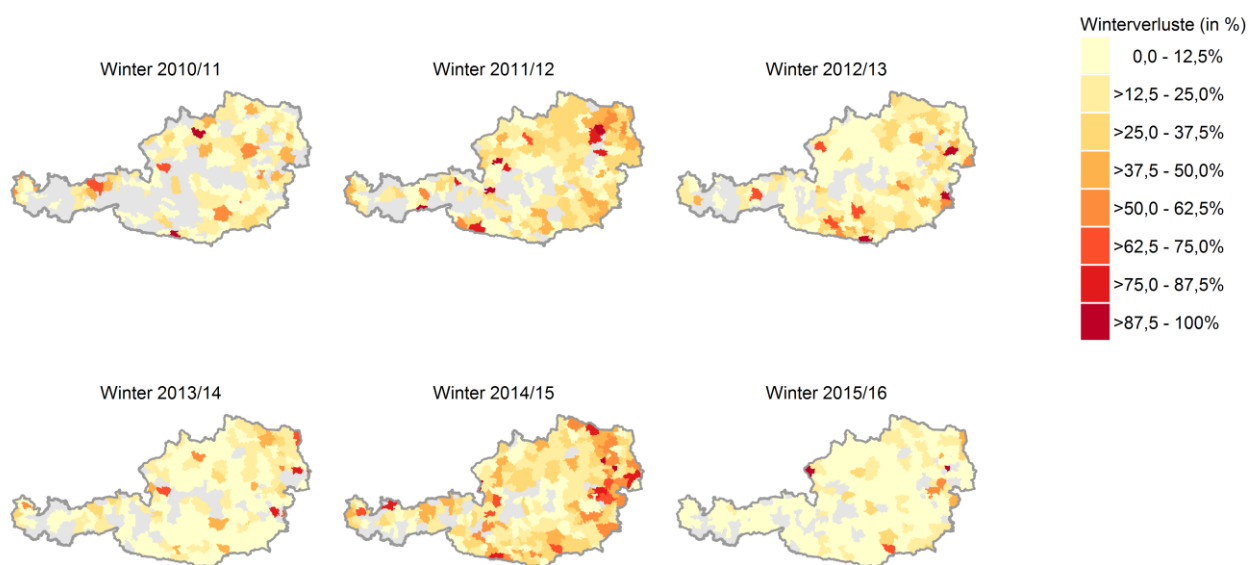


Abbildung 2.4: Aggregierte COLOSS-Winterverlustraten auf Regionsebene für die Winter 2010/11–2015/16.

Neben den INVEKOS-Daten stehen Landnutzungsdaten des CORINE (Coordination of Information on the Environment) Land Cover-Programms der EU-Kommission zur Verfügung (EEA, 1995). Die CORINE-Daten werden etwa alle sechs Jahre aktualisiert (in der aktuellen Erfassung stehen Daten des Referenzjahres 2012 zur Verfügung) und beinhalten eine kleinräumige Einteilung in 47 Landnutzungskategorien, wobei neben Kulturlächen auch bebaute Flächen, Wälder, Feucht- und Wasserflächen ausgewiesen werden. Für die statistische Auswertung wurde der Datensatz ebenfalls auf Regionsebene aggregiert aufbereitet.

Vom Bundesforschungszentrum für Wald (BFW) stehen des Weiteren Daten der Waldflächen Österreichs basierend auf Satelliten-Aufnahmen der Jahre 2000–2003 zur Verfügung (BFW, 2016). Waldflächen werden darin in die Kategorien „Laubwald“, „Mischwald laubdominiert“, „Mischwald nadeldominiert“, „Nadelwald“ und „Schläge“ unterteilt. Die Walddaten wurden im Zuge der Datenaufbereitung ebenfalls auf Ebene der gebildeten Regionen aggregiert ausgewertet.

Die resultierenden 247 relevanten Landnutzungskategorien wurden thematisch zusammengefasst, sodass 22 Oberkategorien zur weiteren Betrachtung zur Verfügung stehen. Die gewählten Kategorien sind in Abbildung 2.5 in Form eines Balkendiagrammes dargestellt, wobei die Länge der Balken die Summe der in Österreich entsprechend bepflanzten Fläche widerspiegelt, die der jeweiligen Kategorie zugeordnet wurde. Die Farbe der Balken gibt die Datenquelle der jeweiligen Landnutzungskategorie an. Dabei fällt vor allem die Kategorie „Sonstige“ der CORINE-Datenbank auf, die vom Flächenanteil her die drittgrößte Landnutzungskategorie ist und sich aus unklassifizierten sowie naturnahen Flächen zusammensetzt (Kraut-/Strauchvegetation, offene Flächen ohne bzw. mit geringer Vegetation).

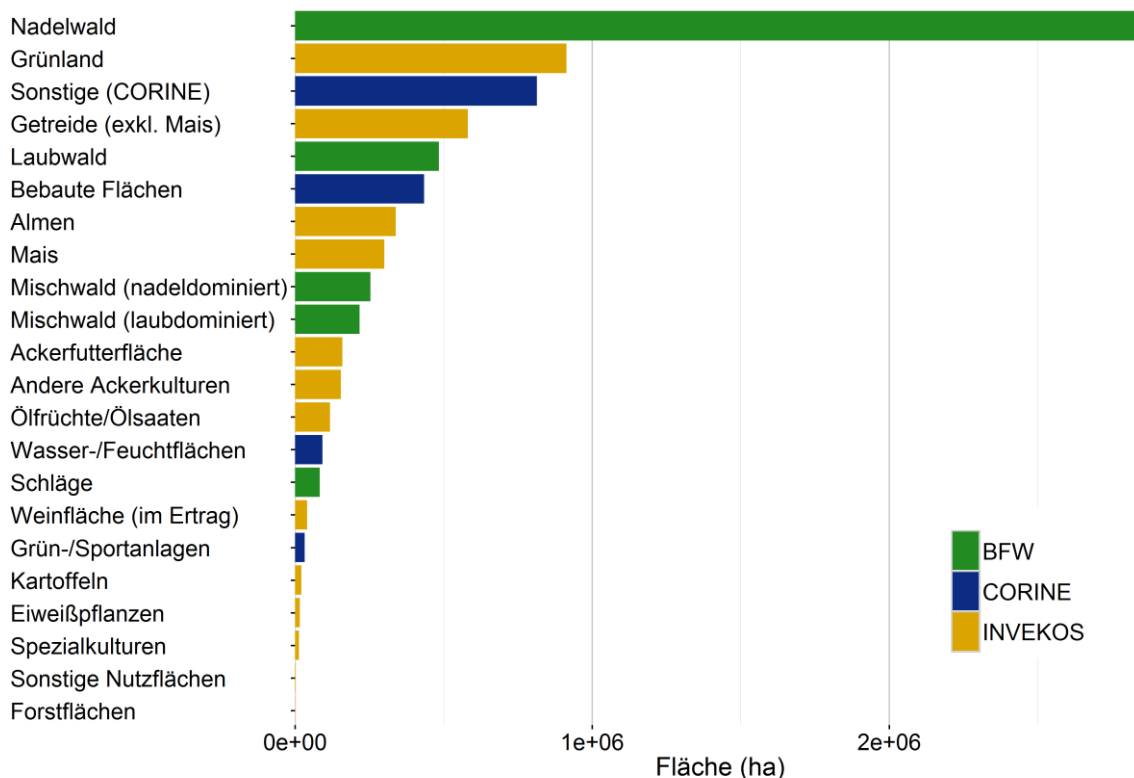


Abbildung 2.5: Summe der in Österreich angebaute Flächen, die (für das Jahr 2014) auf die jeweilige Landnutzungskategorie entfallen.

Zusätzlich zur Landnutzung wurden relevante Wetterparameter als mögliche Störgrößen in die Modelle mit aufgenommen (siehe zur Auswahl der Faktoren auch Modul 2a). Damit soll verhindert werden, dass Effekte, die auf das Wetter zurückzuführen sind, fälschlicherweise der Landnutzungsart zugeschrieben werden. Herangezogen wurden dafür – basierend auf Ergebnissen des Moduls 2a – die Monatsdurchschnittstemperatur im September und Februar des betrachteten Winters sowie die Monatssumme des Niederschlags dieser Monate. Die Daten liegen, wie in Modul 2a beschrieben, flächendeckend auf einem regelmäßigen 5x5 km-Raster vor.

Anhand eines statistischen Modells soll der Einfluss von Landnutzung auf die Wintersterblichkeit der Bienenvölker basierend auf den zusammengeführten Daten analysiert werden. Da naturgemäß innerhalb einer Region Abhängigkeiten zwischen den Landnutzungsarten bestehen (je größer der Anteil einer Landnutzungskategorie wird, desto geringer wird zwangsläufig der Anteil der anderen Kategorien), diese aber bei der statistischen Modellierung zu verzerrten Ergebnissen führen können, wurde eine Dimensionsreduktion durchgeführt. Mithilfe einer hierarchischen Clusteranalyse wurden Regionen, die einander hinsichtlich der Landnutzungsarten ähneln, in Cluster zusammengefasst. Als Ähnlichkeitsmaß wurde die korrelationsbasierte Distanzmatrix, wie in James et al. (2013) beschrieben, herangezogen. Demnach werden zwei Regionen als ähnlich angesehen, falls die Zusammensetzung der Landnutzungsarten Gemeinsamkeiten aufweist.

Bei einer hierarchischen Clusteranalyse wird zu Beginn jede Region als eigener Cluster definiert. Iterativ werden jeweils die zwei ähnlichsten Cluster solange zusammengefasst, bis alle Beobachtungen in einem Cluster liegen (James et al., 2013). Auf Basis der so gewonnenen hierarchischen Struktur wurden die sechs größten Cluster identifiziert und (anstelle der ursprünglichen Landnutzungskategorien) für die weiteren statistischen Analysen herangezogen. Die Anzahl der Cluster wurde einerseits hinsichtlich der Interpretierbarkeit und andererseits hinsichtlich der Identifizierbarkeit im Rahmen des statistischen Modells festgelegt.

Für die Analyse, ob sich die Winterverlustwahrscheinlichkeiten von Bienenvölkern zwischen den Landnutzungsclustern statistisch signifikant voneinander unterscheiden, wurden Generalisierte Gemischte Modelle (GLMM) angepasst. Modelliert wurde die Wahrscheinlichkeit für den Winterverlust eines Bienenvolkes, wobei die Winterverluste als binäre Zielvariable berücksichtigt wurden. Daher wurde allen Modellen die Binomialverteilung und eine Logit-Linkfunktion zugrunde gelegt. Es wurden einerseits Modelle für die einzelnen Jahre getrennt berechnet, andererseits wurde ein Modell für den gesamten Zeitraum 2010–2015 angepasst. Dabei wurden folgende Parameter als mögliche Einflussfaktoren berücksichtigt:

- Landnutzungscluster, dem die Region des Bienenstandorts zugeordnet wurde,
- Monatsdurchschnittswerte der Temperatur für September und Februar des entsprechenden Winters,
- Monatssummen des Niederschlags für September und Februar des entsprechenden Winters,
- Seehöhe des Zentroids der Region (in km),
- Größe der Gemeinde, in der das Bienenvolk gemeldet wurde,
- Anzahl der eingewinterten Völker des Bienenstands sowie
- die Frage, ob Wanderimkerei betrieben wurde (Ja/Nein).

Die Information, ob Bienenvölker transportiert wurden und somit Wanderimkerei vorliegt, wurde erst ab dem Winter 2011/12 erhoben. Informationen über Temperatur und Niederschlag im Winter 2014/15 und im Winter 2015/16 lagen zum Zeitpunkt der Erstellung des Endberichtes nicht vor und wurden daher im Modell für 2014/15, 2015/16 und im Gesamtmodell nicht berücksichtigt. In allen anderen Modellen wurden die Niederschlags- und Temperaturwerte zentriert und skaliert, sodass sie einen Mittelwert von 0 und eine Standardabweichung von 1 aufweisen. Um zu überprüfen, ob die Größe der Gemeinde einen Einfluss auf die Winterverluste haben könnte, wurde die Gemeindegroße ebenfalls in den Modellen berücksichtigt. Die Gemeindegroße wurde entsprechend den Quantilen aller Gemeindeflächen in die folgenden vier Kategorien eingeteilt:

- sehr klein, falls Gesamtfläche der Gemeinde $\leq 1620ha$,
- klein, falls Gesamtfläche der Gemeinde $\in (1620ha, 2800ha]$,

- mittel, falls Gesamtfläche der Gemeinde $\in (2800ha, 4700ha]$,
- groß, falls Gesamtfläche der Gemeinde $> 4700ha$.

Die Anzahl der eingewinterten Völker wurde herangezogen, um einen Eindruck über die Größe der Imkerei selbst zu erhalten. Diese Variable wurde ebenfalls vor der Modellierung zentriert und skaliert.

Die Seehöhe wurde ebenfalls in Kilometer berücksichtigt (Meter/1000) um eine vergleichbare Skala zu erhalten.

Jede Meldung von Winterverlusten in der COLOSS-Datenbank erhielt unabhängig von der Gemeindegliederung eine interne Betriebsidentifikationsnummer. Diese kann innerhalb des Datensatzes eines bestimmten Jahres herangezogen werden, um einzelne Bienenvölker einem Betrieb zuzuordnen. Aufgrund der Anonymität der Meldungen ist eine Betriebszuordnung über mehrere Jahre hinweg jedoch nicht durchführbar. Meldet ein Betrieb etwa über mehrere Jahre seine Winterverluste, so ist mit den vorliegenden Daten nicht feststellbar, ob die Beobachtungen vom selben Betrieb stammen. Bei mehrjähriger Betrachtung ist demnach kein Rückschluss darüber möglich, welche Bienenvölker ein und demselben Betrieb zuzuordnen sind. Die Betriebsidentifikation wird jedoch bei den einjährigen Modellen als zufälliger Effekt (random effect) berücksichtigt. Mit diesem Effekt werden betriebsspezifische Schwankungen abgefangen und es wird der Annahme Rechnung getragen, dass Bienenvölker aus demselben Betrieb aufgrund der vorherrschenden Managementbedingungen im Allgemeinen ähnlichere Ergebnisse erzielen als Völker aus unterschiedlichen Betrieben.

Obwohl die Betriebsidentifikation über mehrere Jahre hinweg nicht gewährleistet ist, wurde auch im Gesamtmodell eine ID für jede Meldung vergeben und als zufälliger Effekt im Modell berücksichtigt. Da bei einem logistischen Modell von einer konstanten Varianz ausgegangen wird, kann durch Berücksichtigung dieser ID eine Abweichung von dieser Annahme in Form von Über- bzw. Unterdispersion bewirkt werden.

Die Modellwahl erfolgte anhand einer sogenannten „forward selection“ nach dem Bayesian Information Criterion (BIC) bzw. aufgrund von Likelihood-Ratio-Tests von verschachtelten Modellen. Auf diesem Wege wurde für jeden betrachteten Zeitraum (Jahre einzeln, Zeitraum gesamt) das statistisch optimale Modell bestimmt und somit signifikante Einflussfaktoren für die Winterverluste identifiziert.

Alle Analysen wurden mit der Statistiksoftware R (R Core Team, 2015) und dem R package lme4 (Bates et al., 2015) durchgeführt. Alle Abbildungen wurden mit dem R package ggplot2 (Wickham, 2009) erstellt.

Infobox – Hierarchische Clusteranalyse

Die Auswertung und Analyse der Landnutzung rund um einen Bienenstand kann wichtige Informationen über deren Auswirkung auf die Wintersterblichkeit der Bienenvölker liefern. Eine Möglichkeit, um die Unterschiede in der Wintersterblichkeit zwischen verschiedenen Landnutzungsarten statistisch vergleichen zu können, ist die Bildung von Kategorien (= Clustern) hinsichtlich der vorherrschenden Landnutzungsarten im Flugkreis des Bienenstandes.

Die in der Studie verwendeten Datensätze zeigten, dass in Österreich viele verschiedene Landnutzungsarten auf sehr engem Raum nebeneinander auftreten. In der Beobachtungsstudie waren etwa im 3km-Flugradius rund um die Bienenstände im Mittel 14 der 23 von uns festgelegten Landnutzungsarten vorhanden (siehe Beschreibung der Kategorien in Abbildung 2.5 + Zusatzkategorie „Agrarflächen im Ausland“). Aufgrund dieser kleinräumigen Diversität ist es nicht ohne weiteres möglich, die Landnutzung in der Umgebung eines Bienenstandes in einfache Kategorien, wie „Maisanbau“, „Rapsanbau“, „Grünland“ oder „Waldgebiet“ einzuteilen, da in der Regel keine der Nutzungsarten deutlich dominiert und die Bienen daher mit einer Vielfalt unterschiedlicher Landnutzungsarten konfrontiert werden. Welche Kategorie würde man beispielsweise für einen Bienenstand wählen, in dessen Flugkreis neben einem hohen Waldanteil ebenfalls Landnutzungsarten wie Maisanbau oder Grünland auftreten?

Aus diesem Grund kam in zwei Modulen (2b, 3a) eine hierarchische Clusteranalyse zum Einsatz. Dabei handelt es sich um ein statistisches Verfahren, mit dessen Hilfe eine objektive Kategorisierung der Landnutzung durchgeführt werden kann. Mit diesem Verfahren werden die Bienenstände in Gruppen (sogenannte Cluster) eingeteilt, sodass alle Bienenstände innerhalb einer Gruppe einander hinsichtlich der anteiligen Zusammensetzung von Landnutzungstypen in deren jeweiliger Umgebung ähneln. Die hierarchische Clusteranalyse wird schrittweise durchgeführt. Zu Beginn wird beispielsweise jede der 193 Standumgebungen in der Beobachtungsstudie als ein separater Cluster betrachtet (193 Cluster). Nun werden alle Cluster paarweise analysiert indem für jedes Clusterpaar berechnet wird, wie sehr sich ihre Standumgebungen ähneln und diese Ähnlichkeit in einer Kenngröße (= Metrik) ausgedrückt. So werden jene beiden Standumgebungen (= Cluster) identifiziert, die einander laut Metrik am ähnlichsten sind. Diese werden anschließend zu einem gemeinsamen Cluster zusammengefügt, wodurch sich die Gesamtanzahl um einen Cluster reduziert (Ergebnis: 192 Cluster). Im nächsten Schritt werden aus den verbleibenden 192 Clustern erneut die beiden ähnlichsten Cluster zusammengefügt (Ergebnis: 191 Cluster). Dieser Prozess wird so lange wiederholt, bis eine begrenzte, sinnvoll voneinander unterscheidbare Anzahl von Clustern gebildet wurde, in denen sich jeweils genügend Bienenstände befinden, um einen statistischen Vergleich der verschiedenen Cluster zu erlauben. So wurde zum Beispiel in der Beobachtungsstudie die 5-Cluster-Lösung herangezogen, da die 4-Clusterlösung zu grob (Nadelwald-Cluster und Grünland-Cluster waren nicht getrennt) und die 6-Clusterlösung zu genau war (ein sechster Cluster hätte nur mehr zwei Bienenstände im Hochgebirge beinhaltet).

Der Vorteil dieser Form der Analyse besteht darin, dass sie nicht auf vordefinierte Kategorien zurückgreift, sondern vielmehr in den Daten nach wiederkehrenden Mustern gesucht wird, auf deren Basis dann Kategorien (Cluster) gebildet werden. Die Ergebnisse der Beobachtungsstudie (Modul 3a) zeigen beispielsweise, dass in Gegenden, in denen viel Mais angebaut wird, tendenziell auch Felder mit anderen Getreidearten oder Ölfrüchten/Ölsaaten vorhanden sind. Es entstand daher in dem automatischen Prozess eine Clusterkategorie, die alle Bienenstände zusammenfasst, in deren Umgebung vor allem Getreide, Mais und Ölsaaten angebaut werden. Neben diesen landwirtschaftlich genutzten Flächen kann sich beispielsweise auch Nadelwald im

Flugkreis dieser Bienenstände befinden, dessen Flächenanteil ist jedoch weitaus geringer als jener von Mais oder Getreide.

Die Eleganz einer solchen Clusteranalyse besteht darin, dass sie es ermöglicht, eine komplexe Wirklichkeit in fassbare Kategorien einzuteilen. Gleichzeitig zwingt sie uns, eben jene Komplexität in unsere Analysen mit einzubeziehen, auch wenn eine Clusterkategorie sich manchmal nicht unmittelbar in gewohnte Rubriken einordnen lässt (zum Beispiel eine Clusterkategorie in der sowohl Laub- und Mischwald als auch Maisanbau und Grünland stark vertreten sind). Die Welt, in der sich sammelnde Bienen bewegen, besteht nicht aus einzelnen Kulturpflanzen, sondern aus dem komplexen Mosaik unterschiedlichster Kulturarten, Gärten, Wälder, Hohlwegen, Windschutzgürtel, Wiesen, städtisch dominierter Flächen, etc. Es gilt nun, diese unterschiedlichen Standumgebungen – in Form der daraus abstrahierten Cluster – statistisch auf signifikante Zusammenhänge mit Winterverlusten von Bienenvölkern zu testen.

2b.3 Ergebnisse

Die 263 Regionen konnten anhand der in Abschnitt 2b.2 beschriebenen Clusteranalyse sechs Clustern zugeordnet werden, deren Charakteristiken auf Basis der dominierenden Landnutzungskategorien in Tabelle 2.2 zusammengefasst sind. Die angeführten Kategorien beschreiben die Cluster jedoch nicht exklusiv; eine Region, die einem Cluster zugeordnet wurde, kann demnach auch Flächen enthalten, deren Landnutzung nicht den für den entsprechenden Cluster aufgelisteten Kategorien entspricht. In Abbildung 2.6 ist dargestellt welche Landnutzungstypen in den jeweiligen Clustern vorherrschen und in welchem Ausmaß sie dort vertreten sind. Die Landnutzungskategorien und Regionen sind dabei in einer Matrix angeordnet. Für jede Landnutzungskategorie (Zeile) ist farblich codiert, welcher Flächenanteil auf die jeweilige Region (Spalte) im Cluster fällt. Helle Rechtecke deuten auf Kategorien hin, die in der Region sehr stark vertreten sind. Die Breite bzw. Anzahl der einzelnen Rechtecke/Spalten gibt darüber hinaus Auskunft über die Anzahl der Regionen, die einem Cluster zugeordnet sind. In Cluster 1 ist etwa zu erkennen, dass er aus drei Regionen besteht und dass in allen drei Regionen ein hoher Anteil auf Wasser-/Feuchflächen entfällt und ein geringer bis mäßiger Anteil auf bebauten Flächen und Getreide (exkl. Mais). In Cluster 2 ist der Anteil der Flächen mit Getreide (exkl. Mais) bei nahezu allen Regionen hoch, während es für die Kategorie „andere Ackerkulturen“ Regionen mit sehr hohen Anteilen und Regionen mit eher geringeren Anteilen gibt. Cluster 3 enthält Regionen mit hohen Anteilen an bebauten Flächen, Laubwald und Nadelwald. Cluster 4 enthält die meisten Regionen, wobei deren Fläche größtenteils durch Nadelwald geprägt ist. In Cluster 5 sind die Anteile an den landwirtschaftlich genutzten Flächen (Getreide, Mais, andere Ackerkulturen) etwas geringer als in Cluster 2, dafür sind die Anteile, die auf Nadelwald und Grünland entfallen, etwas höher. In Cluster 6 gibt es nur vereinzelt Regionen mit landwirtschaftlicher Nutzung. Der Großteil der Fläche entfällt in diesem Cluster auf naturnahe Flächen und Wälder (Sonstige CORINE), Almen und Nadelwälder.

Auffallend ist auch, dass in einigen Clustern wenige Landnutzungskategorien deutlich vorherrschen, während in anderen Clustern viele Landnutzungskategorien mit geringeren Anteilen vorkommen. So wird Cluster 1 größtenteils von Wasser-/Feuchflächen, Cluster 4 von Nadelwald, Cluster 6 von Sonstige CORINE und Nadelwald und Cluster 2 von Getreide exkl. Mais bestimmt. Cluster 5 entfällt in nahezu gleichen Teilen auf die Kategorien Grünland, Nadelwald, Mais und Getreide exkl. Mais. Cluster 3 setzt sich größtenteils aus den Kategorien bebauten Flächen, Laubwald und Nadelwald zusammen.

Die Einteilung in Cluster erfolgte ohne Berücksichtigung der geografischen Lage der Regionen, weshalb auch weit entfernte Regionen zum selben Cluster zählen können. Die Clusterzugehörigkeit der Regionen ist in Form einer Karte in Abbildung 2.7 dargestellt. Wie auch in Abbildung 2.6 ist hier deutlich zu erkennen, dass Cluster 4 die größte Zahl an Regionen aufweist. Cluster 1 umfasst drei Regionen, die alle hohe Anteile an Wasser-/Feuchtsflächen aufweisen. Bei genauerer Betrachtung der geografischen Lage dieser Regionen lässt sich dieser hohe Anteil durch ihre Nähe zum Bodensee oder zum Neusiedler See erklären.

Einen ersten Hinweis darauf, ob es hinsichtlich der Winterverluste Unterschiede zwischen den Clustern gibt, bietet eine deskriptive Darstellung der Anteile der Winterverluste je Cluster und je Jahr (Abbildung 2.8). Die Balken stellen die Anteile der über den Winter verlorenen Bienenvölker je Cluster in den jeweiligen Jahren dar. Die schwarzen vertikalen Linien (Fehlerbalken) beschreiben die zugehörigen 95%-Konfidenzintervalle. Die Breite der Konfidenzintervalle lässt auf die Anzahl der Beobachtungen je Cluster bzw. je Jahr schließen. In Cluster 1 gibt es mit nur drei Regionen und nur einem meldenden Betrieb in diesen Regionen die geringste Zahl an Beobachtungen und somit das breiteste Konfidenzintervall. Cluster 4 hingegen weist mit der größten Zahl an zugeordneten Regionen die schmalsten Konfidenzintervalle auf. Während sich die Verluste in den verschiedenen Clustern in den Wintern 2011/12 bis 2013/14 ähnlich verhalten, fallen in den Wintern 2010/11 und 2014/15 die hohen Verluste in Cluster 1 auf.

Tabelle 2.2: Beschreibung der sechs Cluster basierend auf den dominierenden Landnutzungskategorien (medianer Anteil der Fläche je Kategorie und Cluster in %, angegeben sind nur Kategorien mit einem Median >10%).

Cluster	Dominierende Landnutzungskategorien im jeweiligen Cluster
1	Wasser-/Feuchtsflächen (27,3%), Getreide exkl. Mais (15,4%)
2	Getreide exkl. Mais (29,6%)
3	Bebaute Flächen (18,6 %), Laubwald (16,1 %), Nadelwald (12,7%)
4	Nadelwald (46,4%), Grünland (12,9%)
5	Grünland (15,7%), Nadelwald (14,9%), Mais (13,3 %), Getreide exkl. Mais (12,4%)
6	Sonstige CORINE (Wälder und naturnahe Flächen) (33,1%), Nadelwald (31,9%), Almen (11,6%)



Abbildung 2.6: Anteil der Gesamtfläche einer Region, die von den betrachteten Landnutzungskategorien bedeckt wird. Die Regionen sind in Cluster-Blöcken zusammengefasst dargestellt.

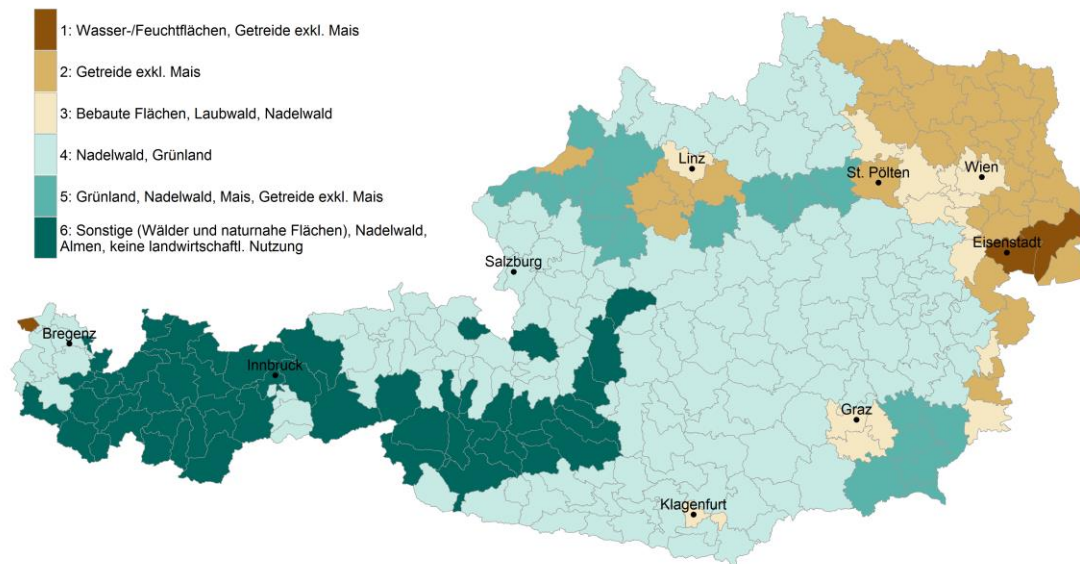


Abbildung 2.7: Räumliche Verteilung der sechs größten Cluster gemäß der hierarchischen Clusteranalyse.

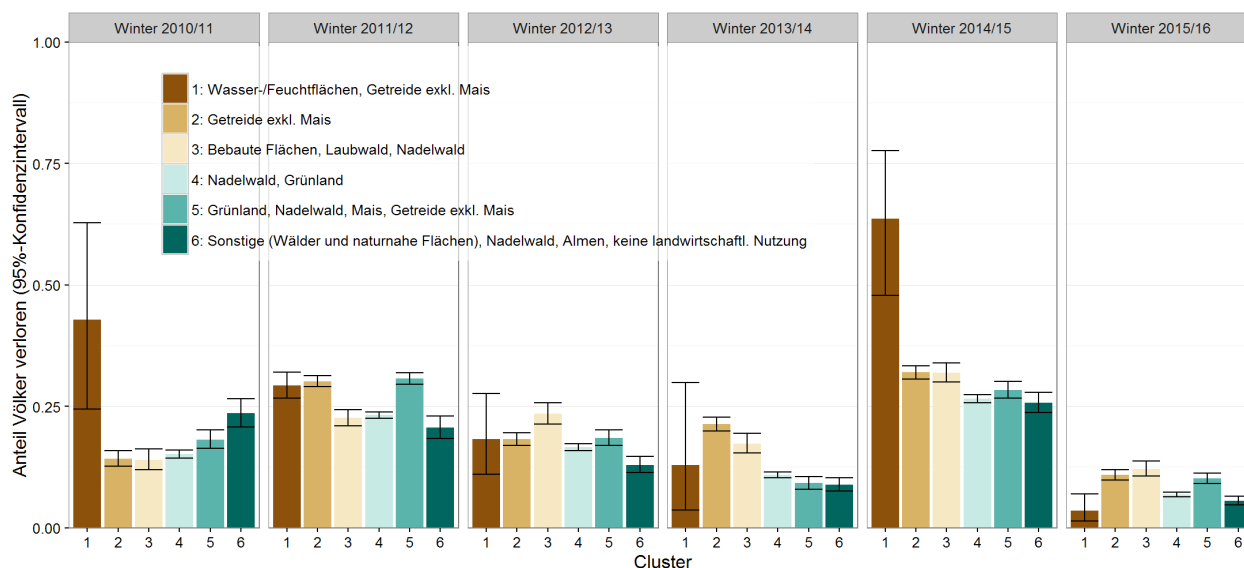


Abbildung 2.8: Winterverluste (Rohdaten) und 95%-Konfidenzintervalle nach Jahren und Cluster.

2b.3.1 Modellergebnisse Winter 2010/11

Für die Bienenverluste im Winter 2010/11 konnten folgende Variablen als signifikante Einflussfaktoren identifiziert werden (siehe auch Tabelle 2.3):

- die Anzahl der eingewinterten Bienenvölker des Bienenstands,
- der Landnutzungscluster, dem die Region des Bienenstandorts zugeordnet wurde,
- die monatliche Durchschnittstemperatur und die Monatssumme des Niederschlags im Februar 2011 sowie
- die Monatssumme des Niederschlags im September 2010.

Der zufällige Betriebseffekt (random effect) konnte in diesem Jahr im Modell nicht berücksichtigt werden, da aufgrund der Datenlage die zugrundeliegenden Optimierungsalgorithmen keine Konvergenz erzielten.

Die geschätzten Modellkoeffizienten sind Tabelle 2.3 (Spalte „2010/11“) zu entnehmen, wobei nicht signifikante Faktoren ausgegraut wurden. Für die kategorielle Variable Clusterzugehörigkeit wurde Cluster 4 aufgrund seiner Größe als Referenzkategorie gewählt. In diesem Referenzcluster gibt der konstante Term („Intercept“) das Baseline-Risiko für einen Winterverlust in diesem Jahr an (bei durchschnittlicher Betriebsgröße, Temperatur und Niederschlag). Der angegebene Wert von -1,585 ist im Modell auf der Ebene des sogenannten linearen Prädiktors zu interpretieren und entspricht einer Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust von 17,0%. Dieser Wert ergibt sich durch Umkehrung der Logit-Linkfunktion:

$$\exp(-1,585)/(1+\exp(-1,585)) = 0,1701 \approx 17,0\%$$

Die Koeffizienten der übrigen Cluster (Variable „Clusterzugehörigkeit“) geben die Änderung der Verlustwahrscheinlichkeit in Relation zum Referenzcluster an. So verringert sich das Risiko für Bienenvölker aus Cluster 2 auf der Ebene des linearen Prädiktors um -0,358, was einer Verlustwahrscheinlichkeit von 12,5% entspricht. Für Bienenvölker in Cluster 1 hingegen erhöht sich das Risiko im Vergleich zu Cluster 4 auf Ebene des Prädiktors um 0,917, was einer Verlustwahrscheinlichkeit von rund 33,9% entspricht.

Bei zunehmender Betriebsgröße wird das Risiko für einen Winterverlust verringert. Da die Anzahl der eingewinterten Völker skaliert wurde, kann der Koeffizientenschätzer jedoch nicht direkt auf

eine Erhöhung von einem Bienenvolk umgelegt werden. Liegt die Anzahl der Bienenvölker jedoch beispielsweise um ein Volk höher als die durchschnittliche Betriebsgröße von 19 Bienenvölkern, so verringert sich die Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust im Referenzcluster von 17,0% auf 16,9%. Mit zunehmender Betriebsgröße ist demnach eine geringere Wahrscheinlichkeit für einen Verlust zu erwarten.

Hinsichtlich der Wetterbedingungen zeigen die Modellergebnisse, dass höhere Temperaturen im Februar des betrachteten Winters zu einer Erhöhung der Verlustwahrscheinlichkeit führen. Höhere Niederschlagsmengen in den Monaten September und Februar verringern hingegen die Verlustwahrscheinlichkeit. Auch hier ist der Koeffizientenschätzer auf Ebene des linearen Prädiktors aufgrund der Skalierung der Wetterparameter nicht direkt auf die Erhöhung um ein Grad Celsius bzw. um einen mm Niederschlag zurückzuführen. Erhöht sich beispielsweise die durchschnittliche monatliche Niederschlagssumme im September von rund 95 mm auf 105 mm, verringert sich die Verlustwahrscheinlichkeit von 17,0% auf 16,6%.

Die Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust ist im Winter 2010/11 aufgrund der Modellergebnisse in den Clustern 1 und 6 mit 33,9% bzw. 31,9% am höchsten. Die geringste Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust wird in Cluster 2 und 3 erwartet (12,5% bzw. 11,9%). Vor allem die Ergebnisse für Cluster 1 müssen hier mit Vorsicht interpretiert werden, da es in den drei Regionen in Cluster 1 lediglich einen Betrieb gab, für den Winterverlustdaten 2010/11 erhoben wurden.

2b.3.2 Modellergebnisse Winter 2011/12

Für die Beobachtungen aus dem Winter 2011/12 konnte neben der Clusterzugehörigkeit wiederum die durchschnittliche monatliche Niederschlagssumme im September als signifikanter Einflussfaktor identifiziert werden (siehe dazu auch Modul 2a), jedoch erhöht sich die Verlustwahrscheinlichkeit in diesem Winter bei zunehmenden Niederschlagsmengen im September (siehe Tabelle 2.3, Spalte „2011/12“). Hinsichtlich der Cluster zeigt sich ein gegensätzliches Bild zu den Ergebnissen des Vorjahres. Im Jahr 2011/12 ist in Cluster 6 mit der geringsten Wahrscheinlichkeit für einen Bienenverlust zu rechnen (25,2%), während die Winterverluste in den Clustern 1 und 3 mit 51,0% bzw. 47,1% am höchsten sind. Signifikante Unterschiede bei den Winterverlusten waren auch für Betriebe mit und ohne Wanderimkerei festzustellen. Demnach ist die Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust bei Betrieben ohne Wanderimkerei um rund 10,5% höher als bei Betrieben mit Wanderimkerei.

2.b.3.3 Modellergebnisse Winter 2012/13

Als signifikanter Einflussfaktor hinsichtlich der Winterverluste konnte für den Winter 2012/13 nur die Angabe, ob Wanderimkerei vorliegt oder nicht, identifiziert werden. Dabei sind die erwarteten Verluste für Bienenvölker, die transportiert werden, geringer als für Bienenvölker, die nicht transportiert werden (Tabelle 2.3, Spalte „2012/13“). Hinsichtlich Clusterzugehörigkeit konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

2.b.3.4 Modellergebnisse Winter 2013/14

Auch im Winter 2013/14 konnten keine signifikanten Unterschiede der Bienenverluste zwischen den Clustern nachgewiesen werden. Lediglich die monatliche Durchschnittstemperatur im Februar 2014 wurde als signifikanter Einflussfaktor identifiziert, wobei höhere Temperaturen ein erhöhtes Risiko für Winterverluste darstellten (Tabelle 2.3, Spalte „2013/14“).

2b.3.5 Modellergebnisse Winter 2014/15

Aufgrund der Modellwahl konnten die Clusterzugehörigkeit, die Anzahl der eingewinterten Völker sowie die Seehöhe als Einflussfaktoren für die Winterverluste identifiziert werden. Informationen über Temperatur und Niederschlag standen für den Winter 2014/15 nicht zur Verfügung und wurden daher nicht im Modell berücksichtigt. Wie anhand der Modellkoeffizienten in Tabelle 2.3 (Spalte „2014/15“) zu erkennen ist, führt eine höhere Anzahl an eingewinterten Völkern auch hier zu einer geringeren Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust. Bienenvölker in höher gelegenen Regionen scheinen ebenfalls einem geringeren Risiko ausgesetzt zu sein. Interessant sind jedoch vor allem die Ergebnisse hinsichtlich der Clusterzugehörigkeit. Die höchsten Verlustwahrscheinlichkeiten finden sich in Cluster 1 (61,5%) während sich die geringsten in Cluster 5 finden (39,1%). Signifikante Unterschiede zu Cluster 4 weist im Winter 2014/15 nur Cluster 3 auf. Die erwartete Wahrscheinlichkeit eines Winterverlusts liegt in Cluster 3 bei 51,7%, jedoch in Cluster 4 bei 41,9%.

2b.3.6 Modellergebnisse Winter 2015/16

Für den Winter 2015/16 konnten ebenfalls Unterschiede zwischen den Clustern festgestellt werden (siehe Tabelle 2.3, Spalte „2015/16“). Im Allgemeinen ist die erwartete Wahrscheinlichkeit für einen Verlust deutlich geringer als im Winter 2014/15 und beträgt beispielsweise 4,6% in Cluster 4. Signifikant höher ist die Verlustwahrscheinlichkeit in den Clustern 2, 3 und 5 mit 8,2 %, 8,3% bzw. 7,5%. Je mehr Völker eingewintert wurden, desto geringer war auch in diesem Winter die erwartete Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust.

Aufgrund der Einzelmodelle konnten signifikant unterschiedliche Winterverlustwahrscheinlichkeiten zwischen den Clustern für die Winter 2010/11, 2011/12, 2014/15 sowie 2015/16 festgestellt werden. Die aus den Modellergebnissen abgeleiteten Baseline-Wahrscheinlichkeiten für einen Winterverlust sind für diese Jahre in Abhängigkeit der Clusterzugehörigkeit in Abbildung 2.9 dargestellt. Alle anderen signifikanten Modellvariablen wurden für diese Vorhersage auf den Wert 0 gesetzt. Vor allem die Winterverluste 2010/11 zeigen, verglichen mit denen für 2011/12 und 2014/15, ein sehr gegensätzliches Bild. Während für Cluster 6, der überwiegend mit Wald- und Grünflächen bedeckt ist und kaum landwirtschaftliche Nutzung aufweist, im Winter 2010/11 vermehrt Verluste zu erwarten sind, ist es genau dieser Cluster, der 2011/12 geringere zu erwartenden Verluste aufweist. Auch der städtische Cluster (Cluster 3) weist im Winter 2010/11 günstige Bedingungen hinsichtlich der Überwinterung auf, während die Bedingungen in den Jahren 2011/12, 2014/15 und 2015/16 zu höheren Verlusten führten. Die insgesamt sehr geringen Wahrscheinlichkeiten für Verluste im Winter 2015/16 sind in allen Clustern anhand der hellen Schattierungen zu erkennen. Lediglich die Cluster 2 und 3 heben sich durch etwas dunklere Schattierungen ab. Im Gegensatz dazu sind die hohen Verlustwahrscheinlichkeiten für 2014/15 anhand der durchgehend roten Färbung der Cluster zu erkennen.

Die starken Unterschiede vor allem hinsichtlich der Signifikanz einzelner Faktoren sind einerseits auf möglicherweise vorhandene Jahresunterschiede und andererseits auf die unterschiedliche Datenbasis zurückzuführen. Nicht in jedem Jahr konnten Informationen zu allen Regionen erhoben werden. Die einzelnen Modelle basieren demnach auf Informationen aus unterschiedlichen Regionen und unterschiedlichen Beobachtungszahlen je Cluster.

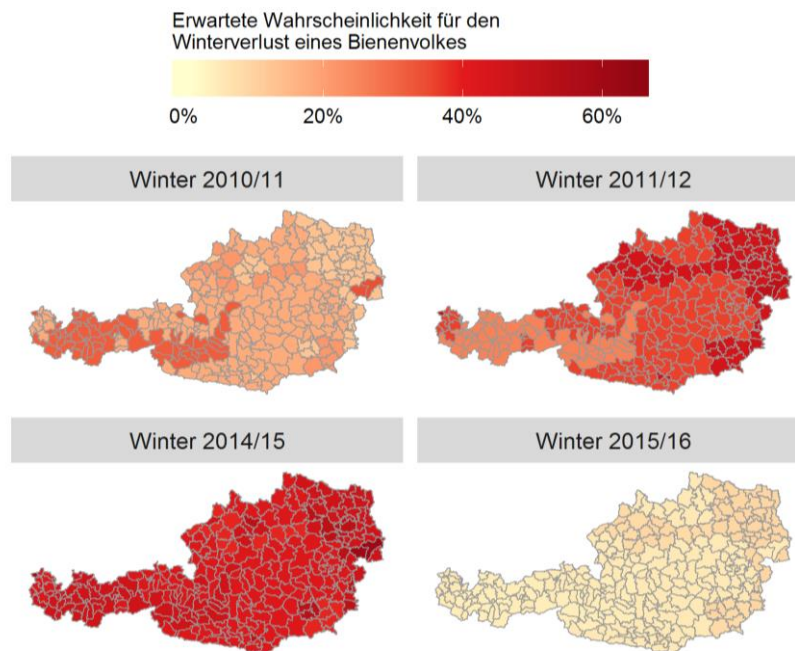


Abbildung 2.9: Geschätzte Baseline-Wahrscheinlichkeit für einen Bienenverlust je Cluster und Jahr basierend auf den Ergebnissen der Einzelmodelle. Es werden nur jene Jahre dargestellt, für die ein signifikanter Einfluss der Clusterzugehörigkeit im Einzelmodell festgestellt werden konnte. Dunklere Rottöne geben eine höhere Wahrscheinlichkeit für einen Winterverlust an.

2b.3.7 Ergebnisse Gesamtmodell

Um einen Gesamteindruck des Einflusses der Clusterzugehörigkeit und des Jahreseinflusses zu erhalten, wurde zusätzlich ein Modell angepasst, in dem die Beobachtungen aller betrachteten Jahre gemeinsam berücksichtigt wurden. Da Informationen zur Wanderimkerei sowie zu den Wetterbedingungen nicht für alle Jahre vorlagen, wurden diese Faktoren im Modell nicht berücksichtigt. Unter den verbleibenden Faktoren konnten die Betriebsgröße (Anzahl der eingewinterten Völker), das Jahr der Erhebung, die Clusterzugehörigkeit sowie die Interaktion zwischen Clusterzugehörigkeit und Jahr der Erhebung als signifikante Faktoren identifiziert werden. Mit der Interaktion zwischen Clusterzugehörigkeit und Jahr der Erhebung wird berücksichtigt, dass sich die Winterverluste der jeweiligen Clustern für unterschiedliche Jahre unterscheiden können. Die Modellergebnisse sind Tabelle 2.4 zu entnehmen. Da es sich sowohl beim Jahr als auch bei der Clusterzugehörigkeit um kategorielle Variablen handelt, wird das Jahr 2010/11 bzw. der Cluster 4 als Referenzkategorie festgelegt. Der Intercept ist eine Modellkonstante, die das durchschnittliche Risiko für ein Referenz-Bienenvolk beschreibt. Ein Referenz-Bienenvolk wurde hier als Bienenvolk im Winter 2010/11 in Cluster 4 aus einem durchschnittlich großen Betrieb definiert. Alle anderen Koeffizienten beschreiben eine Veränderung des Risikos in Relation zu dieser Referenzgruppe.

So ist beispielsweise das Risiko für einen Winterverlust 2010/11 in Cluster 1 auf Ebene des linearen Prädiktors um 1,698 höher als jenes in Cluster 4. Im Referenzjahr 2010/11 unterscheidet sich die Verlustrate in Cluster 6 signifikant von der Verlustrate in Cluster 4. Die Chance für einen Winterverlust ist in diesem Cluster 2,08 ($= \exp(0,734)$) mal höher verglichen mit dem Referenzcluster. Des Weiteren ist die Chance für einen Winterverlust 2014/15 in Cluster 4 2,13 ($= \exp(0,756)$) mal höher als im Referenzjahr 2010/11. Die Verlustwahrscheinlichkeiten in Cluster 4 sind nur im Jahr 2012/13 nicht signifikant unterschiedlich, verglichen mit dem Referenzjahr 2010/11.

Die geschätzten Wahrscheinlichkeiten für die betrachteten Jahre und Cluster sind in Abb. 2.10 dargestellt, wobei dunklere Rottöne auf eine höhere Wahrscheinlichkeit hinweisen. Wie bereits in den Einzelmodellen zu erkennen war, sind die Winterverluste in Cluster 1 für die Jahre 2010/11 und 2014/15 am höchsten. In keinem der Jahre unterscheidet sich die Verlustrate in Cluster 1 signifikant vom Referenzcluster. Für Cluster 6 wird in allen Jahren mit Ausnahme von 2010/11 und 2012/13 die geringste Verlustwahrscheinlichkeit geschätzt. In allen Jahren ist die Verlustrate in Cluster 6 signifikant geringer als im Referenzcluster 4. Neben der generell geringeren Verlustwahrscheinlichkeit in den Jahren 2012/13, 2013/14 und 2015/16 ist an den relativ homogenen Rottönen zu erkennen, dass sich die Cluster 1, 2, 4, und 5 im Winter 2012/13 bzw. die Cluster 4 und 5 im Winter 2013/14 kaum hinsichtlich der Verlustwahrscheinlichkeiten unterscheiden.

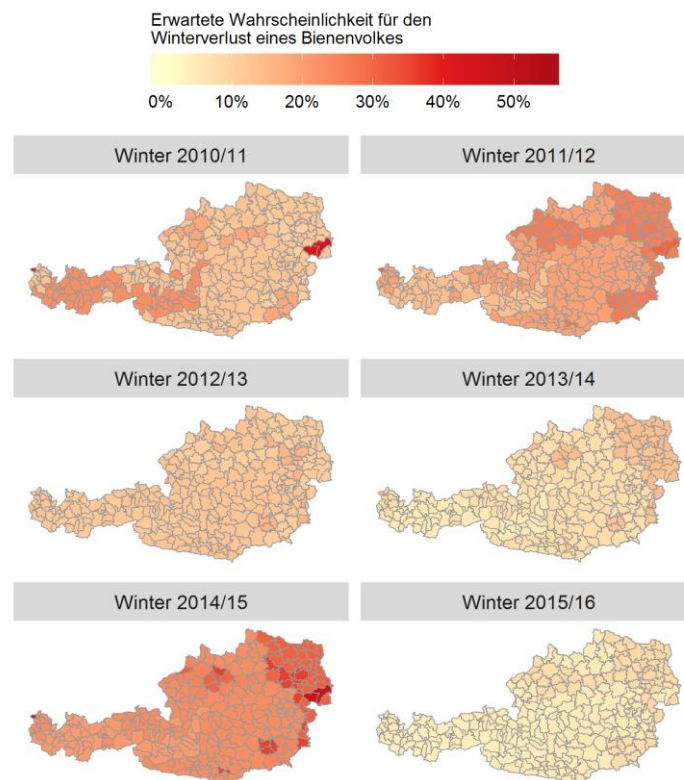


Abbildung 2.10: Geschätzte Wahrscheinlichkeit für einen Bienenverlust je Cluster und Jahr basierend auf den Ergebnissen des Gesamtmodells.

2b.4 Schlussfolgerungen und Diskussion

Zur Beantwortung der gegenständlichen Fragestellung scheinen die Ergebnisse des Gesamtmodells besser geeignet zu sein als die Ergebnisse der Einzelmodelle, da hier die Beobachtungen aller betrachteten Jahre in ein gemeinsames Modell einfließen, was zur Stabilität der abgeleiteten Erkenntnisse beiträgt. Zudem besteht bei der Betrachtung von Einzelmodellen durch den starken Einfluss der individuellen Jahre die Gefahr, allgemeine Rückschlüsse zu ziehen, die nur für ein Jahr gültig sind. Eine kritische Interpretation ist vor allem bei den Ergebnissen des Winters 2010/11 notwendig, da die Anzahl der Beobachtungen in diesem Jahr deutlich geringer ist als in den darauffolgenden Jahren.

Bei den Landnutzungsarten treten starke natürliche Abhängigkeiten der einzelnen (Sub-) Kategorien auf. Dadurch ist es nicht möglich, alle Landnutzungsarten direkt in einem gemeinsamen

Modell zu berücksichtigen, da korrelierte Einflussvariablen die Modellannahmen verletzen und unter anderem zu Instabilitäten bei der Modellwahl führen können. Aus diesem Grund wurden mithilfe der Clusteranalyse Gebiete mit ähnlichen Landnutzungsprofilen zu Gruppen (Cluster) zusammengefasst. Die Einteilung in Cluster erfolgt dabei objektiv, basierend auf der Zusammensetzung der Landnutzungsarten der einzelnen Regionen. Um das Problem der abhängigen Einflussfaktoren zu umgehen, werden daher anstelle der Landnutzungsarten die Clusterzugehörigkeit der Region im Modell betrachtet. Anders als bei univariater Betrachtung der einzelnen Landnutzungskategorien kann durch die Berücksichtigung dieser Cluster als Einflussfaktoren auch der Zusammenhang zwischen den verschiedenen Landnutzungsarten berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse des Gesamtmodells lassen vermuten, dass in Cluster 6, in dem vorwiegend Nadelwald, naturnahe Flächen und Almen zu finden sind, die Bedingungen für ein erfolgreiches Überwintern eines Bienenvolkes günstiger sind als in den restlichen Clustern. Eine Ausnahme bildet hier jedoch das Jahr 2010/11, für welches das Modell die höchsten Verlustwahrscheinlichkeiten in den Clustern 1 und 6 vorhersagt. Gleichzeitig ist ein starker Jahreseinfluss zu erkennen, der sich auf die Winterverluste auswirkt, jedoch nicht mit den zur Verfügung stehenden Informationen erklärt werden und in der vorliegenden Definition des Modells auch nicht auf die Landnutzung zurückgeführt werden kann. Eine mögliche Ursache für die starken Jahreseinflüsse könnten die unterschiedlichen Witterungsbedingungen in den Jahren darstellen.

In fast allen Jahren (2011/12, 2012/13, 2014/15, 2015/16) zeigen sich tendenziell höhere Verluste in Cluster 3, dessen Flächen zu einem Großteil auf bebaute Flächen, Nadel- und Laubwald entfallen.

Cluster 2, der größtenteils landwirtschaftlich genutzte Flächen umfasst (hauptsächlich Getreide exkl. Mais), fällt vor allem in den Jahren 2011/12, 2013/14, 2014/15 und 2015/16 durch ein erhöhtes Verlustrisiko auf. Die vorhandene Datenlage erlaubt jedoch nur einen begrenzten Rückschluss auf die Auswirkungen von landwirtschaftlicher Nutzung per se. Einerseits ist nicht eindeutig, welche Kategorien tatsächlich zur landwirtschaftlichen Nutzung gezählt werden können – so bleibt beispielsweise unklar, welche Bewirtschaftung im Detail bei Grünlandflächen tatsächlich erfolgt – andererseits werden verschiedene Anbaukonzepte (wie biologisch oder konventionell) nicht in den INVEKOS-Daten widerspiegelt. Vor allem der in Literatur (Budge et al., 2015; Woodcock et al., 2017) diskutierte Risikofaktor Pestizidbehandlung von Äckern kann dadurch nicht allein aufgrund der Landnutzungskategorie untersucht werden, weitere Untersuchungen mit genaueren Angaben zur Landnutzung oder großangelegte Feldversuche wären hierzu notwendig. Ein weiteres Problem bei dieser Teilfragestellung ist, dass allein unter Berücksichtigung des Flugradius von Bienenvölkern kein homogenes Landnutzungsgebiet abgedeckt werden kann. Bei der hier vorliegenden Analyse des großen, über mehrere Jahre in Österreich gesammelten Datensatzes, konnte im Gegensatz zur Beobachtungsstudie (siehe Modul 3) der Bienenstandort auch nur auf Gemeinde-Ebene lokalisiert werden.

Cluster 1 umfasst drei Regionen mit einem hohen Anteil an Wasser-/Feuchtfleichen und enthält in den Wintern 2010/11 und 2014/15 hohe Winterverluste. In den restlichen Jahren ist dieser Cluster aber weitestgehend unauffällig. Wie bereits die breiten Konfidenzintervalle für die Winterverlustanteile in Abbildung 5 vermutet lassen, beruhen die Winterverluste in diesem Cluster auf einer geringen Anzahl an Beobachtungen. Mit maximal 50 meldenden Imkern enthält Cluster 1 die wenigsten Beobachtungen je Jahr. Für die Winter 2010/11 und 2014/15 liegen in diesem Cluster Meldungen von nur einem bzw. sechs Betrieben vor. Im Winter 2014/15 verloren zudem zwei von den meldenden sechs Imkern 6 von 7 bzw. 15 von 15 eingewinterten Bienenvölkern. Die hohen Verluste sind somit nur auf wenige Imker zurückzuführen, weshalb allgemeine Schlussfolgerungen basierend auf diesen Daten mit hohen Unsicherheiten behaftet sind.

Ein genereller Zusammenhang von Clusterzugehörigkeit und Wintersterblichkeit über alle Jahre hinweg kann aus den vorliegenden Ergebnissen nicht abgeleitet werden.

Der Einfluss von Landnutzung wurde bislang erst in wenigen Arbeiten untersucht. In Clermont et al. (2015) wurden neben univariaten Korrelationen von Landnutzungskategorien und Bienenverlusten auch 2 km bzw. 5 km Radien um beobachtete Bienenstände aufgrund ihrer Landnutzungs-Zusammensetzung in Cluster eingeteilt. Danach wurden die Cluster auf signifikante Unterschiede in den Bienenverlusten mittels eines multiplen statistischen Tests untersucht. Der Vorteil des im vorliegenden Projekt angewendeten Generalisierten Linearen Gemischten Modells gegenüber dem Ansatz von Clermont et al. (2015) ist, dass neben der Clusterzugehörigkeit auch weitere Einflussfaktoren wie beispielsweise das Jahr und die Anzahl der eingewinterten Völker in der Analyse berücksichtigt werden können. Dass sich die Landnutzung abhängig von den Jahresbedingungen auswirken kann, diskutierten aber auch Clermont et al. (2015). Dort zeigte sich beispielsweise bei univariater Betrachtung je Jahr, dass Mischwald in einigen Jahren positiv und in anderen negativ mit Bienenverlusten korrelierte.

Wie in Clermont et al. (2015) diskutiert wird, muss auch für die vorliegende Studie berücksichtigt werden, dass die Referenzjahre der Daten nicht immer dem Erhebungszeitraum gleichgesetzt werden können. Angaben des BFW über Waldflächen in Österreich beziehen sich auf die Referenzjahre 2000–2003, während die Winterverluste ab 2010 erhoben wurden. Das heißt es wird angenommen, dass beispielsweise Schläge aus den Referenzjahren Winterverluste im Zeitraum 2010–2015 beeinflussen. Auch die CORINE-Daten werden als konstant über den betrachteten Zeitraum angenommen. Eine zeitliche Verzögerung des Effektes ist hier eher vernachlässigbar, da einerseits 2012 das Referenzjahr ist und andererseits für Landnutzungskategorien wie beispielsweise Wasser-/Feuchtfächen keine deutlichen Änderungen in einem Zeitraum von sechs Jahren zu erwarten sind.

Bei den landwirtschaftlich genutzten Flächen stehen durch jährlich aktualisierte INVEKOS-Daten zeitnahe Informationen zur Verfügung. Diese Änderungen können auf die Einhaltung von Fruchtfolge- und anderen Anbau-Konzepten zurückgeführt werden. Die Annahme, dass die Nutzung im Jahr der Einwinterung der Bienenvölker direkte Auswirkungen auf die jeweiligen Winterverluste hat, scheint in diesem Fall plausibel. Durch Berücksichtigung der jährlichen INVEKOS-Daten ist es grundsätzlich möglich, dass Regionen die Clusterzugehörigkeit zwischen den betrachteten Jahren ändern. Da Änderungen zwischen den INVEKOS-Kategorien eher gering ausfallen und kein Cluster nur durch eine INVEKOS-Kategorie allein ausreichend beschrieben wird, wurde eine Region über alle betrachteten Jahre immer demselben Cluster zugeordnet. Mit einer höheren Anzahl an Clustern könnte hier zwar eine feinere Unterteilung erreicht werden, die Zusammensetzung der einzelnen Regionen aus landwirtschaftlicher Nutzung und sonstigen Flächen scheint aber bereits in den sechs Clustern sehr gut wiedergespiegelt zu werden. Vor allem Cluster 2 und 6 erlauben eine gute Trennung in Regionen mit hohen Anteilen an landwirtschaftlich genutzten Flächen und Regionen mit kaum landwirtschaftlich genutzten Flächen, wenn man von Landnutzungskategorien ausgeht, die eindeutig der landwirtschaftlichen Nutzung zuordenbar sind (Getreide, Mais, andere Ackerkulturen, nicht aber Grünland, Almen).

Im Gegensatz zur Studie von Clermont et al. (2015) wurden die Winterverlustdaten auf Gemeindeebene direkt von den Imkern erhoben. Da es sich dabei um kein vorgegebenes Studiendesign, sondern um freiwillige Teilnahmen handelte, sind GPS-Koordinaten der Bienenstände – wie etwa in Modul (3b) des vorliegenden Endberichts – nicht bekannt. Durch diese Erhebung konnte aber eine große Anzahl an Bienenständen erfasst und damit auch eine gute räumliche Abdeckung über Österreich erreicht werden. Hinsichtlich der Landnutzungskategorien sind keine exakten Aussagen für einzelne Bienenstände durch die weitergefassten Regionen, die nicht zwingend mit dem Flugradius des jeweiligen Bienenstandes übereinstimmen, möglich. Die gewählte Anzahl der Cluster

zeigt aber Gebiete mit deutlichen Unterschieden in der Zusammensetzung der Landnutzungsflächen. Städtische Gebiete können demnach gut von beispielsweise Almgebieten abgegrenzt werden. Wäre ein deutlicher Einfluss von bebauten Flächen bzw. Almen gegeben, sollte dieser demnach auch in dieser Betrachtung sichtbar werden.

Alaux et al. (2016) diskutieren ebenfalls die Auswirkung von unterschiedlichen Lebensräumen auf die erfolgreiche Überwinterung von Bienenvölkern. Dazu wurde eine Fall-Kontroll-Studie mit acht Bienenständen in naturnahen Habitaten und zehn Bienenständen in Habitaten, die mit trachtliefernden Zwischenfrüchten angereichert wurden, durchgeführt. Mit Generalisierten Gemischten Linearen Modellen wurde der Zusammenhang von Habitat, physiologischen Merkmalen (Körperfettanteil, Vitellogenine), Brutraum, Varroabefall und Winterverlusten untersucht. In weiterer Folge wurden indirekte Zusammenhänge mittels einer Pfadanalyse näher geprüft. Dabei konnte festgestellt werden, dass die untersuchten Landnutzungen die Winterverluste nicht direkt beeinflussen. Jedoch führen sowohl naturnahe Lebensräume als auch die angereicherten Landschaften zu einer erhöhten Bienengesundheit, die wiederum zu einer erhöhten Chance für eine erfolgreiche Überwinterung führt. Unabhängig von den untersuchten physiologischen Merkmalen liefert der Grad des Varroabefalls einen signifikanten Risikofaktor für die erfolgreiche Überwinterung. So wird in Alaux et al. (2016) auch diskutiert, dass die Umgebung und damit das Nahrungsangebot vor der Einwinterung eine entscheidende Grundlage für eine erfolgreiche Überwinterung darstellt, andere Faktoren vor oder während des Winters aber trotzdem zu Winterverlusten führen können. Im Gegensatz zu Alaux et al. (2016) basieren die Daten der vorliegenden Analysen auf freiwilligen Angaben von österreichischen Imkern. Dadurch kann eine deutlich höhere Anzahl an Bienenständen für die Analyse herangezogen werden, ein striktes Studiendesign hinsichtlich der Lebensräume der einzelnen Bienenstände ist jedoch nicht möglich. Bereits in dieser kontrollierten Studie von Alaux et al. (2016), beschränkt auf zwei Habitatmodelle, zeigt sich die komplexe Zusammensetzung von Einflussfaktoren auf die Winterverluste, die auch die vorliegenden Ergebnisse vermuten lassen.

Neben den Landnutzungsarten wurde aufgrund dieser komplexen Zusammenhänge versucht, Störfaktoren in den vorliegenden Modellen zu berücksichtigen. Dazu wurden zusätzlich erhobene oder bereits zur Verfügung stehende Faktoren, wie Betriebsgröße, Gemeindegröße und Wetterparameter als mögliche Risikofaktoren für Winterverluste in die Analyse einbezogen. Informationen zum Gesundheitsstatus – wie beispielsweise in der Studie von Alaux et al. (2016) – lagen nicht vor oder wurden nur für ausgewählte Bienenvölker erhoben (siehe Modul 3).

In allen Modellen hat sich gezeigt, dass die erwartete Winterverlustrate mit zunehmender Anzahl an eingewinterten Völkern unabhängig von der Clusterzugehörigkeit abnimmt. Dies ließe sich dadurch erklären, dass Imker mit einer größeren Anzahl an Völkern zu den Erfahreneren zählen und durch gutes Betriebsmanagement höheren Winterverlusten entgegengewirkt werden kann.

Wie in Switanek et al. (2016) gezeigt wird (siehe dazu auch Modul 2a), spielen Niederschlag, Temperatur und auch die Seehöhe vor und während der Überwinterung von Bienenvölkern eine signifikante Rolle für das erfolgreiche Überwintern eines Bienenvolkes. Anders als in der Arbeit von Switanek et al. (2016) erfolgt die Betrachtung der Klimafaktoren in der vorliegenden Analyse eingeschränkt. Basierend auf dem im Switanek et al. (2016) definierten 5x5 km-Raster werden Monatsdurchschnittswerte für die definierten Regionen aggregiert. Als mögliche Einflussgrößen wurden nur ausgewählte Monate in die Analyse miteinbezogen. Die ausgewählten Monate wurden dabei als besonders relevant für das Überwintern von Bienenvölkern angesehen. Kälteeinbrüche im Februar können besonders negative Auswirkungen auf die Mortalität haben, da die Brutzeit bereits begonnen hat und erste Futterquellen bereits verfügbar sind (Switanek et al. 2016).

Ein signifikanter Einfluss der betrachteten Klimaparameter konnte für die Einzelmodelle der Jahre 2010/11, 2011/12 und 2013/14 identifiziert werden. Zwischen Seehöhe und Wintersterblichkeit

konnte für die Einzelmodelle 2011/12 und 2014/15 ein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu beachten, dass zwischen Seehöhe und vor allem der Temperatur eine natürliche Abhängigkeit besteht und signifikante Auswirkungen des einen Faktors eventuell auf den anderen zurückzuführen sind.

Beim Gesamtmodell standen nicht ausreichend Informationen über die Wetterbedingungen zur Verfügung, weshalb nur die Seehöhe als mögliche Störgröße berücksichtigt wurde. Die Seehöhe zeigte zusätzlich zur Clusterzugehörigkeit, Betriebsgröße und dem Jahreseffekt keinen signifikanten Einfluss auf die Wintersterblichkeit. Dieses gegensätzliche Ergebnis zur Arbeit von Switanek et al. (2016) kann im Wesentlichen durch zwei Ursachen erklärt werden. Einerseits ist die Angabe der Seehöhe in der vorliegenden Analyse durch Betrachtung von Regionen grober. Andererseits besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen Landnutzung und Seehöhe einer Region. So liegt beispielsweise die mediane Seehöhe in Cluster 6, der überwiegend in Tirol und Vorarlberg zu finden ist, bei 446,5 Metern. Im Vergleich dazu umfassen die Cluster 2, 3 und 5 Regionen mit einer medianen Seehöhe von 225, 247 und 253 Metern. Cluster 4, der die meisten Regionen umfasst, weist eine mediane Seehöhe von 333 Metern auf. Nicht nur die Seehöhe, auch das vorherrschende Klima ist ausschlaggebend für die Landnutzung. Wie in Switanek et al. (2016) diskutiert, kann der Zusammenhang von Klima und Wintersterblichkeit Ausdruck unterschiedlicher nicht untersuchter Ursachen wie zum Beispiel Krankheiten oder Populationsentwicklung der Bienenvölker und damit auch der Varroamilbe sein, die in direktem oder indirektem Zusammenhang mit den Klimaparametern stehen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Winterverluste starken jährlichen Schwankungen unterliegen und auch unterschiedliche Aussagen über die betrachteten Cluster – abhängig vom Jahr – getroffen werden können. Cluster 6 (mit überwiegend naturnahen Flächen, Nadelwald und Almen) liefert mit Ausnahme der Jahre 2010/11 und 2012/13 die geringsten erwarteten Verlustwahrscheinlichkeiten je Cluster (Gesamtmodell). Die Ergebnisse lassen auch tendenziell höhere Verluste für die Cluster 3 (bebaute Flächen, Laubwald, Nadelwald) und 2 (Getreide exkl. Mais) vermuten. Das zeigt sich beim Gesamtmodell vor allem in den letzten drei Jahren (2013/14, 2014/15, 2015/16).

Tabelle 2.3: Geschätzte Modellkoeffizienten für die einjährigen Modelle.

Einflussfaktoren	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16
Intercept	-1,585 *	-0,579 ·	-2,252 *	-2,618 *	-0,322 *	-3,035 *
Clusterzugehörigkeit (Referenz: Cluster 4)						
Cluster 1	0,917 *	0,618 *			0,794	-0,077
Cluster 2	-0,358 *	0,406 *			0,162	0,615 *
Cluster 3	-0,415 *	0,464 *			0,391 *	0,636 *
Cluster 5	0,267 *	0,358 *			-0,119	0,527 *
Cluster 6	0,826 *	-0,511 ·			0,175	-0,195
Betriebsgröße (Anzahl eingewinterte Völker)	-0,158 *				-0,163 *	-0,111 *
Seehöhe		-3,482 *			-2,708 *	
Gemeindegröße (Referenz: sehr klein)						
klein						
mittel						
groß						
Niederschlag Sept. (skaliert)	-0,086 *	0,256 *			n.v.	n.v.
Niederschlag Feb. (skaliert)	-0,140 *				n.v.	n.v.
Temperatur Sept. (skaliert)					n.v.	n.v.
Temperatur Feb. (skaliert)	0,245 *			0,528 *	n.v.	n.v.
Wanderimkerei (Referenz: Ja)	n.v.					
Nein		0,437 *	0,300 *			
Keine Angabe		0,099	0,577 *			
Zufälliger Effekt: Betrieb (Varianzkomponente)	n.b.	2,839	2,355	2,155	2,477	1,779

n.b. ... nicht berücksichtigt; n.v. ... nicht vorhanden; *... sign. zum Niveau 0,05; ·... sign. zum Niveau 0,1

Tabelle 2.4: Geschätzte Modellkoeffizienten für das Gesamtmodell.

Einflussfaktoren	Gesamt
Intercept	-1,967 *
Clusterzugehörigkeit (Referenz: Cluster 4)	
Cluster 1	1,698
Cluster 2	-0,086
Cluster 3	-0,238
Cluster 5	0,418
Cluster 6	0,734 *
Betriebsgröße (Anzahl eingewinterte Völker)	-0,109 *
Seehöhe	
Gemeindegröße (Referenz: sehr klein)	
klein	
mittel	
groß	
Jahr der Einwinterung (Referenz: 2010/11)	
2011/12	0,521 *
2012/13	0,036
2013/14	-0,638 *
2014/15	0,756 *
2015/16	-1,184 *
Interaktion Cluster/Jahr (Referenz: 2010/11; Cluster 4)	
2011/12; Cluster 1	-1,079
2011/12; Cluster 2	0,447 *
2011/12; Cluster 3	0,690 *
2011/12; Cluster 5	-0,007
2011/12; Cluster 6	-1,183 *
2012/13; Cluster 1	-1,888
2012/13; Cluster 2	-0,078
2012/13; Cluster 3	0,520
2012/13; Cluster 5	-0,633 *
2012/13; Cluster 6	-0,841 *
2013/14; Cluster 1	-1,056
2013/14; Cluster 2	0,827 *
2013/14; Cluster 3	0,819 *
2013/14; Cluster 5	-0,456
2013/14; Cluster 6	-1,204 *
2014/15; Cluster 1	-0,540
2014/15; Cluster 2	0,502 *
2014/15; Cluster 3	0,889 *
2014/15; Cluster 5	-0,323
2014/15; Cluster 6	-0,875 *
2015/16; Cluster 1	-1,715
2015/16; Cluster 2	0,729 *
2015/16; Cluster 3	0,881 *
2015/16; Cluster 5	0,125
2015/16; Cluster 6	-0,938 *
Zufälliger Effekt: ID der Meldung (Varianzkomponente)	2,357

*... sign. zum Niveau 0,05; *... sign. zum Niveau 0,1

(3) Ursachenforschung zu Völker- und Bienenverlusten

Wegweiser

Modul 3a: Beobachtungsstudie

Aufbau der Studie

- Aufteilung der Beobachtungstände: Tabelle 3.2
- Zeitpunkt der Standbesuche: Kapitel 3a.3.4.1
- Probenentnahme: Kapitel 3a.4.3

Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten

- Material und Methoden: Tabelle 3.6
- Ergebnisse: Tabelle 3.13 und 3.14

Varroabefall und Winterverluste

- Material und Methoden: Kapitel 3a.3.7.1
- Ergebnisse Höhe Varroabefall: Tabelle 3.20 und 3.21
- Ergebnisse Zusammenhang Winterverluste: Abbildungen 3.44 und 3.46

Winterverluste

- Material und Methoden: Kapitel 3a.3.8.3
- Ergebnisse Höhe Winterverluste: Tabelle 3.22
- Ergebnisse Faktoren für Winterverluste: INFOBOX

Modul 3b: Posthoc-Studie

Aufbau der Studie

- Auswahl der Völker: Kapitel 3b.2.2.1

Krankheiten

- Material und Methoden: Kapitel 3b.2.2.3
- Ergebnisse Prävalenz: Tabelle 3.38
- Ergebnisse Viren: Tabelle 3.39
- Ergebnisse Nosema: Tabelle 3.37

Pestizide

- Material und Methoden: Kapitel 3b.2.4
- Definition Pestizide: INFOBOX
- Ergebnisse gefundene Pestizide: Tabelle 3.40

Winterverluste

- Ergebnisse Krankheiten: Tabellen 3.37, 3.38, 3.39,
- Ergebnisse Pestizide: Tabelle 3.42
- Ergebnisse Faktoren für Winterverluste: INFOBOX

(3a) Basis-Surveillance-Programm zur Erfassung von Völkerverlusten während der Überwinterung und zum Vorkommen bzw. zur klinischen Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten („Beobachtungsstudie“)

3a.1 Einleitung

Die Erforschung der Ursachen von Völker- und Bienenverlusten ist für die nachhaltige Sicherung des Bestandes an Honigbienen unbedingt erforderlich. Nur die Kenntnis der zugrundeliegenden Parasiten und Krankheitserreger und anderer Schadfaktoren ermöglicht die Entwicklung von Gegenstrategien und Maßnahmen zur Verbesserung der derzeit kritischen Lage (Brodtschneider & Crailsheim, 2013). Dass Handlungs- und Aufklärungsbedarf besteht, zeigte die Überwinterungsperiode 2014/15, in der eine Wintersterblichkeit von 28,5% verzeichnet wurde (Universität Graz, 2015; siehe auch Modul 1). Diese war mehr als doppelt so hoch wie die Winterverluste von 12,8% (95% Konfidenzintervall: 11,7-14,0%) in der Überwinterungsperiode 2013/2014 (Brodtschneider et al., 2015).

Die Honigbiene ist mit einer Vielzahl von Krankheitserregern und Parasiten konfrontiert. Ein besonderes Problem stellt die seit den 1980er Jahren in Österreich auftretende Milbe *Varroa destructor* dar, die einen Wirtswechsel von der Indischen Honigbiene (*Apis cerana*) auf die Westliche Honigbiene (*Apis mellifera*) vollzogen hat und heute in allen heimischen Bienenvölkern zu finden ist (Rosenkranz et al., 2010). Dieser Ektoparasit befällt die Brut der Honigbiene sowie adulte Bienen und schädigt vor allem die Bienenbrut. Durch den Saugvorgang der Milbe wird Hämolymphe entzogen und es können auch Viren übertragen werden (Bowen-Walker et al., 1999; Chen et al., 2005; Gisder et al., 2009). Ein zu hoher Varroabefall führt zum Absterben der Bienenvölker. Das klinische Bild dieser Parasitose wird als Varroose bezeichnet. In Österreich ist die Varroose laut Bienenseuchengesetz 1988 i.d.g.F. bei seuchenhaftem Auftreten – das heißt, mehr als 30% der Völker eines Standes sind abgestorben oder vom Absterben bedroht –, der zuständigen Bezirksverwaltungsbehörde anzuzeigen.

Neben einer Vielzahl von Viren (zum Beispiel: DWV, ABPV, CBPV, BQCV, SBV) gibt es auch bakterielle Krankheitserreger der Honigbiene, wie zum Beispiel *Paenibacillus larvae* (Erreger der Amerikanischen Faulbrut; Genersch, 2010) oder *Melissococcus plutonius* (Erreger der Europäischen Faulbrut; Forsgren, 2010). Weitere bekannte, durch Pilze hervorgerufene Infektionskrankheiten von Bienenlarven sind die Kalkbrut (*Ascosphaera apis*) und die Steinbrut (*Aspergillus flavus*). *Nosema*, der Erreger der Nosemose, kommt in Österreich seit langer Zeit mit der Art *Nosema apis* vor. Diese wurde aber in den letzten Jahren in Österreich nahezu vollständig von der Art *Nosema ceranae* verdrängt, die durch Wirtswechsel von *Apis cerana* auf *Apis mellifera* und globale Verschleppung heute weltweit verbreitet ist (Higes et al., 2006; Klee et al., 2007). Als neue Bedrohung steht der Kleine Bienenstockkäfer (*Aethina tumida*) nach der im Jahr 2014 in Süditalien entdeckten Einschleppung in Europa vor der Tür (Palmeri et al., 2015; Mutinelli et al., 2014; EFSA, 2015a, 2015b).

Zum Vorkommen der genannten Erreger und Parasiten sowie zu ihrer Prävalenz auf Volks- und Standebene gibt es für Österreich bisher keine systematischen Untersuchungen.

3a.2 Ziele

Ziel des Moduls 3a war es, an einer Stichprobe von rund 200 über Österreich verteilten Bienenständen (= „Beobachtungsstände“) die Völkerverluste während der Überwinterung 2015/16 zu

erfassen und Informationen zur klinischen Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten zu gewinnen.

Gleichzeitig wurden im Zuge der Völkerinspektionen Bienen- und Bienenbrotproben gezogen, um mit Hilfe von nachfolgenden (= Posthoc) Untersuchungen von Probenmaterial aus über den Winter abgestorbenen Völkern – im Vergleich zu überlebenden Bienenvölkern – kritische Überlebensparameter (Krankheitserreger, Parasiten, mögliche Rückstände bienengefährlicher Wirkstoffe) zu identifizieren. Diese Arbeiten wurden im Projektmodul 3b „Ursachenforschung zur Wintersterblichkeit durch Posthoc-Untersuchungen ausgewählter Proben auf Bienengesundheit und eine vorangegangene Exposition gegenüber bienengefährlichen Schadstoffen aus unterschiedlichen Quellen“ durchgeführt.

Für die Durchführung sah Modul 3a eine weitgehende Implementierung der „Guidelines for a pilot surveillance project on honeybee colony losses“ des EU Reference Laboratory for honeybee health (2011) in Österreich vor. Diese bildeten die Grundlage für das in 17 EU-Ländern in den Jahren 2012 bis 2014 durchgeführte Surveillance-Programm EPILOBEE (Chauzat et al. 2015, Laurent et al. 2016).

Die in diesem Modul erzielten Ergebnisse werden nach Fertigstellung des Abschlussberichts dem EU-Referenzlabor für Bienengesundheit in Berichtsform zur Verfügung gestellt.

Ziele des EU-Surveillance Programmes waren:

- Abschätzung der Völkerverluste während der Überwinterung bzw. während der Bienenaison
- Abschätzung des Befalls der Bienenstände und Völker mit dem Akute Bienenparalyse-Virus (ABPV) und Flügeldeformations-Virus (DWV)
- Abschätzung der klinischen Prävalenz der folgenden wichtigen Bienenkrankheiten vor dem Winter, nach dem Winter und während der Bienenaison:
 - Amerikanische Faulbrut
 - Europäische Faulbrut
 - Varroose
 - Nosemose
 - Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV)
- Sicherstellung einer Frühwarnung bei Entdeckung von *Aethina tumida* und *Tropilaelaps* spp.
- Abschätzung des Varroabefallsgrades vor der Überwinterung
- Abschätzung der ABPV- und DWV-Infektionsrate durch PCR-Untersuchungen vor dem Winter und Überprüfung, ob die beiden Viren als ursächliche Risikofaktoren für die Wintersterblichkeit bzw. Winterschäden angesehen werden können.

Der für das Submodul 3a im Projekt „Zukunft Biene“ vorgesehene Parameterumfang war analog zum laufenden EU-Surveillance-Programm angesetzt. Das heißt, es erfolgte primär die Erfassung von Völkerverlusten und eine Untersuchung auf klinische Symptome an Völkern im Zuge von drei Standbesuchen (Sommer und Herbst 2015, Frühjahr 2016). Probenahmen und Laboruntersuchungen erfolgten gemäß Surveillance-Plan sowie bei unklarer Symptomatik oder in Anlassfällen („Verdachtsproben“).

Generell vorgesehen war eine Basisdatenerfassung der folgenden Parameter:

Bienenstand, Lage (Verortung: Gemeinde/Katastralgemeinde/GPS-Daten; Seehöhe), Anzahl Völker am Stand, Volksstärke, Anzahl abgestorbener und geschädigter Völker zum Stichtag, Betriebsart (Honig-, Jungvolk-, Königinnenproduktion, etc.), Wander-/Standimkerei, betriebstechnische Besonderheiten, durchgeführte Maßnahmen zur Reduktion des Varroabefalles (Art der biotechnischen Methode, Anwendung von Tierarzneimitteln: Produktname, Wirkstoff, Dosierung, Zeitpunkt, Anzahl, Ergebnis, etc.) bzw. Maßnahmen zur Reduktion anderer Schädlinge (zum Beispiel Ameisen, Wachsmotten), Art der Landnutzung im nächsten Umfeld und anderes.

3a.3 Material und Methoden

3a.3.1 Auswahl der Bienenstände

3a.3.1.1 Grundlage der Auswahl

Ziel der Planung waren 200 Beobachtungsstände. Diese Zahl orientierte sich an den Empfehlungen der „Guidelines for a pilot surveillance project on honeybee colony losses“ (EU Reference Laboratory for Honeybee Health, 2011). Bei einer erwarteten Prävalenz klinischer Krankheits-symptome von 15% der Gesamtpopulation einer Region und einer Genauigkeit von 5% ergaben sich laut diesen Empfehlungen rein rechnerisch 193 Bienenstände pro geografischer Einheit als Zielgröße. Die von uns geplante Anzahl von 200 Beobachtungsständen lag somit knapp über diesem Wert.

Die 200 zu beprobenden Bienenstände wurden in zwei Gruppen unterteilt: 150 Bienenstände sollten eine räumliche Verteilung der Imkereibetriebe über Österreich abbilden (Basisgruppe). Die übrigen 50 Bienenstände sollten in einer Schwerpunktgruppe definierte Spezialfälle zusammenfassen (Gebiete mit Vergiftungsverdacht und Winterverlusten, Großimker, Stadtimker).

Die Teilnahme am Surveillance-Programm war freiwillig. Als Aufwandsentschädigung für die Teilnahme, die Bereitstellung der Völker und den mit den drei Standbesuchen verbundenen zeitlichen Mehraufwand, war ein einmaliger Pauschalbetrag von € 200.- pro ImkerIn vorgesehen.

3a.3.1.2 Anzahl kontrollierter Bienenvölker pro Bienenstand

Die Zahl der kontrollierten Völker („Fokusvölker“) eines Bienenstandes orientierte sich an den Empfehlungen der „Guidelines for a pilot surveillance project on honeybee colony losses“ (EU Reference Laboratory for honeybee health, 2011), die einen Bezug zur erwarteten Prävalenz herstellen (siehe Tabelle 3.1). Die klinische Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten variiert sowohl zwischen verschiedenen Krankheiten als auch zwischen unterschiedlichen Regionen Europas stark (Chauzat et al., 2015).

Tabelle 3.1: Beprobungsplan zum Entdecken einer Krankheits-Prävalenz von 10% auf einem Bienenstand (Berechnungen des EU Reference Laboratory for honeybee health; E-Mail vom 18.02.2015).

Gesamtanzahl der Völker am beprobten Bienenstand	Bis 11	12	13	14; 15	16; 17	18; 19	20; 21	22 - 25	26
Anzahl der zu inspizierenden Völker	Alle	11	12	13	14	15	16	17	18
Gesamtanzahl der Völker am beprobten Bienenstand	27 - 30	31 - 35	36 - 40	41 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 90	91 - 110	111 - 160
Anzahl der zu inspizierenden Völker	19	20	21	22	23	24	25	26	27

3a.3.1.3 Basisgruppe: Zufallsauswahl der ImkerInnen

Da es in Österreich zum Zeitpunkt der Projektplanung und -durchführung noch keinen Bienenstandskataster gab, war eine zufällige Auswahl der Bienenstände nicht möglich. Als Alternative und unter Berücksichtigung dazu eingebrachter Ideen seitens einiger Landesverbände wurde die Auswahl der StudienteilnehmerInnen über ein Kombinationsmodell erzeugt.

Auf Basis der Gesamtstatistik 2013 der Mitgliederzahlen des Österreichischen Imkerbundes (Österreichischer Imkerbund, 2013) wurde für jedes Bundesland die laut Plan erforderliche Anzahl an Beobachtungsständen für die Basisgruppe ermittelt (Tabelle 3.2, Abbildung 3.1).

Aussagekräftiger wäre zwar die Anzahl der Bienenvölker pro Bundesland – aufgegliedert nach Bezirken – gewesen. Da diese Daten aber aus den Bundesländern Oberösterreich, Steiermark, Wien und Burgenland fehlten, erfolgte die Auswahl auf Basis der Mitgliederzahlen.

Ausgehend von Tabelle 3.2 wurde die errechnete Zahl an Beobachtungsbetrieben pro Bundesland auf Bezirksebene ein weiteres Mal aufgeteilt. Als Schlüssel dafür dienten die von den meisten Landesverbänden für das Projekt „Zukunft Biene“ eigens bereitgestellten Angaben zu den Mitgliederzahlen nach Bezirken. Die Angaben zu Mitgliederzahlen nach Bezirken aus dem Burgenland und Wien waren nicht verfügbar. Die Auswahl erfolgte in diesen zwei Bundesländern wie in Tabelle 3.3 beschrieben.

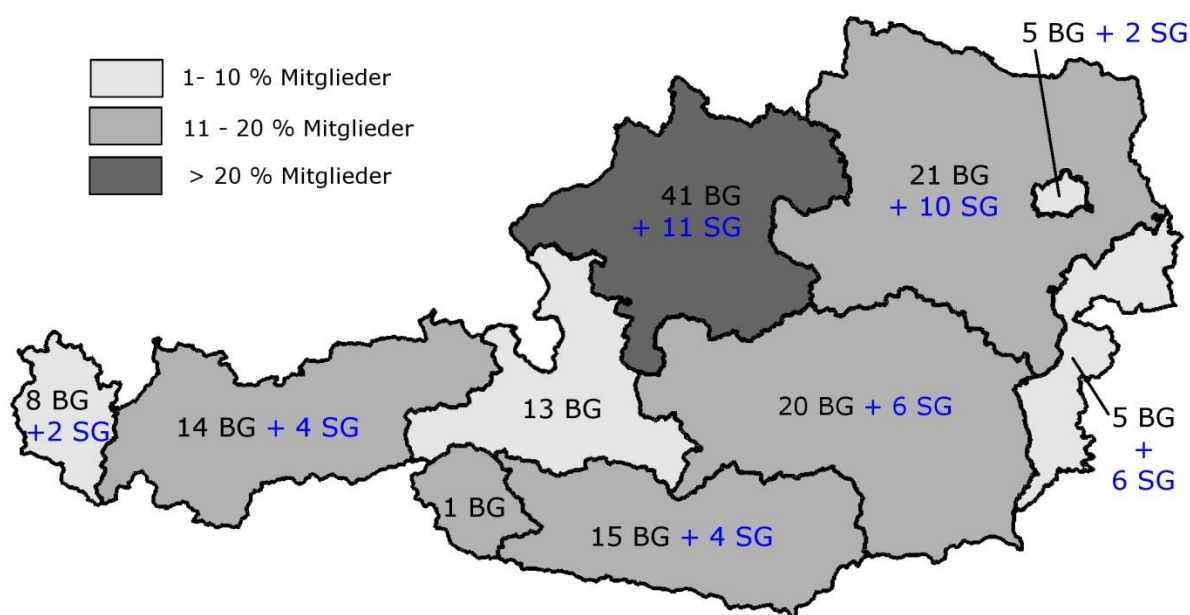


Abbildung 3.1: Anzahl der Bienenstände (N= 188) der Beobachtungsstudie in den einzelnen Bundesländern, von denen Überwinterungsergebnisse aus dem dritten Standbesuch vorliegen. Diese sind unterteilt in Stände der Basisgruppe (143 Stände = BG) und Stände der Schwerpunktgruppe (45 Stände = SG). Die Grau-Schattierungen (siehe Legende links oben) geben an, wie hoch der Anteil (%) der Mitglieder im jeweiligen Bundesland an der Gesamtmitgliederanzahl des Österreichischen Imkerbundes ist (Österreichischer Imkerbund, 2013).

Bei der Planung der Beobachtungsstände konnten die Mitglieder des Österreichischen Erwerbsimkerbundes (OEIB) nicht berücksichtigt werden, da keine öffentlichen Daten zur Mitglieder- und Völkerzahl nach Bundesländern bzw. nach Bezirken verfügbar waren. Diese Daten werden vom OEIB nicht erhoben, weil praktisch alle Erwerbsimkereibetriebe vom Betriebsstandort aus bezirks-

und bundesländerübergreifend aktiv sind und eine große Zahl an Bienenständen auch als Wanderstände geführt werden. Im Jahr 2012 wurden laut Mitteilung des OEIB 69.900 Bienenvölker von 285 Mitgliedern betreut. Um diese Gruppe der Erwerbsimker (über 50 Bienenvölker) dennoch repräsentativ einbinden zu können, wurde sie in die Schwerpunktgruppe aufgenommen.

Tabelle 3.2: Anzahl der Beobachtungsstände in allen neun Bundesländern am Beginn der Studie (Planungsziel: 200 Stände) und Anzahl der Stände, die bis zur Auswinterung teilgenommen haben (188 Stände). Die Aufteilung der Basisgruppe erfolgte anhand der Mitgliederzahlen des österreichischen Imkerbundes (Österreichischer Imkerbund, 2013). Dabei wurde für jedes Bundesland eine Minimalanzahl von fünf Ständen für die Basisgruppe ausgewählt. Hinzu kamen noch die Stände der Schwerpunktgruppe. Mit 7 bzw. 10 in der Studie vertretenen Ständen wurde die geringste Zahl in Wien bzw. in Vorarlberg erreicht.

Landesverband	Mitglieder [Anzahl]	Mitglieder [%]	Planung (Endstand 22.05.2015)		Stände mit Überwinterungsergebnissen	
			Stände Basisgruppe [Anzahl Stände]	Schwerpunktgruppe [Anzahl Stände]	Stände Basisgruppe [Anzahl Stände]	Schwerpunktgruppe [Anzahl Stände]
Burgenland	556	2,2	5	6	5	6
Kärnten	2828	11,2	17	5	15	4
NÖ	3939	15,6	23	10	21	10
OÖ	7150	28,4	43	11	41*	11
Salzburg	2378	9,4	14	0	13	0
Steiermark	3666	14,5	22	6	20	6
Tirol	2627	10,4	16	5	15*	4
Vorarlberg	1403	5,6	8	2	8**	2
Wien	660	2,6	5	2	5	2
Gesamt	25207	100,0	153	47	143	45
			200		188	

* bei je einem Imker: Übermittlung der Überwinterungsergebnisse telefonisch/schriftlich, kein dritter Besuch

** bei zwei Imkern: Übermittlung der Überwinterungsergebnisse telefonisch/schriftlich, kein dritter Besuch

Um die ImkerInnen aus den einzelnen Bezirken auszuwählen, sollte idealerweise eine Zufallsauswahl anhand der Mitgliederlisten erfolgen. Da uns diese nicht zugänglich waren, griffen wir einen Vorschlag des niederösterreichischen Landesverbandes auf. Wir gaben den einzelnen Landesverbänden bekannt, wie viele Imker aus den jeweiligen Bezirken an der Beobachtungsstudie teilnehmen sollten. Basierend auf diesen Angaben, wählte der jeweilige Landesverband aus den Mitgliederlisten die entsprechende Zahl an Betrieben aus, nahm mit diesen Kontakt auf und eruierte, ob sie der Teilnahme an diesem Forschungsprogramm zustimmten. War eine Teilnahme nicht möglich bzw. nicht erwünscht, wurde vom Landesverband ein Ersatzkandidat gesucht. Am Ende wurde uns vom Landesverband eine Liste mit den Daten der teilnehmenden ImkerInnen (Name, Adresse, Telefonnummer, E-Mail-Adresse) und der Lage ihrer Bienenstände (Ort, Bezirk) übermittelt. Durch diese Art der Auswahl und Kontaktaufnahme über den jeweiligen Landesverband erhielten wir nur die Kontaktdaten jener ImkerInnen, die vorher einer Teilnahme an der

Studie und damit einer Weitergabe ihrer Daten zugestimmt hatten. Der Datenschutz der Verbandsmitglieder blieb somit gewahrt.

Als Folge dieser Vorgangsweise hatten wir keine Kontrolle über den Auswahlprozess, auch wenn wir die Landesverbände auf die Notwendigkeit einer Zufallsauswahl aufmerksam gemacht hatten. Um ein Mindestmaß an Zufälligkeit zu gewährleisten, hatten wir die Vereine gebeten, Mitglieder anhand von Postleitzahlen (PLZ) auszuwählen, die von uns übermittelt wurden. Die PLZ wählten wir mit Hilfe eines Zufallsgenerators (Bedingung: „Ziehen ohne Zurücklegen“) aus. Dies hat den Vorteil, dass anhand der Adresse festgestellt werden kann, ob die Auswahl wirklich nach den gewünschten Kriterien stattfand. Der Nachteil ist, dass die PLZ der Wohnadresse nicht zwangsläufig mit der PLZ des Bienenstandes übereinstimmen muss und wir daher keine räumliche Auswahl anhand der Verteilung der Bienenstände vornehmen konnten, sondern die Auswahl anhand der Wohnorte der ImkerInnen erfolgte. Aus von den Landesverbänden übermittelten Datenlisten war jedoch ersichtlich, dass in den meisten Fällen die PLZ des Bienenstandes mit der PLZ der Wohnadresse übereinstimmte. Drei Landesverbänden war es nicht möglich, die Auswahl nach dem von uns vorgeschlagenen Zufallsprinzip durchzuführen (siehe Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3: Auswahlverfahren für die in der Basisgruppe teilnehmenden ImkerInnen in den unterschiedlichen Bundesländern. Die zur Auswahl verwendeten Postleitzahlen (PLZ) waren die PLZ des Wohnorts (= Betriebsstandort).

Landesverband	Auswahlprinzip
Burgenland	PLZ-System*
Kärnten	PLZ-System
NÖ	PLZ-System
OÖ	Aktive Werbung des Landesverbandes für die Teilnahme an der Studie. Wenn sich in einem Bezirk mehr ImkerInnen als benötigt gemeldet hatten, wurde eine Zufallsauswahl angewendet.
Salzburg	PLZ-System
Steiermark	Zufallsauswahl des Landesverbandes ohne PLZ-System
Tirol	PLZ-System
Vorarlberg	PLZ-System
Wien	Email-Aufruf des Landesverbandes zur freiwilligen Teilnahme der ImkerInnen

* für das Burgenland lagen keine nach Bezirken geordneten Mitgliederzahlen vor. Die fünf Stände der Basisgruppe wurden nach dem PLZ-System so gewählt, dass in jedem Bezirk maximal ein Beobachtungsstand lag.

Gegenüber der ursprünglichen Planung war es ebenfalls nicht möglich, die Häufigkeit der verschiedenen Betriebsgrößen in der Auswahl zu berücksichtigen, da nicht für jedes Bundesland Daten hierzu verfügbar waren. Die ImkerInnenauswahl wurde jedoch in einer zweiten Runde entsprechend nachjustiert, wenn uns aus einer Region eine Auswahl an freiwilligen Meldungen vorlag. In solchen Fällen wurden KleinimkerInnen mit zehn Völkern oder weniger bevorzugt in die Studie aufgenommen, da in der Stichprobe der Anteil dieser Betriebsgrößengruppe unterrepräsentiert war (siehe Kapitel 3a.4.1.1).

3a.3.1.4 Schwerpunktgruppe: Auswahl der ImkerInnen

Die 50 Bienenstände der Schwerpunktgruppe umfassten Imkereien, die in die folgenden Kategorien einzuteilen waren:

- Imkerbetriebe aus Gebieten mit hohen Winterverlusten
- Imkerbetriebe aus Gebieten mit Völkerverlusten mit Vergiftungsverdacht
- Imkerliche Betriebe im Neben- oder Vollerwerb (> 50 Völker)
- Imkerbetriebe im städtischen Raum.

Da diese Gruppe Imkerbetriebe aus definierten Gegenden bzw. Imkerbetriebe mit speziellen Eigenschaften enthielt, und uns keine vollständige Liste mit Imkerbetrieben mit diesen Eigenschaften vorlag, musste die Auswahl mit einem nicht zufälligen Verfahren getroffen werden. Wir kontaktierten daher aktiv ImkerInnen, mit denen die AGES schon in der Vergangenheit Kontakt aufgrund von hohen Winterverlusten oder Vergiftungsverdachtsmeldungen hatte. Außerdem gingen wir Zeitungsmeldungen über hohe Winterverluste in der Saison 2014/15 nach und baten Vereine in diesen Gebieten um Nennung möglicher TeilnehmerInnen. Des Weiteren warben wir auf der Fachtagung des Österreichischen Erwerbsimkerbundes im Februar 2015 in Graz um teilnehmende ImkerInnen und kontaktierten imkerliche Großbetriebe nach entsprechender Recherche.

3a.3.1.5 Absagen von ImkerInnen

Mit dem Stichtag 22. Mai 2015 standen die 200 TeilnehmerInnen für die Beobachtungsstudie fest (Tabelle 3.2). Drei ImkerInnen sagten nach diesem Stichtag, jedoch noch vor Beginn der Studie, ab. Diese Ausfälle konnten nachbesetzt werden. Weitere sieben ImkerInnen sagten im Verlauf der ersten Probenahme (Zeitraum 01.07.2015 bis 11.08.2015) ab. Diese konnten nicht nachbesetzt werden. Daher konnte der erste Standbesuch nur auf 193 Ständen – statt auf den geplanten 200 Ständen – durchgeführt werden. Zwischen erstem und zweitem Standbesuch fielen drei weitere ImkerInnen aus (Tabelle 3.2), zwischen zweitem und drittem Standbesuch zwei ImkerInnen. Folglich konnte die Beobachtungsstudie mit 188 Bienenständen abgeschlossen werden (Tabelle 3.2, Abbildung 3.1).

Die häufigsten Gründe für diese 15 Absagen waren Gesundheitsprobleme der TeilnehmerInnen (27%) und Probleme mit der zeitlichen Einteilung der Standbesuche (27%). Drei weitere ImkerInnen hatten ihre Bienen verloren (20%), ein Bienenstand lag in einem wegen Amerikanischer Faulbrut errichteten Sperrkreis und ein Imkereibetrieb lehnte aufgrund der jahreszeitlichen Bedingungen eine Probenahme zum Zeitpunkt des zweiten Standbesuches ab. In zwei Fällen sind uns die Gründe für die Absage nicht bekannt gegeben worden.

Vier Imker und Imkerinnen konnten beim dritten Bienenstandbesuch aus terminlichen Gründen nicht vom Probenehmer / der Probenehmerin besucht werden (Tabelle 3.2). Da von diesen ImkerInnen der Großteil der Daten schon vorhanden war, wurden die Winterverluste dieser ImkerInnen per Telefon oder mittels Briefverkehr abgefragt. So konnten diese ImkerInnen in der Analyse der Winterverluste berücksichtigt werden.

3a.3.2 Vorgangsweise beim Auftreten anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten

Im Falle des Auftretens von klinischen Krankheitssymptomen bzw. Parasiten und Schädlingen auf den Beobachtungs-Ständen, die unter die Regelungen des Bienenseuchengesetzes (BSG, BGBl. Nr. 290/1988 idgF) fallen, wurde gemäß den diesbezüglichen Vorgaben des BSG vorgegangen.

3a.3.3 Projektvorbereitung und Schulung der ProbenehmerInnen

Um die Vergleichbarkeit mit dem in 17 Mitgliedstaaten laufenden EU-Surveillance-Programm sicherzustellen, war für die Basisdatenerhebung eine weitestgehend analoge Vorgangsweise betreffend ProbenehmerInnen, Untersuchungsumfang, Probenahmen, Methoden und Datenerfassung unter Abstimmung mit dem EU-Referenzlabor geplant.

Die vom EU-Referenzlabor für dieses Projekt zur Verfügung gestellten Unterlagen waren Grundlage für die Aufzeichnungsformulare zur Datenerfassung. Diese wurden in einem Erhebungsbogen für unsere Fragestellungen und Anforderungen entsprechend adaptiert und umfassten drei Teile:

- Teil 1: Beschreibung des Imkerbetriebs
- Teil 2: Erfassung des Gesundheitszustands der beprobten Bienenvölker
- Teil 3: Ein Probenahme-Protokoll, in das die Probennummern der gezogenen Proben eingetragen wurden. Damit wurde die korrekte Aufnahme und Zuordnung der gezogenen Proben in das AGES-Labor-Informations- und Management-System (LISA) ermöglicht.

Entsprechend den unterschiedlichen Zielsetzungen und Aufgaben der drei Standbesuche wurde der Inhalt der Formulare jeweils angepasst. Da beim ersten Standbesuch eine genaue Basisdatenerfassung stattfand, war dieser Erhebungsbogen besonders ausführlich.

3a.3.3.1 Auswahl der ProbenehmerInnen

Die Durchführung der drei Bienenstandbesuche stützte sich auf den Einsatz von speziell geschulten ProbenehmerInnen, die bereits eine mehrjährige Praxis in Bienenhaltung und gute Kenntnisse zu Bienenkrankheiten und deren Symptombildern hatten.

Für die Auswahl der ProbenehmerInnen wurden die Landesverbände um Übermittlung einer Liste der aktiven amtlichen Bienensachverständigen gebeten. Nach einer geografischen Vorauswahl wurde geeigneten Personen die Teilnahme an diesem Projekt angeboten. Zudem wurde der Bedarf an ProbenehmerInnen für dieses Projekt bei einschlägigen Fachtagungen (zum Beispiel auf der Fachtagung des Österreichischen Erwerbsimkerbundes 2015) bekanntgemacht und für eine Mitwirkung geworben.

Da diese Tätigkeit große Erfahrung in der Beobachtung von Bienenvölkern und dem Erkennen von klinischen Symptomen, sowie Erfahrung bei Bienenstandbesuchen und Probenahmen erforderte, wurden nur angelobte aktive Bienensachverständige (gemäß BSG § 5), ImkermeisterInnen mit Erfahrung bei Bienenstands-Beobachtungen und zwei MitarbeiterInnen der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz der AGES (= nationales Referenzlabor für Bienenkrankheiten) mit entsprechender Erfahrung ausgewählt (Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4: ProbenehmerInnen und deren Herkunfts-Bundesländer. Sofern nicht anders angegeben, sind die ProbenehmerInnen angelobte aktive Bienensachverständige.

Herkunfts-Bundesland	ProbenehmerInnen
Burgenland	Wolfgang Oberrisser
Kärnten	Christa Prader-Schattleitner, Ingo Schwarz, Josef Smoley
Niederösterreich	Anton Jagersberger, Josef Holzweber
Oberösterreich	Anton Reitingner, Ernst Tiefenthaler, Friedrich Gallistl*, Karl Roither, Konrad Sauerschnig

Salzburg	Andreas Freundlinger, Katharina Weiß
Steiermark	Erich Landner, Gerhard Krisper, Josef Ulz, Rudolf Sackl
Tirol	Josef Arnold, Marcel Klotz
Vorarlberg	Helmut Graf, Oswald Dörler
Wien	Hemma Köglberger**, Josef Mayr**

** langjähriger Mitarbeiter des Oberösterreichischen Landesverbandes

♣ langjährige Mitarbeiterin/langjähriger Mitarbeiter der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz (AGES)

3a.3.3.2 Schulung der ProbenehmerInnen

Die Schulungen erfolgten durch Mitarbeiterinnen der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES auf Basis der Unterlagen und Inspektionsprotokolle des EU-Referenzlabors.

Es wurde jeweils eine eintägige Schulung an drei Terminen (Linz 27.5.2015, Graz 28.5.2015 und Salzburg 11.6.2015) abgehalten, wobei sechs bis zehn TeilnehmerInnen pro Termin geschult wurden. Diese kleine Gruppengröße wurde angestrebt, um die praktische Vorgangsweise des Bienenstandbesuches und der Probenahme in einem übersichtlichen Rahmen demonstrieren und individuelle Fragen besprechen zu können. Die Probenehmerin Katharina Weiß wurde aufgrund des plötzlichen Ablebens eines Probenehmers nachträglich nominiert und in einer Einzelschulung von Herrn Freundlinger eingeschult.

Die Schulungsinhalte umfassten die Vorstellung der Beobachtungsstudie (Modul 3a) aus dem Projekt „Zukunft Biene“, den Ablauf des Bienenstandbesuchs und der Probenahme, die Besprechung der Symptome und Krankheitsanzeichen und die Besprechung des Erhebungsbogens. Im Anschluss gab es praktische Übungen am Bienenstand mit einer Demonstration des Ablaufes des Bienenstandbesuchs und der Probenahme, sowie die eingehende Besprechung der zur Verfügung gestellten und zu verwendenden Materialien. Die ProbenehmerInnen erhielten bei der Schulung eine Mappe mit einer detaillierten Arbeitsanweisung für den Standbesuch, sowie ein Kompendium mit Symptombildern der relevanten Bienenkrankheiten. Für während der Standbesuche auftretende Fragen und Probleme stellte die Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz eine telefonische Hotline zur Verfügung.

Zusätzlich erfolgte mit jedem Probenehmer / jeder Probenehmerin vor dem dritten Standbesuch Anfang März 2016 ein telefonisches Schulungsgespräch. In diesem Gespräch wurde der Ablauf der Probenahme wiederholt, auf Besonderheiten der dritten Probenahme hingewiesen und allfällige Fragen angesprochen.

3a.3.4 Standbesuche

Beim ersten Standbesuch wurde die Zahl der Fokusvölker gemäß der Anzahl der Völker am Stand bestimmt (siehe Tabelle 3.1). Die einzelnen Fokusvölker wurden nach einer Liste von Zufallszahlenreihen ausgewählt und derart mit Nummernschildern versehen, dass die Identifizierung über die gesamte Dauer der Beobachtungsperiode (Juli 2015 bis Frühjahr 2016) gewährleistet war.

Bei jedem der insgesamt drei Bienenstandbesuche war das Ausfüllen der Erhebungsbögen, die äußere Inspektion der Fokusvölker, die Durchsicht der Fokusvölker und die Probenahme zu erledigen.

3a.3.4.1 Zeitpunkt der Standbesuche

Es war geplant, die Standbesuche im Juli 2015, im September 2015 und im Frühling 2016 (Salweidenblüte) durchzuführen. Tatsächlich fanden die Standbesuche dann aufgrund unterschiedlicher klimatischer und phänologischer Gegebenheiten in den verschiedenen Regionen, bzw. wegen anderweitigen beruflichen oder privaten Verpflichtungen der ProbenehmerInnen und ImkerInnen, in einem längeren Zeitfenster statt.

Der erste Standbesuch wurde zwischen dem 30.6.2015 und dem 19.08.2015 durchgeführt. Dabei entfielen 176 Besuche (= 91%) auf den Juli. Weitere 14 Standbesuche fanden im ersten Drittel des August 2015 statt; 3 Standbesuche konnten erst Mitte August erfolgen.

Der zweite Standbesuch wurde zwischen dem 3.9.2015 und dem 28.10.2015 durchgeführt. Es fanden 85% aller Standbesuche (162 Besuche) im September 2015 statt. Im ersten Drittel des Oktobers 2015 fanden weitere 25 Besuche statt. Die restlichen drei Standbesuche wurden zu späteren Terminen im Oktober durchgeführt.

Der dritte Standbesuch wurde zwischen dem 18.03.2016 und dem 01.06.2016 durchgeführt, Dabei wurden 88,1% aller Besuche vor Ende April absolviert (März: 17,4% aller Besuche; April: 70,7% aller Besuche). Die breite zeitliche Streuung, speziell beim dritten Besuch, wurde durch die klimatischen Bedingungen auf den verschiedenen Standorten bedingt – der Stand, der am 01.06.2016 besucht wurde, lag zum Beispiel auf 1200 m Seehöhe.

3a.3.4.2 Völkerinspektion

Die äußere Inspektion der Fokusvölker wurde vor dem Öffnen der Völker durch Kontrolle des Nahbereichs der Bienenstöcke (Bereich vor dem Flugloch und auf dem Flugbrett) durchgeführt. Es wurden die beobachtbaren Symptome erhoben und protokolliert. Falls sich aus dem Komplex der beobachteten Symptome ein Krankheitsverdacht ergab, war dies anzugeben (Tabelle 3.5).

Tabelle 3.5: Symptome außerhalb des Volkes und damit verbundener Verdacht auf Erkrankung (adaptiert nach dem „Protocol for the EU pilot programme on the surveillance of honeybee colony mortality“; persönliche Kommunikation M-P Chauzat).

Verdacht auf Erkrankung	Im Erhebungsbogen anzukreuzende Symptome
Nosemose	tote Bienen vor dem Bienenvolk lebende, flugunfähige Bienen am Boden Kot/Kotflecken
Chronische Bienenparalyse	schwarz-glänzende Bienen zitternde Bienen tote Bienen vor dem Bienenvolk lebende, flugunfähige Bienen am Boden Kot/Kotflecken zurückgewiesene Bienen verstopftes Flugloch
Keinem Verdacht zugeordnetes Symptom	ausgetragene Brut

Bei der Durchschau der Fokusvölker wurde die Volksstärke erhoben (Klassifizierung als „normal“, „sehr schwach“ oder „sehr stark“) und Bienen und Brutwaben auf Krankheitssymptome und Parasitenbefall kontrolliert. Ein Verdacht auf Krankheiten bzw. einen Befall mit Parasiten wurde zusammen mit den Symptomen im Erhebungsbogen notiert (Tabelle 3.6).

Tabelle 3.6: Symptome bei Völkerdurchsicht und damit verbundener Verdacht auf Erkrankung, Virus- bzw. Parasitenbefall; Leitsymptome sind **fett** dargestellt (adaptiert nach dem „Protocol for the EU pilot programme on the surveillance of honeybee colony mortality“; persönliche Kommunikation M-P Chauzat).

Verdacht auf Erkrankung, Virus- oder Parasitenbefall	Im Erhebungsbogen anzukreuzende Symptome
Varroose	Varroamilben auf Bienen Varroamilben in Zelldeckeln Bienen mit deformierten Flügeln lückiges Brutbild löchrige Zelldeckel zusammengesunkene Larven abgestorbene Brut
Amerikanische Faulbrut	typischer AFB Geruch fadenziehende Masse lückiges Brutbild löchrige Zelldeckel eingesunkene Zelldeckel mit abweichender Färbung Schorfe
Europäische Faulbrut	verfärbte Larven/Puppen lückiges Brutbild löchrige Zelldeckel eingesunkene Zelldeckel mit abweichender Färbung Schorfe
Sackbrut	Sackbrutsymptome (Säckchen, Schiffchen) lückiges Brutbild löchrige Zelldeckel eingesunkene Zelldeckel mit abweichender Färbung
Kalkbrut	Kalkbrutmumien lückiges Brutbild löchrige Zelldeckel
Flügeldeformations-Virus (DWV)	Bienen mit deformierten Flügeln
Kleiner Bienenstockkäfer	verdächtige Eier/Larven/Käfer
Tropilaelapsmilben	verdächtige Milben

3a.3.4.3 Probenahme

Die Entnahme von Pflichtproben aus dem Bienenvolk war bei jedem der ersten zehn Fokusvölker jedes Bienenstandes vorgesehen (Tabelle 3.7).

Pflichtproben waren:

- Eine Bienenprobe mit zirka 300 Bienen (für Varroa-Auswaschung; nur beim ersten und zweiten Standbesuch),
- Eine Bienenprobe mit zirka 60 Bienen (für Posthoc-Untersuchungen auf Krankheitserreger),
- Eine Bienenbrotprobe, zirka 1 dm² Wabenstück (für Posthoc Rückstandsuntersuchung).

Da jede Kontamination zwischen den Ständen und auch zwischen den Proben zu vermeiden war, wurde Einweg-Material verwendet. Lediglich bei Entnahme der Bienen für die Varroa-Auswaschung konnte Hilfsmaterial für mehrere Völker desselben Bienenstandes verwendet werden. Beispielsweise konnten die Bienen auf eine Folie, die für mehrere Völker eines Bienenstandes verwendet wurde, abgestoßen werden (Abbildung 3.2 A). Andere Bienenproben (Verdachtsproben und Proben für die Posthoc Analysen) waren direkt von der Wabe abzusammeln (Abbildung 3.2 B). Auch das Ausschneiden des Wabenstückes zur Entnahme der Bienenbrot-Probe erfolgte mit Einweg-Messern (Abbildung 3.2 C).

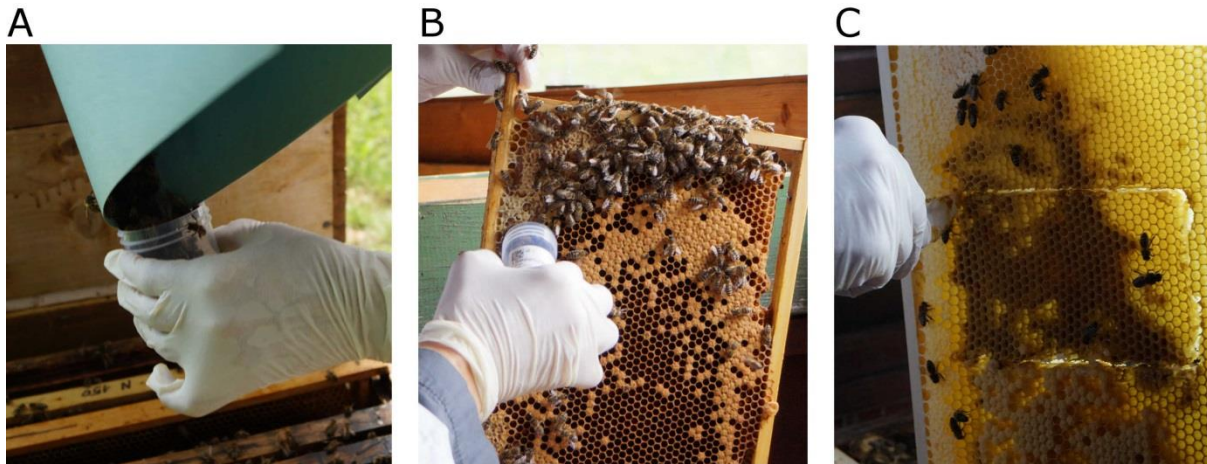


Abbildung 3.2: Probenahme der drei Pflichtproben mit Einwegmaterialien. **A** Bienenprobe aus zirka 300 Bienen für die Varroauntersuchung. **B** Absammeln von zirka 60 Bienen für die Posthoc Untersuchungen auf Bienengesundheit. **C** Entnahme eines Stückes Bienenbrot mit einem Einwegmesser für die Posthoc Untersuchung auf Rückstände.

Die Entnahme von Verdachtsproben bei Vorliegen einer Krankheitssymptomatik erfolgte bei betroffenen Fokusvölkern, wenn ausreichend Material für die Laboranalyse vorhanden war (Krankheitssymptomatik siehe Tabellen 3.5, 3.6).

Mögliche Verdachtsproben waren:

- Bienen mit Symptomen vor dem Flugloch (Verdacht auf *Nosema* spp. oder Viren: mindestens 60 lebende oder tote Bienen),
- Bienen mit Symptomen im Volk (Verdacht auf Viruserkrankungen: mindestens zehn lebende oder tote Bienen),
- Brutwabenstücke mit verdächtigen Larven, Puppen oder Schorfen
- verdächtige Parasiten (Käfer, Larven, Eier, Milben).

Keine Probenahme vorgesehen war bei Sackbrut oder Kalkbrut in Fällen mit klarem Symptombild, da bei diesen Krankheiten eine typische Symptomatik vorliegt und die Diagnose durch erfahrene, eingeschulte Personen vor Ort zuverlässig ist. Außerdem wurden bei Verdacht auf Varroose keine Verdachtsproben genommen, da die Symptome der verkrüppelten Flügel und der beobachtbaren Varroamilben auf den Bienen und in Brutzeldeckeln bereits den Verdacht auf Varroose begründen und zudem die entnommene Pflichtprobe (300 Bienen) für die Untersuchung auf Varroabefall der Bienen herangezogen wurde (Tabelle 3.7).

Tabelle 3.7: Schema Beobachtung und Probenahme. Pflichtprobe: wurde standardmäßig bei maximal zehn der Fokusvölker jedes Standes entnommen; Verdachtsprobe: wurde beim Auftreten einer verdächtigen Krankheitssymptomatik entnommen; eine Entnahme einer Verdachtsprobe war bei allen durchgesehenen Völkern möglich.

Parameter	Modul 3a Beobachtungsstudie	Modul 3b Posthoc Analyse	
Amerikanische Faulbrut	Verdachtsprobe (Brutprobe)		
Varroabefall	Pflichtprobe (zirka 300 Bienen)*		
Varroose	Identifizierung vor Ort		
Kleiner Bienenstockkäfer	Verdachtsprobe (Käfer, Larven, Eier)		
<i>Tropilaelaps</i> -Milben	Verdachtsprobe		
Europäische Faulbrut	Verdachtsprobe (Brutprobe)		
Sackbrut	Identifizierung vor Ort (bei klarem Symptombild)		
Kalkbrut	Identifizierung vor Ort (bei klarem Symptombild)		
Nosemose	Verdachtsprobe (30 Bienen)		Pflichtprobe (zirka 60 Bienen)
Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV)	Verdachtsprobe (10 Bienen)		
Akute Bienenparalyse-Virus (ABPV)	Verdachtsprobe (10 Bienen)		
Flügeldeformations-Virus (DWV)	Verdachtsprobe (10 Bienen)		
Rückstände von Pestiziden			Pflichtprobe Bienenbrot
Legende: * wurde nur beim ersten und zweiten Standbesuch genommen			
Rot: Pflichtproben	Grün: Verdachtsproben	Blau: Identifizierung vor Ort	

In diesem Zusammenhang muss der Begriff „Krankheit“ im Rahmen dieser Studie definiert werden: Krankheit zeigt sich durch eine Störung im Ablauf der normalen Lebensvorgänge (Lehmkuhl, 2005) und ist durch Symptome charakterisiert. Der alleinige Nachweis von Krankheitserregern oder Parasiten – ohne Auftreten von Symptomen – wird in dieser Studie nicht als Krankheit bezeichnet. Erst der Nachweis klinischer Symptome (beobachtbare Anzeichen) zeigt einen Krankheitsausbruch an. Beispielsweise kann ein Bienenvolk von Varroamilben befallen sein, ohne das Krankheitsbild der „Varroose“ zu zeigen.

3a.3.5 Probenlogistik und -lagerung

Die Proben wurden nach der Entnahme am Bienenstand noch vor Ort in einer transportablen, an der Autobatterie angeschlossenen Tiefkühlbox (B40 Mobicool Box, Dometic WAECO, Emsdetten, Deutschland) tiefgekühlt, um biologische und chemische Abbauvorgänge zu minimieren.

Im Stationärbetrieb kühlten diese transportablen Tiefkühlboxen bei Anschluss an das 220 V-Stromnetz ihr Volumen von 40 l auf -14°C. Da bei Anschluss an die Stromversorgung des

Kraftfahrzeuges während der Bienenstandbesuche die Tiefkühlleistung geringer war, wurden zusätzlich vier Stück „Spezial-Kühlakkus des Typs -3°C, ¼ GN“ (Thermo Future Box[®], Schlierbach, Deutschland) eingesetzt. Diese waren gefüllt mit einer eutektischen Mischung, die beim Auftauen über einen längeren Zeitraum beim Phasenwechsel von fest zu flüssig Wärme aufnahm und somit zur Kühlung beitrug. Dieser Typ von Kühlakkus wurde gewählt, da er im Stationärbetrieb der Tiefkühlboxen bei der Kühltemperatur von -14°C vollständig durchfror und daher bei der nächsten Verwendung wieder optimal kühlte.

Die Proben wurden bis zum Versand in stationären Tiefkühlgeräten durch die ProbenehmerInnen zwischengelagert und in der Folge an die Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES übermittelt.

Der Versand vom Probenehmer / von der Probenehmerin an die AGES erfolgte als Express-Versand per Post mit Zustellung an dem auf den Aufgabetag folgenden Vormittag, wobei eine Transportdauer von zirka 20 Stunden zu veranschlagen war. Um in dieser Zeitspanne die permanente Kühlung zu gewährleisten, wurde die Versandbox (Styroporbox mit 50 l Volumen) mit sechs Stück „Kühlakkus des Typs -12°C, ¼ GN“ (Thermo Future Box[®]), die zuvor über 48 Stunden bei -18°C eingefroren waren, ausgestattet. Nach Zustellung an die AGES wurden die Proben umgehend in Tiefkühlgeräte bei -18°C eingelagert und vor jeglicher weiteren Manipulation mindestens 24 Stunden tiefgekühlt.

Bei der Übernahme der Pakete wurde der Aggregatzustand der Kühlakkus (gefroren oder flüssig) festgestellt und im Eingangsprotokoll eingetragen, um das Einhalten der Kühlkette zu überprüfen. Gemäß Kontrollmessungen in den Versandboxen wurde festgestellt, dass bei gänzlich oder auch teilweise gefrorenen Kühlakkus des Typs -12°C die Temperatur des Versandmaterials jedenfalls unter 0°C betrug, und die Temperatur in der Versandbox auch bei nicht mehr gefrorenen Kühlakkus einige weitere Stunden unter 0°C blieb.

Beim ersten Bienenstandbesuch wurden die Proben der 193 Stände in 64 Sendungen übermittelt. Bei 53 Sendungen waren alle in die Versandbox eingelegten Kühlakkus des Typs -12°C bei der Paketannahme noch gefroren, bei vier Sendungen waren sie teilweise gefroren, und bei sieben Sendungen waren sie nicht mehr gefroren (siehe Tabelle 3.8).

Bei den 57 Sendungen mit gefrorenen oder zumindest teilweise gefrorenen Kühlakkus ist von einer ausreichenden Kühlung auszugehen. Bei sechs der sieben Sendungen ohne gefrorene Akkus betrug die Versanddauer rund 20 Stunden, wodurch auch bei diesen Sendungen eine ausreichende Kühlung angenommen werden kann. Lediglich bei einer Sendung mit Proben von fünf Ständen war der Versand nicht per Express – wie vereinbart –, sondern mit Normalpost erfolgt, und die Versanddauer hatte dadurch zirka 44 Stunden betragen. Daher ist hier von einer Überschreitung der angestrebten Temperatur (kein Anstieg über den Gefrierpunkt) auszugehen.

Um den Kühlerfolg bei nachfolgenden Probensendungen zu verbessern, wurden mit den ProbenehmerInnen, deren Pakete mit flüssigen Kühlakkus eingelangt waren, die Verpackungsmodalitäten und die Sendungsdauer telefonisch besprochen und Verbesserungsmöglichkeiten identifiziert (zum Beispiel Kühlakkus mindestens 48 Stunden einkühlen, Paket möglichst kurz vor der Absendung verpacken).

Beim zweiten Bienenstandbesuch wurden die Proben in 58 Sendungen übermittelt. In allen Fällen waren die Kühlakkus noch ganz oder teilweise gefroren, und somit die Temperaturanforderungen für alle Proben der 190 Bienenstände sicher eingehalten worden (siehe Tabelle 3.8). Auch beim Probeneingang des dritten Bienenstandbesuches wurde festgestellt, dass alle Einsendungen mit

noch gefrorenen Kühlakkus eingelangt waren (siehe Tabelle 3.8), und somit die Kühlung gewährleistet war.

Die Proben wurden nach dem Einlangen an der AGES registriert, die Bienenproben für die Varroa-Auswaschung umgehend weiterbearbeitet und Verdachtsproben bis zur Untersuchung tiefgekühlt zwischengelagert. Proben, die für die Folgeuntersuchungen in Modul 3b (Posthoc Analysen) vorgesehen waren, wurden in Lagerbehälter verpackt und in einem AGES-eigenen Tiefkühlraum bei -18°C mit Temperaturüberwachung (testo Saveris 2-T2 Funk-Datenlogger, Testo AG, Lenzkirch, Deutschland) eingelagert.

Tabelle 3.8: Kühlungszustand der Pakete (Probeneingang) der drei Bienenstandbesuche.

	Anzahl Pakete gesamt	Anzahl Pakete: Kühlakkus des Typs -12°C (Thermo Future Box®-Zubehör) in gefrorenem Zustand bei Paketempfang		
		alle	teilweise	keine
erster Bienenstandbesuch	64	53	4	7
zweiter Bienenstandbesuch	58	38	20	0
dritter Bienenstandbesuch	40	26	14	0

3a.3.6 Untersuchungsumfang

Laut Versuchsplan waren folgende Untersuchungen geplant (Überblick s. Infobox übernächste S.):

Pflichtproben:

- Varroabefall an Bienen vor der Hauptentmilbung 2015
- Varroabefall an Bienen vor der Einwinterung 2015

Verdachtsproben (symptomatische Bienen- und Brutproben und anderes Probenmaterial):

- Amerikanische Faulbrut an Brut (Abwicklung über das BSG)
- Kleiner Bienenstockkäfer: Untersuchung von Käfern, Larven, Eiern (Abwicklung über das BSG)
- Tropilaelapsmilben (Abwicklung über das BSG)
- Nosemabefall und Differenzierung in *Nosema apis* und *N. ceranae* an Bienen
- Qualitative PCR-Untersuchung auf die Bienenviren CPBV, ABPV und DWV an Bienen
- Europäische Faulbrut an Brut

Die über die geplante Anzahl hinaus von den ProbenehmerInnen entnommenen und eingesandten Verdachtsproben wurden entsprechend der von den ProbenehmerInnen geäußerten Verdachtsmomente ebenfalls untersucht.

3a.3.7 Methoden zum Nachweis von Parasiten und Krankheitserregern

3a.3.7.1 Pflichtproben

Von den jeweils drei Pflichtproben, die pro Fokusvolk zu entnehmen waren, wurden die Bienenproben (zirka 300 Bienen) für die Ermittlung des Varroabefalls untersucht. Die übrigen Proben standen für das Projektmodul 3b (Posthoc-Analysen) zur Verfügung.

Die Bienenproben mit zirka 300 Bienen wurden für die Varroa-Auswaschungen weiterverarbeitet. Mittels der QR Codes wurden die Probennummern eingescannt und damit in das AGES-Laborinformationssystem aufgenommen (siehe Abbildung 3.3 A). Um die Anzahl der Bienen in jeder einzelnen Probe zu berechnen, wurden sowohl der mit Bienen gefüllte Probenbecher als auch eine Stichprobe von 20 Bienen aus dem Becher abgewogen. Unter Berücksichtigung der durchschnittlichen Bechermasse (ermittelt anhand einer Stichprobe) wurde auf die Bienenzahl hochgerechnet.

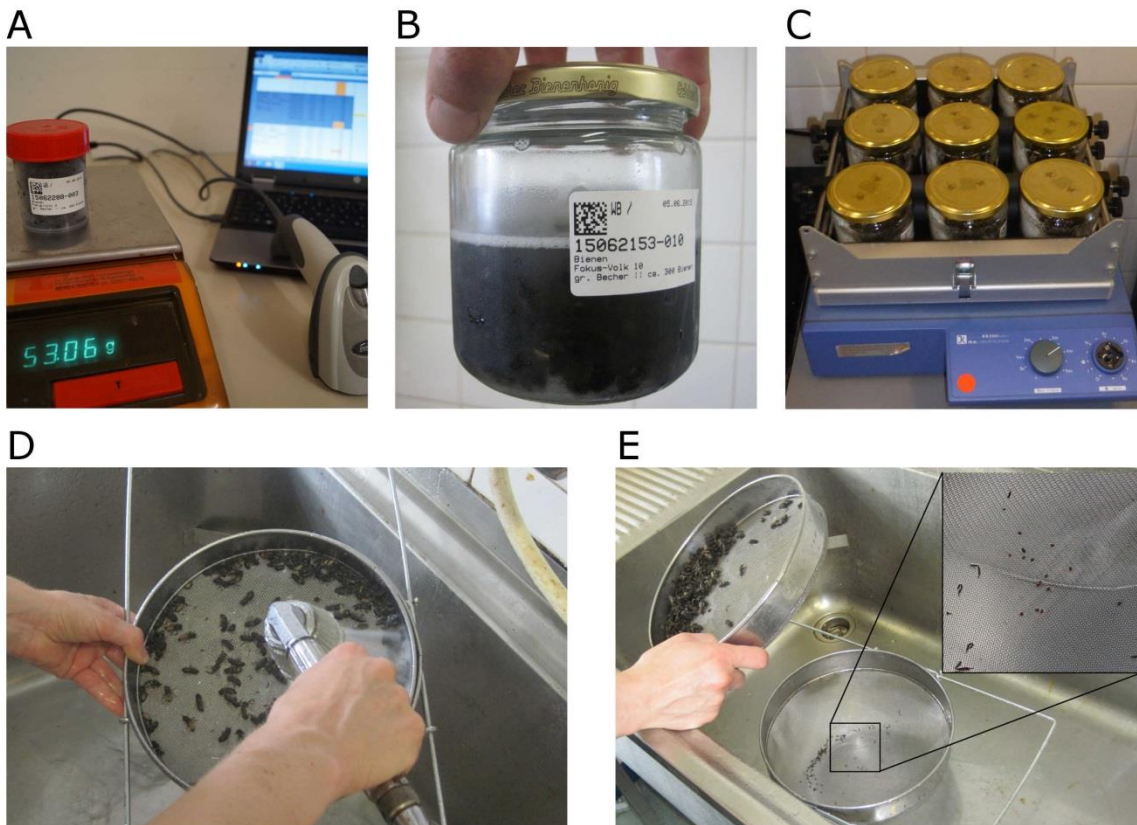


Abbildung 3.3: Ermittlung des Varroabefallsgrades der Bienen durch Auswaschung. (A) Die Bienenprobe wurde gewogen, um die Anzahl der in der Probe enthaltenen Bienen zu ermitteln. Danach wurde die Probe (B) mit 0,1%iger Seifenlauge vermisch, (C) 15 Minuten durchgeschüttelt und (D) in einem Doppelsieb ausgewaschen. (E) Im unteren Sieb konnten anschließend die Varroamilben gezählt werden (siehe Vergrößerung).

Infobox – Zusammenfassung der Völker- bzw. Probenanzahlen der Untersuchungen auf unterschiedliche Parameter in den zwei Modulen 3a „Beobachtungsstudie“ und 3b „Posthoc Analyse“. VÖ = Völker; PR = Proben; --- = keine Proben entnommen/analysiert. Hinweis: Völkerzahlen, auf denen die Berechnung der Winterverluste beruht, sind Tabelle 3.22 zu entnehmen.

Modul	Typ der Untersuchung	Bezeichnung	erster Besuch	zweiter Besuch	dritter Besuch	Definition
Modul 3a: Beobachtungsstudie	Völker-Durchsicht am Stand	Fokusvölker	2077 VÖ	1977 VÖ	1769 VÖ	jene Völker des Standes, die aufgrund einer Zufallsauswahl ausgewählt wurden und bei allen Besuchen auf auffällige Symptome durchgesehen wurden (Anzahl der Fokusvölker mittels statistischer Berechnung festgelegt).
		Probenvölker (geplant)	1657 VÖ	1569 VÖ	1423 VÖ	jene Fokusvölker, von denen routinemäßig die Entnahme von Bienen- und Bienenbrotproben geplant war, sofern Probenmaterial vorhanden war.
		Probenvölker (vollst. Probenset)	1511 VÖ	1040 VÖ	934 VÖ	jene Probenvölker mit vollständigem Probenset für den jeweiligen Besuch.
	durchgeführte Laboruntersuchungen	Varroaprobe	1637 PR	1560 PR	---	Proben von Probenvölkern, von denen eine Bienenprobe zur Bestimmung des Varroabefalls genommen wurde.
		Verdachtsproben Bienen	31 PR	41 PR	18 PR	Bienenproben, die mit unklarer Symptomatik oder Verdacht auf eine Krankheit an die AGES geschickt und untersucht wurden.
		Verdachtsproben Brut	17 PR	13 PR	11 PR	Brutproben, die mit unklarer Symptomatik oder Verdacht auf eine Krankheit an die AGES geschickt wurden und untersucht wurden.
		Verdachtsproben anderes Material	3 PR	4 PR	4 PR	anderes Material, (Puppen, Kot,...) das mit unklarer Symptomatik oder Verdacht auf eine Krankheit an die AGES geschickt wurden und untersucht wurden.
Modul 3b: Posthoc Studie	durchgeführte Laboruntersuchungen	Nosema	---	210 PR	160 PR	Bienenproben, an denen im Zuge der Posthoc Studie eine Untersuchung auf Nosema durchgeführt wurde.
		Bienenviren	---	210 PR	---	Bienenproben, an denen im Zuge der Posthoc Studie eine Untersuchung auf ABPV, CBPV und DWV durchgeführt wurde.
		Pestizide	---	210 PR	---	Bienenbrotproben, an denen im Zuge der Posthoc Studie eine Untersuchung auf Pestizidrückstände durchgeführt wurde.

Für die Auswaschung der Varroamilben wurden die Proben in Schraubgläser umgefüllt und diese mit einer 0,1%igen Seifenlauge (Reinigungskonzentrat AC Exakt, E. Mayr, Vösendorf, Österreich) versetzt (Abbildung 3.3 B). Danach wurden die Proben mit einem Schüttler 15 Minuten lang durchgerüttelt (Abbildung 3.3 C), damit sich die Varroamilben von den Bienen lösten.

Nach der Schüttelbehandlung kamen die Bienenproben in ein Honig-Doppelsieb und wurden gründlich durchgewaschen (Abbildung 3.3 D). Die Körper der Bienen blieben aufgrund ihrer Größe im oberen Sieb hängen, die Varroamilben wurden hingegen in das untere Sieb durchgespült (siehe Abbildung 3.3 E, Detail rechts oben) und konnten ausgezählt werden (Büchler et al., 2006; Dietemann et al., 2013).

Die teilnehmenden ImkerInnen wurden innerhalb einer Woche nach Eingang der Proben in der AGES über den Varroabefall der Bienenproben informiert. Da die Proben aus logistischen Gründen teilweise zeitverzögert an die AGES verschickt wurden, erhielten die ImkerInnen diese Information zwischen einer Woche und einem Monat nach dem Standbesuch.

3a.3.7.2 Verdachtsproben

Verdachtsproben sind Brut- oder Bienenproben, die einem Bienenvolk vom Probenehmer / von der Probenehmerin aufgrund einer auffälligen Krankheitssymptomatik des Volkes entnommen wurden, oder Bienenproben an toten oder auffälligen Bienen, die vor einem oder mehreren Völkern gesammelt wurden (Tabelle 3.7).

3a.3.7.2.1 Untersuchung symptomatischer Brutproben

Die von den ProbenehmerInnen entnommenen Verdachtsproben wurden auf Symptome der Amerikanischen Faulbrut, der Europäischen Faulbrut, Kalkbrut und Sackbrut untersucht und der Varroabefall der Brutzellen ermittelt.

Bei Kalkbrut wurde das Untersuchungsverfahren gemäß der an der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz verwendeten akkreditierten Prüfvorschrift durchgeführt, welches auf der klinischen Untersuchung basiert. Sackbrut wurde anhand der typischen Symptome festgestellt. Die Proben wurden auf Symptome der Europäischen Faulbrut überprüft. Im positiven Fall war ein Erregernachweis mittels PCR vorgesehen. Wenn Symptome der Amerikanischen Faulbrut festgestellt wurden, lag gemäß BSG Meldepflicht vor, und es wurde eine Meldung an die Bezirksverwaltungsbehörde erstattet. Diese Proben wurden als amtliche Proben im Auftrag der Bezirksverwaltungsbehörde untersucht und der Erregernachweis mit der an der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz akkreditierten Methode, die eine Untersuchung auf Symptome, ein Kulturverfahren und eine biochemische Differenzierung umfasste, durchgeführt.

3a.3.7.2.2 Ermittlung des Varroabefalls der Bienenbrut

Der Varroabefall der Brut wurde durch visuelle Untersuchung von 50 verdeckelten Brutzellen quantitativ festgestellt, wobei der prozentuelle Brutbefall (= Anteil varroabefallener Brutzellen an der Gesamtzahl der untersuchten Zellen) angegeben wurde. Bei Brutproben, in denen weniger als 50 verdeckelte Brutzellen vorhanden waren, wurde keine quantitative, sondern nur eine qualitative Aussage getroffen (*Varroa* vorhanden / nicht vorhanden). Zudem wurde ein Mehrfachbefall von Brutzellen vermerkt. Diese Notiz gibt an, ob zwei oder mehr adulte Varroamilben in einer Brutzelle gefunden wurden.

3a.3.7.2.3 Untersuchung symptomatischer Bienenproben auf *Nosema* spp.

Die symptomatischen Verdachtsproben wurden von den ProbenehmerInnen gemäß den Vorgaben (siehe Kapitel 3a.3.6 Untersuchungsumfang) genommen.

3a.3.7.2.3.1 Qualitative Untersuchung auf Nosemabefall

Nosema apis und *Nosema ceranae* besiedeln die Zellen des Mitteldarmes erwachsener Bienen und vermehren sich dort. Als Dauerstadien bilden sie Sporen aus, die in großer Zahl im Mittel- und Enddarm erkrankter Bienen vorhanden sind.

Der qualitative Nachweis einer Nosemainfektion erfolgte durch den lichtmikroskopischen Nachweis der Dauerstadien (Sporen), ohne Differenzierung der Nosemaarten. Die Untersuchung erfolgte gemäß der an der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz verwendeten akkreditierten Prüfvorschrift. Diese basiert auf der lichtmikroskopischen Untersuchung (200 bis 400-fache Vergrößerung) einer wässrigen Suspension, wobei 30 Bienenhinterleiber in 5 mL Wasser zerstoßen werden.

Bei positivem Ergebnis der qualitativen Untersuchung wurde eine Quantifizierung der Sporenzahl in den untersuchten Bienen sowie eine Artbestimmung (*Nosema apis*, *Nosema ceranae*) mittels PCR angeschlossen.

3a.3.7.2.3.2 Quantifizierung des Nosemabefalls

Die quantitative Untersuchung wurde durch Sporenzählung in einem Hämocytometer (Neubauer improved, Paul Marienfeld GmbH, Lauda Königshofen, Deutschland; Kammertiefe 0,1 mm) durchgeführt. Für die Sporenzählung wurde die wässrige Suspension, die für die qualitative Untersuchung hergestellt worden war, auf ein Verhältnis von 30 mL Wasser pro 30 Hinterleiber weiter verdünnt. Daher entspricht der Sporengehalt von 1 mL dieser Suspension durchschnittlich dem einer Biene. Um die Genauigkeit der Zählung zu gewährleisten, sollten insgesamt rund 300 Partikel gezählt werden (Human et al., 2013). Es wurden zwei Zählungen (zwei große Quadrate à 1 mm²) pro Probe durchgeführt und der Durchschnitt berechnet. Die Kammertiefe des Hämocytometers von 0,1 mm und die Größe des Zählquadrates von 1 mm² ergaben ein ausgezähltes Volumen von 1/10.000 mL.

Daher beträgt der Multiplikationsfaktor 10 000, wie in der folgenden Formel angeführt:

$$\text{Mittelwert der Sporenanzahl pro Zählquadrat} \times 10.000 = \text{mittlere Sporenzahl pro mL}$$

Aufgrund der gewählten Verdünnung (siehe oben) entspricht die mittlere Sporenzahl pro mL der mittleren Sporenzahl pro Biene. Diese wurde dann auch als Ergebnis angegeben.

3a.3.7.2.3.3 Identifizierung von *Nosema apis* bzw. *Nosema ceranae*

Der Nachweis der DNA der beiden Nosemaarten erfolgte nach der DNA-Extraktion aus der Suspension für den lichtmikroskopischen Nachweis (siehe 2.2.3) mittels Multiplex-PCR nach Higes et al. (2007) und Martín-Hernández et al. (2007) mit spezifischen Primern zur Unterscheidung zwischen *N. apis* bzw. *N. ceranae* (siehe Tabelle 3.9).

Für die DNA-Extraktion wurde der „High Pure PCR Template Preparation Kit“ (Roche) verwendet. Die DNA wurde aus 2 mL verdünnter Suspension (Verdünnung: 1 mL Wasser pro Hinterleib) extrahiert, wobei die gereinigte Nukleinsäure mit 100 µL Puffer eluiert wurde. Der Extrakt wurde

bei -20°C gelagert. Für die Multiplex-PCR wurde der „REDTaq Readymix PCR Reaction Mix“ (Sigma) eingesetzt. Es wurde ein Reaktionsmix aus 12,5 µL Ready-Mix (Sigma), 2 µL Nukleinsäureextrakt und den Primern (240 nM; VBC Biotech) hergestellt und mit 8,1 µL nukleasefreiem Wasser auf das Reaktionsvolumen von 25 µL aufgefüllt. Für die PCR wurde ein Thermocycler der Type T 3000 von Biometra eingesetzt.

Die PCR-Bedingungen waren: 94°C 2 min; 10 Zyklen: 94°C 15 s; 61,8°C 30 s; 72°C 45 s; 20 Zyklen: 94°C 15 s; 61,8°C 50 s; 72°C 50 s; abschließend ein Elongationsschritt bei 72°C für 7 min.

Die PCR-Produkte wurden auf 1,5 %iges Agarosegel (Lonza) aufgetragen, mittels Elektrophorese (Elektrophoresekammer: GE-Healthcare Bio Sciences Corp.) aufgetrennt, mit Ethidiumbromid (Roth) gefärbt, und unter UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert (UVP).

Tabelle 3.9: Primersequenzen und PCR-Parameter für den Nachweis der drei Bienenviren ABPV, DWV und CBPV und zwei Arten von *Nosema*.

Zielorganismus	Primer Basenfolge (5'-3')	Amplifikat [bp]	Annealing Temp. [°C]	Zitat
ABPV	GTG CTA TCT TGG AAT ACT AC AAG GYT TAG GTT CTA CTA CT	618	58	Bakonyi et al. (2002)
DWV	ATT GTG CCA GAT TGG ACT AC AGA TGC AAT GGA GGA TAC AG	435	54	Berényi et al. (2006)
CBPV	TCA GAC ACC GAA TCT GAT TAT TG ACT ACT AGA AAC TCG TCG CTT CG	570	57	Blanchard et al. (2008)
<i>Nosema apis</i>	GGG GGC ATG TCT TTG ACG TAC TAT GTA GGG GGG CGT TTA AAA TGT GAA ACA ACT ATG	321	61,8	Martín-Hernández et al. (2007)
<i>Nosema ceranae</i>	CGG CGA CGA TGT GAT ATG AAA ATA TTA A CCC GGT CAT TCT CAA ACA AAA AAC CG	218	61,8	Martín-Hernández et al. (2007)

3a.3.7.2.4 Qualitative Untersuchung symptomatischer Bienenproben auf Bienenviren

Die Tests auf virale RNA erfolgten mittels RT-PCR für das Akute Bienenparalyse-Virus (ABPV), Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV) und Flügeldeformations-Virus (DWV). Die Extraktion der RNA erfolgte nach Berény et al. (2006) aus zehn Bienen einer Bienenprobe, die in 3 mL DEPC-behandeltem autoklaviertem Wasser (Ambion) mit Hilfe eines Homogenisators (HOMEX 6, Bioreba) homogenisiert wurden. Die PCR erfolgte mit viruspezifischen Primern (Sigma) wie in Tabelle 3.9 dargestellt. Für die RNA-Extraktion wurde der QIAamp viral RNA Mini Kit (Qiagen) verwendet. Die RNA wurde aus 140 µL Homogenat extrahiert, die gereinigte Nukleinsäure wurde in 60 µL Puffer eluiert und bis zur Analyse bei -20°C gelagert. Für die PCR wurden jeweils ein Reaktionsmix aus 2 µL 5x- Puffer, 0,4 µL Enzym-Mix und 0,4 µL dNTP-Mix aus dem OneStep RT-PCR Kit (Qiagen), 1 µL Nukleinsäureextrakt und den jeweils spezifischen Primern (500 nM) hergestellt und mit 5,2 µL nukleasefreiem Wasser auf das Reaktionsvolumen von 10 µL aufgefüllt. Es wurde ein Thermocycler der Type T 3000 von Biometra eingesetzt.

Die PCR-Bedingungen umfassten: 50°C 30 min; 95°C 15 min und anschließend für DWV und ABPV in 40 Zyklen sowie für CBPV in 30 Zyklen 94°C 30 s; spezifische Annealingtemperatur (siehe Tabelle 3.9) 30 s; 72°C 45 s. Abschließend folgte ein Elongationsschritt mit 72°C für 10 min.

Die PCR-Produkte wurden auf 1,5%iges Agarosegel (Lonza) aufgetragen, mittels Elektrophorese (Elektrophoresekammer: GE-Healthcare Bio Sciences Corp.) aufgetrennt, mit Ethidiumbromid (Roth) gefärbt, und unter UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert (UVP).

3a.3.8 Statistische Auswertung

Die gesamte Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm R durchgeführt (R Core Team, 2015). Für die Clusteranalyse und das multivariate Modell, die von Antonia Griesbacher (AGES; Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik) durchgeführt wurden, wurde Version 3.3.2. verwendet. Alle anderen Analysen wurden mit der Version 3.2.3. in der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz durchgeführt. Alle Abbildungen wurden mit R erstellt (package „ggplot2“: Wickham, 2009; package „maptools“: Bivand & Lewin-Koh, 2017).

3a.3.8.1 Varroabefall Bienen

Beim ersten Besuch waren in 48% der Bienenproben keine Varroamilben gefunden worden und beim zweiten Besuch in 31% der Bienenproben (Tabelle 3.20, 3.21). Aufgrund der vielen Nullwerte in unseren Datensets war keine Normalverteilung der Werte gegeben. Daher war die Zusammenfassung des Varroabefalls in Mittelwert und Standardabweichung nicht sinnvoll – der Mittelwert wäre durch hohe Ausreißer stark beeinflusst worden. Stattdessen wurde der Median angegeben: dieser stellt jenen Wert dar, unter dem die eine Hälfte aller Werte liegt, während die andere Hälfte der Werte darüber liegt. Um die Streuung darzustellen, wurde das untere Quartil (25% der Werte liegen darunter) und das obere Quartil (75% der Werte liegen darunter), bzw. das Minimum und das Maximum angegeben.

Beispiel: Ein Stand mit 9 Völkern mit 0% Varroabefall und einem Volk mit 10% Varroabefall hätte einen Mittelwert von 1% Varroabefall (Standabweichung 3,2%). Dies würde fälschlicherweise suggerieren, dass etwa die Hälfte aller Völker einen Varroabefall von mindestens 1% hat – was aber nicht den Ergebnissen entspricht. In der von uns gewählten Darstellung hätte derselbe Stand einen Median von 0% Varroabefall (unteres Quartil: 0%; oberes Quartil: 0%). Aus der Angabe des oberen Quartils ergibt sich dann die Zusatzinformation, dass zumindest 75% aller Völker einen Varroabefall von 0% haben. Damit beschreibt der Median den Varroabefall eines Standes in solchen Situationen adäquater als der Mittelwert.

3a.3.8.2 Prävalenzen der bei der Völkerinspektion am Stand beobachteten Bienenkrankheiten

Es wurden Prävalenzen sowohl auf Volksebene als auch auf Standebene für die Brutkrankheiten Amerikanische Faulbrut (AFB), Europäische Faulbrut (EFB), Sackbrut und Kalkbrut berechnet. Dabei wurde ein Stand als positiv für eine Krankheit gewertet, wenn diese in mindestens einem Volk aufgetreten war. Ebenso wurden für Varroose und die Bienenschädlinge Kleiner Bienenstockkäfer (SHB) und die Tropilaelapsmilbe Prävalenzen berechnet. Für alle Prävalenzen wurde das 95% Konfidenzintervall berechnet und angegeben. Der Vergleich der Prävalenzen zwischen den Standbesuchen erfolgte in einem General Linear Model mit quasibinomiale Verteilung (van der Zee et al., 2013). Als Posthoc-Test wurde ein Tukey Test durchgeführt (package „multcomp“: Hothorn et al., 2008).

Für die Bienenkrankheit Nosemose und für Symptome des Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV) und Flügeldeformations-Virus (DWV) wurden keine Prävalenzen berechnet, da die

Auswertung der Verdachtsproben gezeigt hatte, dass nur eine geringe Korrelation zwischen dem Vorhandensein der jeweiligen Erreger und den am Stand zugeordneten Symptomen bestand (Kapitel 3a.4.3.3.2; 3a.4.3.3.4; 3a.4.3.3.5;). Somit war in diesen Fällen die Ableitung einer Prävalenz aus den vor Ort beobachteten Symptomen nicht sinnvoll.

3a.3.8.3 Einflussfaktoren auf den Überwinterungserfolg

Grundlage für die Berechnung des Überwinterungserfolges waren nur jene eingewinterten Völker, für die auch Auswinterungsergebnisse bekannt waren. Als eingewinterte Völker galten alle Völker, die beim ersten und/oder zweiten Bienenstandbesuch inspiziert worden waren und beim zweiten Bienenstandbesuch noch gelebt hatten. Bei der Auswinterung wurde der Zustand des Volkes folgenden vier Kategorien zugordnet: a) lebend, b) abgestorben, c) aufgelöst oder d) auf ein anderes Volk aufgesetzt. Die aufgelösten 11 Völker wurden als abgestorben gewertet, da solche Maßnahmen in der imkerlichen Praxis standardmäßig bei extrem schwachen, kurz vor dem Absterben stehenden Bienenvölkern gesetzt werden. Die aufgesetzten 19 Völker wurden als lebend gezählt, da die Bienen nicht gestorben waren, sondern mit den Bienen eines anderen Volkes vereinigt wurden. Analog zu der Definition der Winterverluste, galt ein Volk als Sommerverlust, wenn es zwischen dem ersten und dem zweiten Besuch entweder abgestorben ist oder aufgelöst worden war.

Zum Überwinterungserfolg der teilnehmenden Imkereibetriebe lagen drei unterschiedliche Datensets mit unterschiedlicher Detailgenauigkeit und unterschiedlicher Völkeranzahl vor:

- Fokusvölker (N = 1980 Völker): diese waren von den ProbenehmerInnen begutachtet worden; detaillierte Daten über Volksgeschichte und Volkszustand nach der Auswinterung sind vorhanden.
- Besucher Stand (N = 2810 Völker): wurde von den ProbenehmerInnen besucht; Informationen über die Höhe der Verluste sind durch das Abzählen der vorhandenen Völker am Stand bzw. über Erhebungen des Probenehmers / der Probenehmerin zum Verbleib von nicht mehr am Stand befindlichen Völkern vorhanden.
- Besucher Betrieb (N = 12.765 Völker): Angaben des Imkers / der Imkerin über die Höhe der Verluste im gesamten Betrieb sind vorhanden.

Mögliche Einflussfaktoren auf den Winterverlust wurden einzeln beschrieben und univariat modelliert. Der mögliche Einfluss von Faktoren, die den Bienenstand und den Imkereibetrieb beschrieben, wurde mit Hilfe der Verlustdaten des gesamten Standes und teilweise mit den Daten des gesamten Betriebes analysiert. Dazu wurde ein General Linear Model (GLM) mit quasibinominaler Verteilung verwendet (van der Zee et al., 2013).

Der Einfluss von Faktoren, die das einzelne Volk beschreiben, wurde mit dem Datenset der Fokusvölker berechnet. Dafür wurde ein General linear mixed model (GLMM) mit binominaler Verteilung und dem Faktor Standidentität als random factor verwendet (package „lme4“: Bates et al., 2015). Für detaillierte Erklärungen zur Verwendung der Standidentität als random factor siehe Kapitel 3a.4.5.6.4.

Die Signifikanz eines unimodalen Modells wurde mit Hilfe eines log-likelihood Chi²-Tests berechnet (package „car“: Fox & Weisberg, 2011). Wenn Posthoc-Tests durchgeführt wurden, wurde ein Tukey Test angewandt (package „multcomp“: Hothorn et al., 2008). Für die Darstellung der Überlebenskurven bei Varroabefall wurde das package „effects“ verwendet (Fox & Hong, 2009).

In den Abbildungen wurden die Winterverluste in Relation zu der maximalen Höhe der Winterverluste gesetzt, die für ImkerInnen als noch akzeptabel gesehen werden. Diese Grenze wurde in der Beobachtungsstudie bei 10% angesetzt – ein Wert der in Imkerkreisen häufig genannt wird. Dieser Wert wurde in einer Umfrage unter österreichischen ImkerInnen im Jahr 2010 bestätigt: die befragten ImkerInnen gaben an, dass sie im Mittel 10,7% Winterverluste im eigenen Betrieb als noch akzeptabel wahrnehmen würden (Brodschneider et al., 2010).

Zusätzlich zu den univariaten Modellierungen der Winterverluste wurde ein Gesamtmodell berechnet, in das alle Faktoren, die in der univariaten Analyse einen Zusammenhang mit dem Winterverlustrisiko zeigten, eingebaut wurden. Für das Modell wurde ein GLMM mit binomialer Verteilung und Random Factor berechnet, wobei der Bienenstand eines Volkes als Random Factor angegeben wurde. Als Vorgehensweise wurde eine Vorwärtsselektion gewählt. Dabei wurde mit einem Basismodell, in das nur der Random Factor inkludiert wurde, gestartet. Schrittweise wurde nun jeweils eine Variable mit dem höchsten Erklärungsgrad hinzugefügt. Dabei wurden einzelne Modelle mittels ANOVA verglichen, zusätzlich wurden Änderungen in AIC (Akaike information criterion) und BIC (Bayesian information criterion) berücksichtigt. Beide Kriterien stellen Maßeinheiten für die Güte eines Modells dar (je kleiner der Wert umso höher ist die Güte) und helfen daher, das beste Modell auszuwählen.

3a.3.8.4 Art und Durchführung der Varroabekämpfung

Bei der Auswertung der von den ProbenehmerInnen im Zuge der Standbesuche dazu von den Imkern erhobenen Daten zeigte sich, dass es unter den TeilnehmerInnen der Beobachtungsstudie eine große Vielfalt unterschiedlicher Methoden der Varroabekämpfung gab (Tabelle 3.10). Diese betraf sowohl die Wahl des eingesetzten Wirkstoffes, dessen Konzentration und Anwendungsform (zum Beispiel im Falle der Ameisensäure), als auch den Zeitpunkt der durchgeführten Maßnahme. Zusätzlich kamen auch biotechnische Methoden, wie Drohnenbrutentnahme, Wärmebehandlung, Gesamtbrutentnahme nach Trachtschluss, zur Reduktion des Varroabefalles zur Anwendung.

Tabelle 3.10: Häufigkeit aller Maßnahmen zur Varroabekämpfung, die auf den 188 Ständen der Beobachtungsstudie zwischen Juli 2014 und April 2016 durchgeführt wurden

Kategorie	Präparat, Wirkstoff, Maßnahme	Anzahl der Stände	Anteil der Stände
medikamentös	Apistan	2	1,1%
	Ameisensäure	160	85,1%
	Bayvarol	2	1,1%
	Coumaphos	1	0,5%
	Hopfensäure	1	0,5%
	Kampfer	1	0,5%
	Milchsäure	6	3,2%
	Oxalsäure	185	98,4%
	Thymol	43	22,9%
Biotechnisch oder nicht-	Bannwabenverfahren	10	5,3%
	Brutunterbrechung	17	9,0%

medikamentös	Drohnenbrutentnahme	130	69,1%
	Gesamtbrutentnahme	51	27,1%
	Kehrschwarm	22	11,7%
	Kräutertee	1	0,5%
	Staubzucker	2	1,1%
	Teilbrutentnahme	27	14,4%
	Wärme	16	8,5%

In der Auswertung wurden Zusammenhänge zwischen den vom Imker / von der Imkerin gesetzten Maßnahmen und dem Varroabefall der Völker analysiert. Der Varroabefall der Bienen zum Zeitpunkt des ersten Besuchs im Juli 2015 (= vor Beginn der Hauptentmilbung) wurde in Beziehung zu den zwischen März 2015 und dem ersten Besuch durchgeführten biotechnischen Methoden gesetzt. Für die Analyse wurden die biotechnischen Methoden Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung, Gesamtbrutentnahme und Kehrschwarm zu der Gruppe „andere Brutentnahmen“ zusammengefasst. Teilbrutentnahme wurde nicht in die Gruppe aufgenommen, da die Wirksamkeit dieser Methode stark von der Menge der entnommenen Brut abhängig ist und daher keine homogene Gruppe darstellt. Aufgrund der geringen Häufigkeit der anderen Methoden wurden nur die Maßnahmen „Drohnenbrutentnahme“ und „andere Brutentnahmen“ ausgewertet.

Der Varroabefall der Bienen beim zweiten Besuch im September 2015 wurde mit der Anwendung der verschiedenen Bekämpfungsmittel zwischen Juni 2015 und dem zweiten Besuch in Beziehung gesetzt. Es wurde nur die Effektivität der Befallsminderung für die Wirkstoffe Ameisensäure, Oxalsäure und Thymol ausgewertet, da die anderen Wirkstoffe extrem selten angewandt wurden.

Die Auswertungen wurden auf Standniveau durchgeführt, da auf den meisten Ständen alle Völker auf gleiche Art und Weise behandelt wurden. Als Maß für die Effektivität der Befallsminderung am Stand wurden der mediane und der maximale Varroabefall aller am Stand gemessenen Völker gemessen.

Ameisensäure wird von den ImkerInnen in verschiedenen Konzentrationen angewandt. ImkerInnen der Beobachtungstudie haben Ameisensäure in Konzentrationen zwischen 60% und 85% zur Behandlung verwendet. Die Anwendung von 85%iger Ameisensäure überwog bei weitem; 92% aller Behandlungen im Jahr 2015 wurden mit 85%iger Ameisensäure Lösung durchgeführt. Aus dem Volumen an eingebrachter Lösung und der Ameisensäure-Konzentration der Lösung kann das Volumen an in das Volk eingebrachter Ameisensäure-Reinsubstanz errechnet werden. Das Volumen an eingebrachter Lösung korreliert stark mit dem Volumen an in das Volk eingebrachter Reinsubstanz (Spearman-Rang-Korrelation: $r_s = 1,00$; $P < 0,001$). Daher wurde das Volumen an in das Volk eingebrachter Lösung statt das Volumen der Reinsubstanz für die Berechnungen herangezogen. Dies ermöglichte auch jene Datensätze zu berücksichtigen, bei denen keine Angabe zur angewandten Konzentration gemacht wurden (23 von 140 Datensätzen für den Zeitraum zwischen erstem und zweitem Standbesuch).

Zur Auswertung wurden die nicht-parametrischen statistischen Methoden Wilcoxon-Mann-Whitney-Test und Kruskal-Wallis-Test sowie die Spearman-Rang-Korrelation angewandt („R“, package „coin“: Hothorn et al., 2006; package „Hmisc“: Harrell Jr et al., 2016).

3a.3.8.5 Kategorisierung der Landnutzung um die Beobachtungsbienenstände

Zur Kategorisierung der Landnutzung rund um die Bienenstände der Beobachtungsstudie wurde eine Clusteranalyse durchgeführt, eine Methode die schon erfolgreich für die Kategorisierung von Landnutzungsdaten rund um Bienenstände angewandt wurde (Clemont et al., 2015). Diese Analyse und ihr Ergebnis sind unabhängig von der Clusteranalyse in Modul 2b des Projekts. Diese Analyse wurde unabhängig von der Clusteranalyse in Modul 2b vorgenommen, da in den beiden Modulen die jeweiligen geographischen Referenzdaten der Bienenstände in unterschiedlicher Qualität verfügbar waren: In Modul 3a waren die Koordinaten des Bienenstands bekannt, daher konnte man sich bei der Analyse auf den 3km-Flugradius der Bienen beziehen. In Modul 2b, in welchem freiwillig gemeldete Winterverlustdaten analysiert wurden, wurde lediglich die Gemeinde des Bienenstands übermittelt. Um die heterogene Größenverteilung der Gemeinden auszugleichen, wurden diese in Folge zu 263 Regionen zusammengefasst, auf deren Basis die Clusteranalyse durchgeführt wurde.

Hätte man in Modul 3a ebenfalls die Clusterkategorisierung von Modul 2b herangezogen, so wäre Detailinformation über die Umgebung des genauen Standort des Bienenstandes verloren gegangen. Die dominanten Landnutzungsarten innerhalb eines Flugkreises (zirka 2830 ha) sind nicht zwingend ident mit den dominanten Landnutzungsarten der gesamten Region (mittlere Fläche 31.890 ha). In der Clusteranalyse in Modul 2b wurde beispielsweise ein Cluster identifiziert, in welchem die Landnutzungsart „Wasser oder Feuchtflächen“ flächenmäßig dominiert (Abbildung 2.7). In der Clusteranalyse auf Bienenstandsebene (Modul 3a) ist diese Landnutzungsart jedoch in keinem der fünf Landnutzungscluster mit nennenswertem Flächenanteil vertreten (Tabelle 3.12). Daher sind die Cluster der Clusteranalysen in beiden Modulen zwar ähnlich, jedoch nicht ident.

Um die Landnutzung in der Umgebung der Bienenstände der Beobachtungsstudie im 3 km Flugradius zu beschreiben, wurde von jedem Bienenstand die Zusammensetzung dieser Fläche aus den verschiedenen Landschaftstypen bestimmt. Diese wurden aus der INVEKOS-Datenbank, CORINE-Landnutzungsdaten sowie Daten des österreichischen Bundesforschungszentrums für Wald (BFW) entnommen (Details zu den Datenbanken siehe Kapitel 2b.2). Auf Grund der Zusammenführung der drei Datenbanken, bzw. dem Hinzufügen spezieller Daten für Almfutterflächen, variiert die beschriebene Landschaftsfläche bei den Bienenständen von 20,4 km² bis 33,2 km², während der Flugkreis eines Bienenvolkes bei einem Radius von 3 km einer Fläche von etwa 28,3 km² entspricht. Daher wurde in der Beschreibung der Clusterkategorien der prozentuelle Anteil an der Gesamtfläche der Landschaftsflächen um die jeweiligen Bienenstände angegeben.

Bienenstände, deren Umkreis aus ähnlichen Landschaftstypen bestand, wurden in Gruppen zusammengefasst. Dies geschah mit der Methode der hierarchischen Clusteranalyse mit dem sogenannten Complete-Linkage-Verfahren. Dabei bildete jeder Bienenstand für sich zu Beginn des Verfahrens einen eigenen Cluster. Im zweiten Schritt wurden die beiden ähnlichsten Bienenstände zu einem neuen Cluster zusammengefasst. In den darauffolgenden Schritten wurden immer wieder die beiden Cluster mit dem geringsten Abstand zusammengelegt, bis im letzten Schritt ein einziger Cluster mit allen Bienenständen gebildet wurde. Daraus wurde dann die gewählte 5-Cluster-Lösung für die Auswertungen abgeleitet.

Da das beschriebene Landschaftsumfeld bei den Bienenständen verschieden große Flächen aufwies, wurde von einem Vergleich der Absolutwerte der Flächen der einzelnen Landschaftstypen abgesehen und stattdessen als Ähnlichkeitsmaß für die Bienenstände der Pearson-Korrelationskoeffizient verwendet. Das heißt, zwei Bienenstände wurden als ähnlich aufgefasst, wenn ihre zugehörigen Landschaftstypen flächenmäßig korrelierten. Die Clusterabstände selbst wurden dann

mittels des Complete-Linkage-Verfahrens ermittelt, das heißt, die niedrigste Korrelation, die zwischen den Bienenständen zweier Cluster gefunden wurde, wurde als Abstand zwischen diesen beiden Clustern definiert.

Nach Durchführung der hierarchischen Clusteranalyse galt es dann, jene Clusterlösung zu finden, die klar getrennte Cluster beinhaltet. Innerhalb eines Clusters sollten dabei hinsichtlich des 3 km Umfelds möglichst ähnliche Bienenstände zusammengefasst sein. Zusätzlich musste auch darauf geachtet werden, dass die erhaltene Lösung gut interpretierbar war.

Im vorliegenden Fall wurde entschieden, eine 5-Cluster-Lösung zu verwenden. Die 4-Cluster-Lösung war noch zu grob, hier gab es einen Grünland-Nadelwald-Cluster, der in der 5-Cluster-Lösung dann klar in einen Nadelwaldcluster und einen Grünlandcluster aufgetrennt werden konnte. In der 6-Clusterlösung und der 7-Clusterlösung waren die zusätzlichen Cluster mit nur zwei bzw. 3 Bienenständen besetzt (Bienenstände in Gebirgslage, Bienenstände mit hohem Anteil an grenznahen Agrarflächen in Nachbarstaaten). Diese beiden Lösungen waren zu genau auflösend und wurden daher nicht weiter verfolgt.

Da neun der teilnehmenden Imker im Zeitraum der Beobachtungsstudie mit ihren Bienen an einen neuen Standort gewandert waren, flossen auch diese – somit 202 Bienenstände statt der 193 Bienenstände – in die Clusteranalyse ein. Für die Analysen über die Zusammenhänge zwischen Landnutzung und Winterverluste wurde für jeden wandernden Imker einer der beiden Bienenstände ausgewählt. Dabei wurde der Sommerbienenstand gewählt, wenn die Bienen nach dem 15.09.2016 auf den Winterbienenstand verstellt worden waren. Wurden die Bienenvölker vor dem 15.09.2016 auf den Winterbienenstand verbracht, floss der Winterbienenstand in die Berechnungen ein.

3a.4 Ergebnisse

3a.4.1 Datenstruktur teilnehmender ImkerInnen und Imkereibetriebe

3a.4.1.1 Beschreibung der Imkereibetriebe

Insgesamt nahmen 193 Imkereibetriebe an der Studie teil, von denen 188 Betriebe an allen drei Bienenstandbesuchen besucht wurden. Es gab zum Zeitpunkt des Studienbeginns 26.063 Imkereibetriebe in Österreich (laut Biene Österreich 2015, Tabelle hierzu im Vorwort). Daher wurden etwa 1% aller ImkerInnen Österreichs in die Beobachtungsstudie einbezogen. Es wurden zwischen 2077 und 1769 Fokusvölker pro Besuch begutachtet (erster und dritter Besuch) – dies macht 1% der 347.128 österreichischen Bienenvölker aus (laut Biene Österreich 2015).

Die Imkereibetriebe der Basisgruppe wurden aufgrund der geografischen Verteilung der Mitglieder des österreichischen Imkerbundes ausgesucht (siehe Abschnitt 3a.3.1.3), wodurch die Mitglieder-Verteilung des Imkerbundes in den neun Bundesländern genau abgebildet wurde (Abbildung 3.4). Die folgenden Beschreibungen betreffen alle ImkerInnen und Imkereibetriebe, die an zumindest den ersten beiden Standbesuchen teilgenommen hatten (N = 190 Stände).

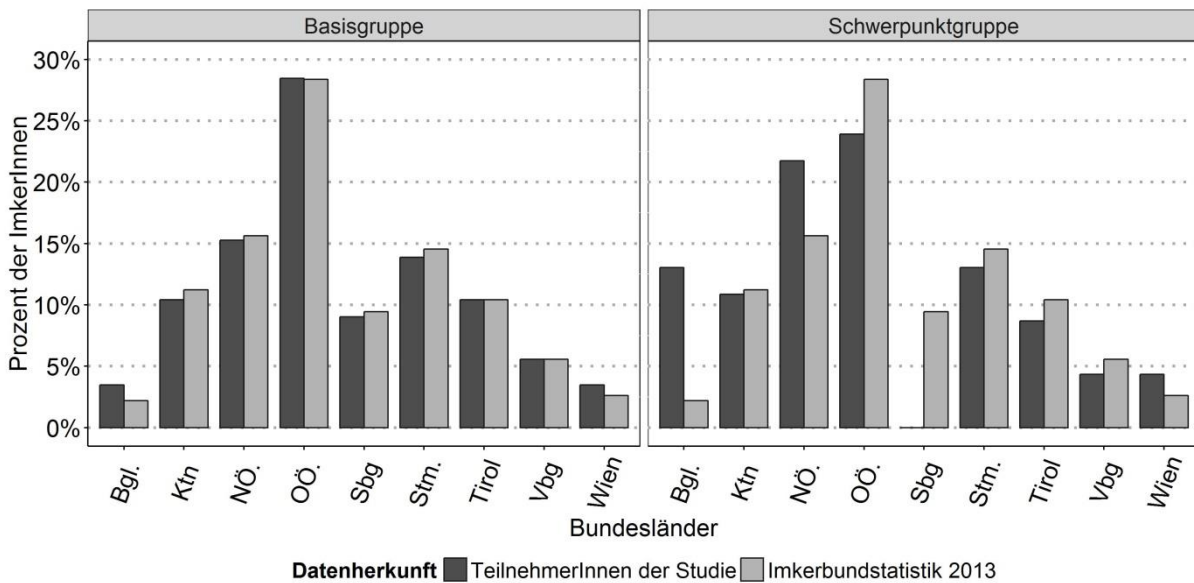


Abbildung 3.4: Bundesländervergleich der StudienteilnehmerInnen (Basisgruppe: N = 144; Schwerpunktgruppe N = 46; insgesamt: N = 190) mit der Mitgliederstatistik des Österreichischen Imkerbundes im Jahr 2013 (Österreichischer Imkerbund, 2013).

Die Betriebsgrößenverteilung der österreichischen Imkereien wurde in der Basisgruppe nur teilweise abgebildet (Abbildung 3.5). Die Gruppe der ImkerInnen mit bis zu zehn Völkern war stark unterrepräsentiert. Während 73% aller österreichischen ImkerInnen zu dieser gehörten, betrug ihr Anteil in der Basisgruppe nur 21%.

Die Schwerpunktgruppe enthielt Imkereibetriebe aus intensiv ackerbaulich genutzten Gegenden, aus Gebieten mit erhöhten Winterverlusten im Jahr 2014/15, aus städtischen Gebieten sowie imkerliche Großbetriebe (siehe Abschnitt 3a.3.1.4). Dies schlug sich auch in der Verteilung der Imkereibetriebe nieder und dementsprechend waren ImkerInnen aus dem Burgenland, Niederösterreich und Wien in der Schwerpunktgruppe – im Vergleich zur ÖIB-Statistik 2013 – überrepräsentiert (Österreichischer Imkerbund, 2013; Abbildung 3.4). Diese Bundesländer sind durch große Flächen intensiver Landwirtschaft oder stark städtischer Ausprägung gekennzeichnet. Ebenso bestand die Schwerpunktgruppe zu 57% aus Imkereibetrieben mit über 50 Völkern (Abbildung 3.5), von denen sich ebenfalls viele in Ostösterreich befanden. Die Schwerpunktgruppe enthält keine TeilnehmerInnen aus Salzburg, da weder über den Aufruf zur freiwilligen Teilnahme noch über gezielte Anfragen ImkerInnen für die Schwerpunktgruppe gefunden wurden. In den letzten Jahren wurden zudem aus Salzburg keine Vergiftungsverdachtsfällen an die AGES gemeldet, die als Ansatzpunkte für die Aufnahme von Bienenständen in die Schwerpunktgruppe dienen hätten können.

Auf den besuchten Bienenständen waren beim ersten Bienenstandbesuch im Mittel 14,2 Völker aufgestellt (Standardabweichung: $\pm 8,9$ Völker). Zwischen den Bundesländern bestanden beträchtliche Unterschiede in der Zahl der Bienenvölker auf den besuchten Bienenständen. Mit durchschnittlich 22,0 Völkern/Stand (Standardabweichung: $\pm 14,6$ Völker) war die Völkerzahl auf den in der Studie vertretenen Ständen im Burgenland am höchsten und in Wien mit durchschnittlich 8,1 Völkern/Stand (Standardabweichung: $\pm 3,8$ Völker) am niedrigsten (Details siehe Tabelle 3.11). Auf dem kleinsten Bienenstand der Beobachtungsstudie standen zwei Völker und auf dem

größten Bienenstand waren 47 Völker aufgestellt. Die Anzahl der inspizierten Fokusvölker lag im Mittel bei 10,7 Völkern/Stand (Standardabweichung: $\pm 4,4$ Völker; Tabelle 3.11).

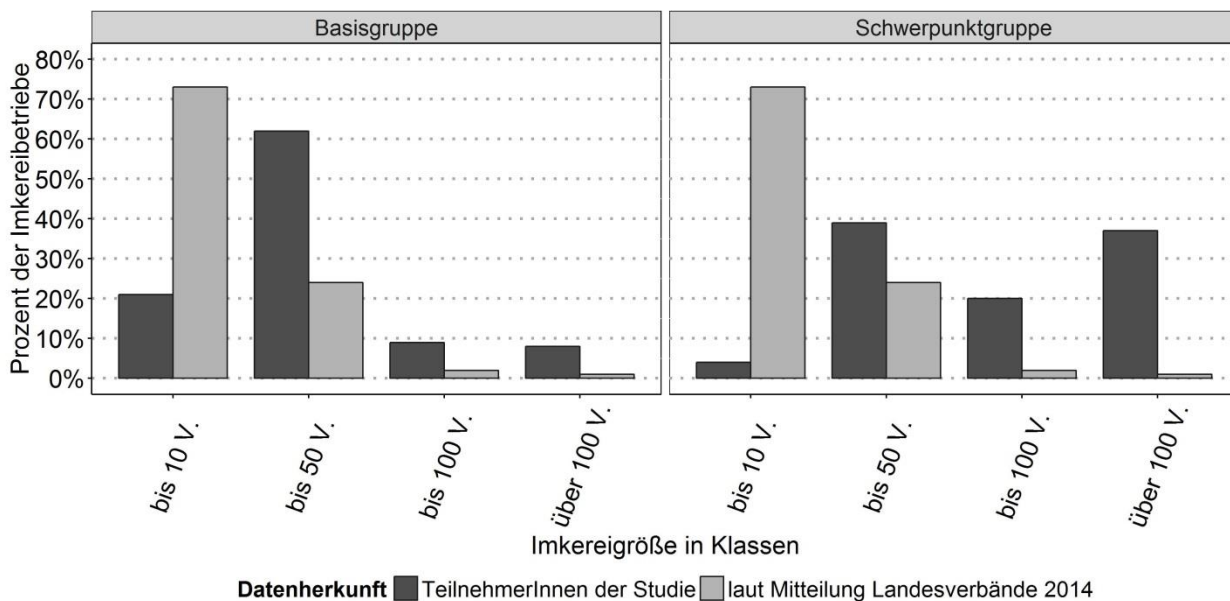


Abbildung 3.5: Vergleich der Größe der Imkereibetriebe in der Beobachtungsstudie (Basisgruppe: N = 144; Schwerpunktgruppe N = 46; insgesamt: N = 190) mit Daten der Imkerstatistik aus dem Jahr 2014 (laut Mitteilung der Landesverbände; aus Oberösterreich, der Steiermark und Wien lagen keine Daten vor). V. = Völker.

Tabelle 3.11: Durchschnittliche Größe des Bienenstandes beim ersten Bienenstandbesuch, Anzahl der Fokusvölker, Betriebsart und Betriebsschwerpunkt des Imkereibetriebes.

BL	Anzahl Bienenstände	Anzahl Bienenvölker [M \pm SD]		Betriebsart und -schwerpunkt			
		am Stand	davon Fokusvölker	Biobetrieb	Honigproduktion	Königinnenproduktion	Jungvolkproduktion
Bgl.	11	22,0 \pm 14,6	11,5 \pm 4,8	27 %	100 %	18 %	73 %
Ktn	20	16,9 \pm 10,3	11,8 \pm 4,4	10 %	95 %	45 %	55 %
NÖ.	32	14,9 \pm 7,8	11,5 \pm 3,3	25 %	100 %	28 %	44 %
OÖ.	52	12,1 \pm 6,5	10,1 \pm 4,9	21 %	100 %	29 %	67 %
Sbg	13	13,8 \pm 5,0	11,7 \pm 3,5	15 %	100 %	46 %	62 %
Stm.	26	13,8 \pm 7,9	10,7 \pm 4,8	15 %	100 %	19 %	35 %
Tirol	19	17,2 \pm 12,8	11,2 \pm 5,3	11 %	100 %	47 %	58 %
Vbg	10	9,4 \pm 4,3	8,9 \pm 3,3	0 %	100 %	0 %	10 %
Wien	7	8,1 \pm 3,8	7,6 \pm 3,0	14 %	100 %	29 %	29 %
insg.	190	14,2 \pm 8,9	10,7 \pm 4,4	17 %	99 %	30 %	52 %

BL = Bundesland; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung

teilnehmenden ImkerInnen hatte die Jungvolkproduktion als zweite wichtige Einnahmequelle genannt. Diese Antwort war besonders bei den burgenländischen, oberösterreichischen und Salzburger ImkerInnen häufig. Etwa ein Drittel aller Imkereibetriebe der Studie beschäftigte sich

außerdem mit Königinnenzucht. Dies wurde am häufigsten von Kärntner, Salzburger und Tiroler TeilnehmerInnen angegeben.

In der Studie waren 17% zertifizierte Bioimkereien vertreten. Diese kamen vor allem aus dem Burgenland, Niederösterreich und Oberösterreich.

3a.4.1.2 Dauer der Bienenhaltung und Ausbildung der teilnehmenden ImkerInnen

Die Dauer der Bienenhaltung war unter den ausgewählten ImkerInnen sehr unterschiedlich. Im Mittel waren die TeilnehmerInnen seit 25,9 Jahren als Imker tätig (Standardabweichung: $\pm 16,2$ Jahre). Unter den TeilnehmerInnen waren sowohl ImkerInnen mit 71 Jahren Imkereierfahrung als auch ImkerInnen, die erst 2014 mit der Imkerei begonnen hatten. Dabei fanden sich in allen Bundesländern ImkerInnen mit unterschiedlichem Erfahrungsniveau (Abbildung 3.6). Auffällig war jedoch, dass sich unter den Wiener TeilnehmerInnen viele ImkerInnen befanden, die erst seit wenigen Jahren Bienen hielten (Mittelwert = 10,4 Jahre $\pm 12,1$ Jahre Standardabweichung). Im Gegensatz dazu hatten im Burgenland mehr als die Hälfte aller ImkerInnen über 30 Jahre Erfahrung in der Bienenhaltung (Mittelwert = 28,8 Jahre $\pm 14,4$ Jahre Standardabweichung).

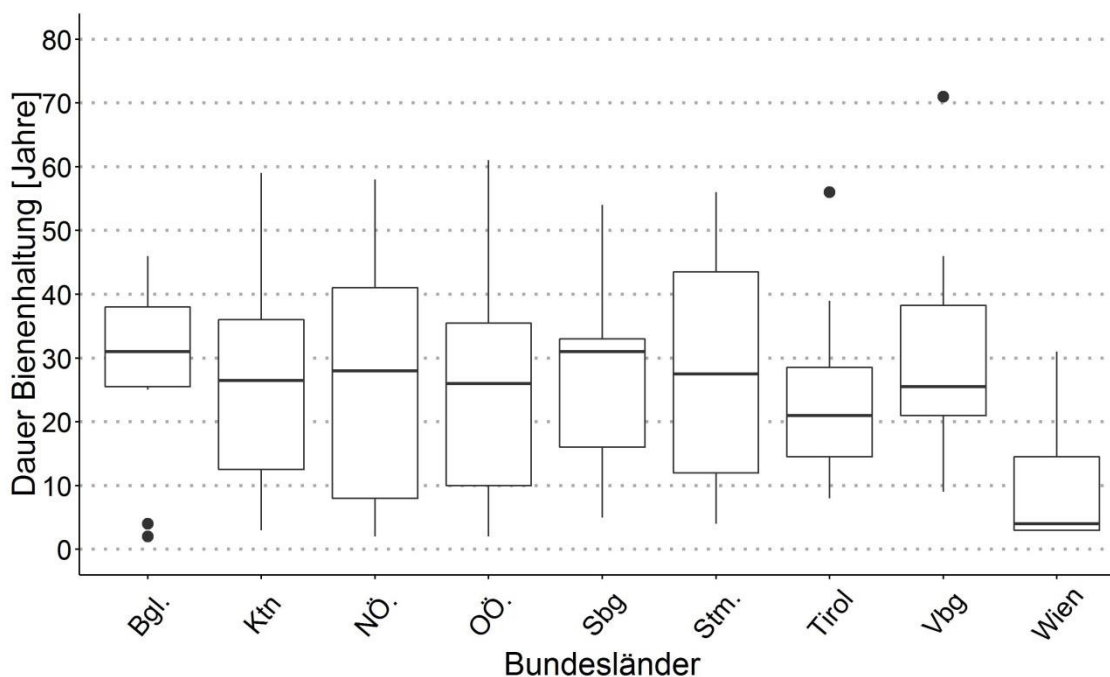


Abbildung 3.6: Boxplot Diagramm zur Erfahrung der teilnehmenden ImkerInnen – gemessen an der Dauer der Bienenhaltung – nach Bundesländern aufgeteilt (N = 190); Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Die an der Beobachtungsstudie teilnehmenden ImkerInnen waren zum großen Teil an Aus- und Fortbildung interessiert. 89% aller StudienteilnehmerInnen hatten mindestens eine Maßnahme zur Imkerausbildung absolviert (Maßnahmen siehe Abbildung 3.7), wobei etwa die Hälfte an zwei oder mehr Ausbildungsmaßnahmen teilgenommen hatte. 65% hatten an einem Grundkurs und 57% an Aufbaukursen teilgenommen. Die Teilnahme an solchen Kursen war vor allem bei den TeilnehmerInnen aus der Steiermark, Tirol und Wien sehr häufig (Abbildung 3.7). 33% aller TeilnehmerInnen hatten eine imkerliche Berufsausbildung absolviert: 25% hatten einen Abschluss als Fach-

arbeiterIn und 19% als ImkermeisterIn. Weitere 16% aller TeilnehmerInnen hatten die Wanderlehrausbildung abgeschlossen. Der Inhalt der absolvierten Kurse (zum Beispiel Varroaschulung) und der Zeitpunkt des Absolvierens der Fortbildungsmaßnahme war nicht abgefragt worden.

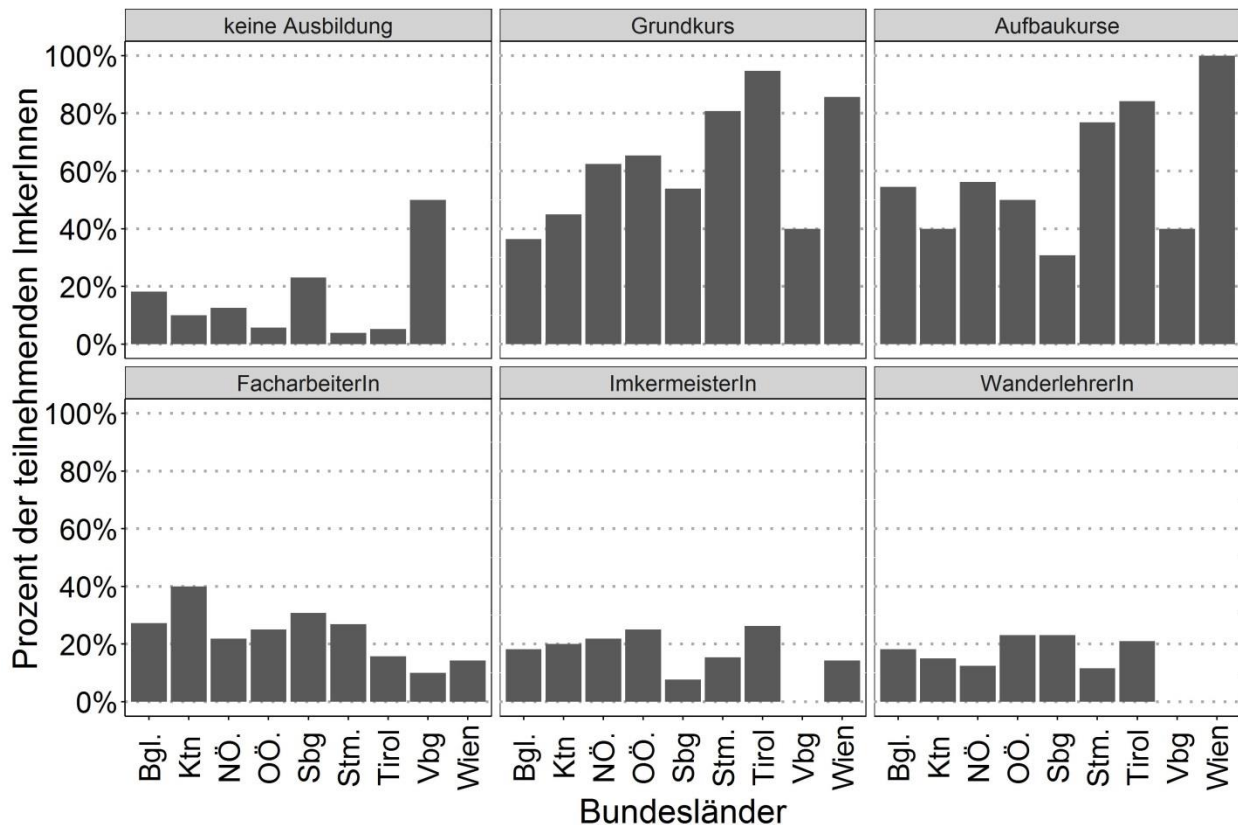


Abbildung 3.7: Ausbildungsstand der teilnehmenden ImkerInnen in den neun Bundesländern (N = 190).

Die TeilnehmerInnen nahmen verschiedenste Informationsquellen zur Weiterbildung in Anspruch. Dabei war das Lesen von Imkerzeitschriften die üblichste Form der regelmäßigen Information. 182 von 190 ImkerInnen lasen diese mindestens einmal im Monat (Abbildung 3.8). Das Internet und der Informationsaustausch auf Vereinsabenden wurden von etwa der Hälfte aller ImkerInnen mindestens einmal monatlich als Informationsquelle genutzt. Die Teilnahme an Kursen und Tagungen war unter den StudienteilnehmerInnen ebenfalls sehr beliebt. Über 80% besuchten diese Veranstaltungen mindestens einmal im Jahr (Abbildung 3.8).

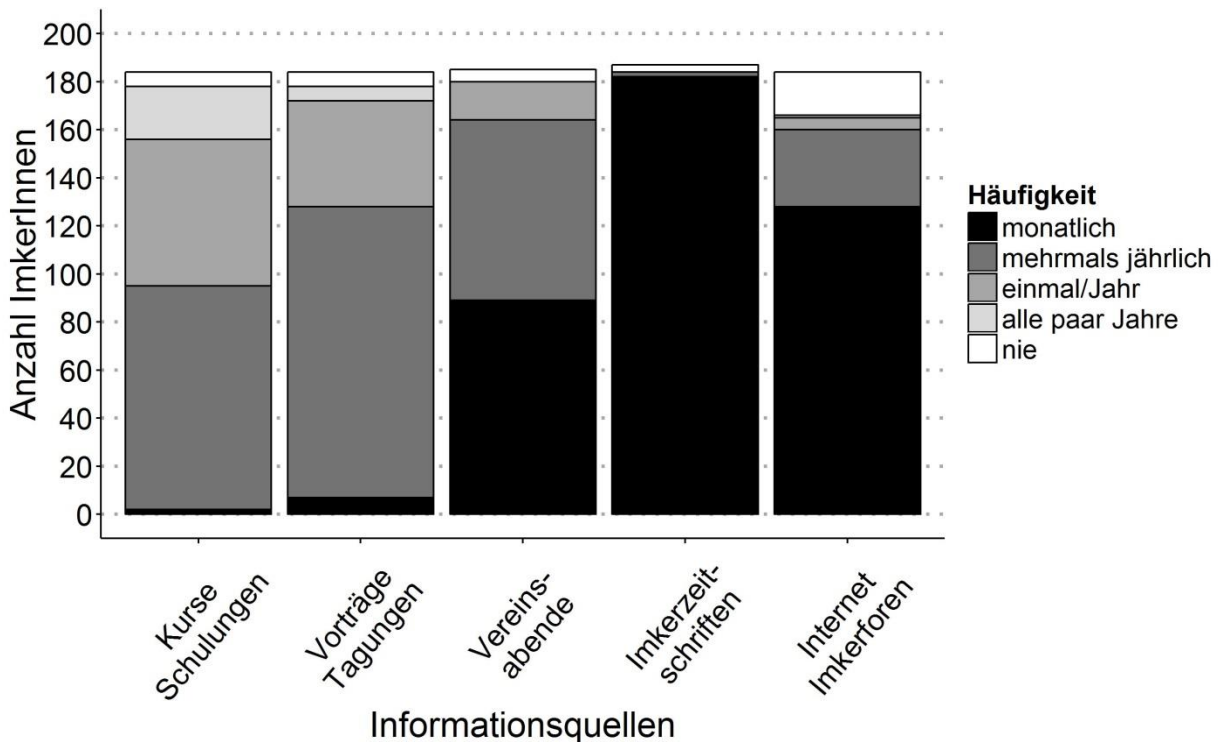


Abbildung 3.8: Häufigkeit der Fortbildung an der Beobachtungsstudie teilnehmender Imker (N = 190).

3a.4.1.3 Beschreibung der Landnutzung um die Bienenstände

Jeder Stand wurde hinsichtlich der Landnutzung im Flugkreis – das heißt in einem Radius von 3 km um den Bienenstand – auf Basis der genutzten Datenbanken (INVEKOS, CORINE, BFW) bewertet und entsprechend den Ergebnissen einem der fünf definierten Landnutzungscluster zugeordnet (Tabelle 3.12; Abbildung 3.9).

Cluster 1 fasste Bienenstände zusammen, deren Umgebung von Nadelwald dominiert wurde (Tabelle 3.12). Um die Bienenstände dieses Clusters befanden sich aber auch etwas Grünland und bebaute Flächen. Cluster 1 beinhaltete mit 112 Bienenständen mehr als die Hälfte aller Bienenstände der Beobachtungsstudie. Bienenstände dieses Clusters finden sich in allen Bundesländern. Regional fehlten sie nur im Nordosten Österreichs (Abbildung 3.9).

Cluster 2 fasste Bienenstände mit relativ inhomogener Umgebung zusammen. Dabei fanden sich Laubwald, Maisanbauflächen, aber auch Nadelwald, Grünland und bebaute Flächen im Flugkreis der Bienen (Tabelle 3.12). Cluster 2 war der kleinste Cluster mit insgesamt 15 Bienenständen. Diese befanden sich tendenziell in der Nähe von großen Städten wie Linz, Wien und Graz, im Süden des Burgenlandes und der Steiermark (Abbildung 3.9).

Im Cluster 3 befanden sich Bienenstände in stark ackerbaulich genutzten Gebieten. Auf den Flächen um diese Bienenstände dominierten Getreideanbau, der Anbau von Ölfrüchten und Ölsaaten und andere Ackerkulturen (Tabelle 3.12). Dieser Cluster bestand aus 22 Bienenständen. Diese waren ausschließlich im Osten von Österreich – in Oberösterreich, Niederösterreich, dem Burgenland und der Steiermark – zu finden (Abbildung 3.9).

5-Cluster-Lösung

- C1 - Nadelwald, Grünland, Bebaute Flächen
- C2 - Laubwald, Getreide/Mais
- C3 - Getreide/Mais, Andere Ackerkulturen, Ölfrüchte
- C4 - Grünland, Getreide/Mais, Nadelwald
- C5 - Bebaute Flächen

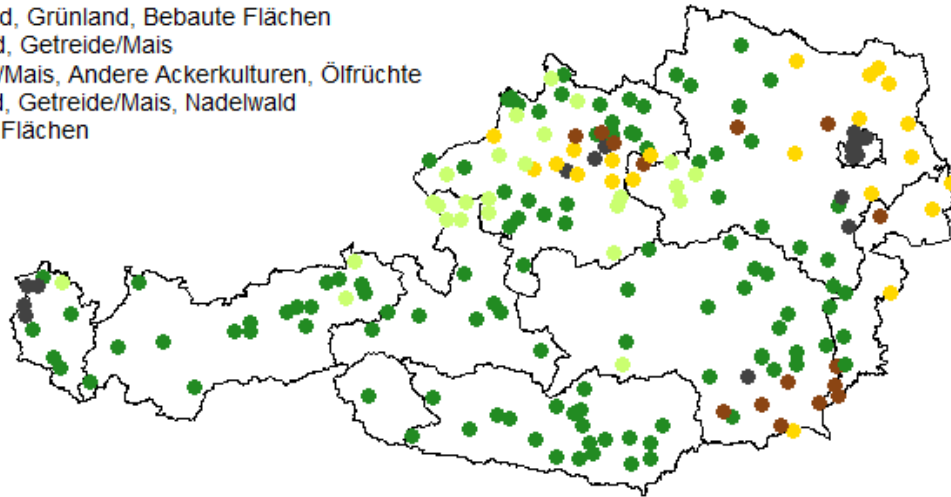


Abbildung 3.9: Verteilung der 193 Bienenstände zum Zeitpunkt des ersten Standbesuches der Beobachtungsstudie nach ihrer Zuordnung zu den fünf Landnutzungsclustern (siehe Legende links oben).

Der Flugkreis um die Bienenstände des Clusters 4 wurde von Grünland dominiert, daneben fand sich auch etwas Nadelwald (Tabelle 3.12). Die 26 Bienenstände waren über ganz Österreich verteilt; die meisten davon waren in Oberösterreich lokalisiert (Abbildung 3.9).

Cluster 5 beinhaltete 18 Bienenstände in städtischer Umgebung, die von einem hohen Anteil an bebauten Flächen dominiert war (Tabelle 3.12). Er markiert daher großstädtische Bereiche wie Wien, Graz und Linz, sowie dicht besiedelte Bereiche, wie die Gegend um Wiener Neustadt und Bregenz (Abbildung 3.9).

Tabelle 3.12: Medianer Anteil der 23 Landnutzungskategorien am Flugkreis der Bienen (Radius von 3 km um den Bienenstand: circa 28,3 km² abhängig von der Vollständigkeit der Landnutzungsdaten) in den fünf definierten Landnutzungsclustern (Cluster 1: 112 Bienenstände; Cluster 2: 15 Bienenstände; Cluster 3: 22 Bienenstände, Cluster 4: 26 Bienenstände; Cluster 5: 18 Bienenstände). Grau markierte Bereiche: Medianer Anteil der Landnutzungskategorie nimmt über 10% der Flugkreisfläche ein.

Landnutzungskategorie	Cluster 1		Cluster 2		Cluster 3		Cluster 4		Cluster 5	
	M	Q1-Q3	M	Q1-Q3	M	Q1-Q3	M	Q1-Q3	M	Q1-Q3
Ackerfutterfläche	2%	0-5%	1%	1-2%	2%	1-3%	3%	1-6%	1%	0-2%
Agrarfläche im Ausland	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%
Almen	0%	0-1%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%
Andere Ackerkulturen	0%	0-1%	5%	1-7%	7%	4-9%	0%	0-0%	0%	0-2%
Bebaute Flächen	7%	3-13%	8%	4-18%	6%	4-11%	6%	3-7%	48%	41-81%
Eiweißpflanzen	0%	0-0%	0%	0-0%	1%	1-1%	0%	0-0%	0%	0-0%
Forstflächen	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%

Getreide exkl. Mais	2%	0-8%	6%	4-8%	30%	24-36%	4%	0-13%	0%	0-7%
Grünanlagen Sport	0%	0-0%	0%	0-2%	0%	0-0%	0%	0-0%	2%	0-5%
Grünland	19%	11-25%	8%	6-10%	5%	4-7%	41%	32-49%	3%	1-5%
Kartoffeln	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-1%	0%	0-0%	0%	0-0%
Laubwald	4%	2-8%	15%	14-31%	5%	3-8%	6%	4-9%	4%	2-10%
Mais	2%	0-5%	13%	3-22%	15%	9-24%	1%	0-13%	2%	0-4%
Mischwald laubdominiert	3%	1-4%	4%	2-6%	0%	0-1%	3%	1-6%	0%	0-1%
Mischwald nadeldominiert	4%	2-6%	6%	2-6%	0%	0-1%	3%	1-5%	0%	0-1%
Nadelwald	38%	26-48%	11%	6-15%	2%	1-9%	16%	8-26%	3%	1-7%
Ölfrüchte/Ölsaaten	0%	0-1%	3%	1-3%	7%	5-9%	0%	0-1%	0%	0-1%
Schläge BFW	0%	0-1%	1%	1-1%	1%	0-1%	0%	0-2%	0%	0-0%
Sonstige Flächen CORINE	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%
Sonstige Nutzflächen	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%
Spezialkulturen	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-0%
Wasser oder Feuchtflächen	0%	0-1%	0%	0-3%	0%	0-0%	0%	0-2%	1%	0-4%
Weinfläche im Ertrag	0%	0-0%	0%	0-1%	0%	0-0%	0%	0-0%	0%	0-2%

M = Median; Q1 = unteres Quartil; Q3 = oberes Quartil

3a.4.2 Ergebnisse der Völkerinspektionen

Beim ersten Standbesuch wurden auf allen Beobachtungsständen insgesamt 2077 Bienenvölker auf Krankheitssymptome inspiziert. Beim zweiten Standbesuch waren es 1977 Völker und beim dritten Standbesuch 1769 Völker (siehe Infobox in Kapitel 3a.3.7.1). Die Verringerung der Anzahl der beprobten Völker kam einerseits durch den Wegfall von Beobachtungsbienenständen (für Details siehe Kapitel 3a.3.1.5) und andererseits durch den Ausfall von Studienvölkern (Absterben, Vereinigung mit einem anderen Volk, Verbringung an einen anderen Stand) zustande.

3a.4.2.1 Klinische Prävalenzen anzeigepflichtiger und nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten auf Volksebene

Vergleicht man die klinische Prävalenz der anzeigepflichtigen Bienenkrankheiten auf Ebene der Einzelvölker, ist ersichtlich, dass die Varroose das mit Abstand am häufigsten auftretende Schadbild war (Tabelle 3.13, Abbildung 3.10 A). Im Sommer und Herbst 2015 hatten etwa 5% aller begutachteten Völker ein sichtbares Schadbild der Varroose. Klinische Symptome der Amerikanischen Faulbrut traten bei 0,2% oder einem noch geringeren Anteil der Völker auf. Für ein Auftreten des kleinen Bienenstockkäfers oder *Tropilaelaps*-Milben gab es keine Anzeichen.

Klinische Symptome der nicht anzeigepflichtigen Krankheiten Sackbrut und Kalkbrut traten mit hoher saisonaler Variation auf (Tabelle 3.13, Abbildung 3.10 B). Die klinische Prävalenz beider Krankheiten war beim ersten Besuch im Sommer 2015 am höchsten (Sackbrut: 1,3%; Kalkbrut: 3,5%). Bei keinem der drei Standbesuche waren klinische Symptome von Europäischer Faulbrut zu erkennen.

Tabelle 3.13: Klinische Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten auf Volksebene. Die Häufigkeit wurde aufgrund der von den ProbennehmerInnen beschriebenen Symptomatik erhoben, Werte in Klammer geben das 95% Konfidenzintervall an. Die Diagnose Amerikanische Faulbrut wurde zusätzlich in Labortests verifiziert. Anzahl inspizierter Völker: Besuch 1, Sommer 2015: n = 2077; Besuch 2, Herbst 2015: n = 1977; Besuch 3, Frühling 2016: n = 1769.

Krankheiten		Besuch 1	Besuch 2	Besuch 3
anzeigepflichtig	Amerikanische Faulbrut	0,2% (0,1-0,4%)	0,0% (0,0-0,0%)	0,1% (0,0-0,2%)
	Varroose	5,0% (4,1-6,0%)	4,8% (3,9-5,8%)	1,5% (1,0-2,1%)
	Kleiner Bienenstockkäfer	0,0%	0,0%	0,0%
	Tropilaelaps Milben	0,0%	0,0%	0,0%
nicht anzeigepflichtig	Europäische Faulbrut	0,0%	0,0%	0,0%
	Sackbrut	1,3% (0,9-1,9%)	0,2% (0,0-0,4%)	0,2% (0,0-0,4%)
	Kalkbrut	3,5% (2,7-4,3%)	0,7% (0,4-1,1%)	2,0% (1,4-2,7%)

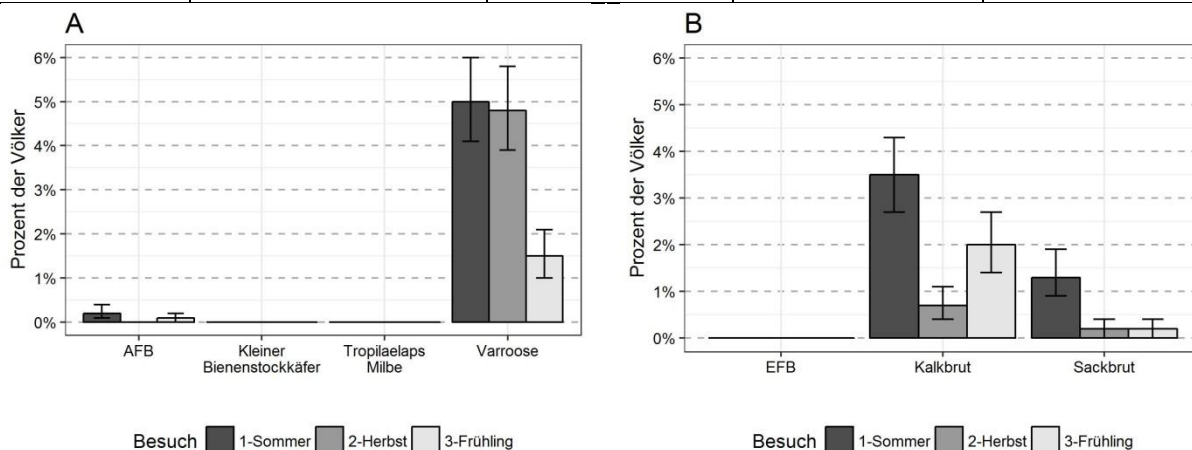


Abbildung 3.10: Klinische Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten auf Volksebene. **A** anzeigepflichtige Krankheiten, **B** nicht anzeigepflichtige Krankheiten. Die Häufigkeit wurde aufgrund der von den ProbennehmerInnen beschriebenen Symptomatik erhoben. Die Diagnose Amerikanische Faulbrut wurde zusätzlich in Labortests verifiziert. Anzahl inspizierter Völker Besuch 1: n = 2077; Besuch 2: n = 1977; Besuch 3: n = 1769; Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall.

3a.4.2.2 Klinische Prävalenzen anzeigepflichtiger und nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten auf Standebene

Die klinische Prävalenz auf Standebene zeigte ein ähnliches Muster wie auf Volksebene. Dabei galt ein Stand als von einer Krankheit befallen, wenn zumindest ein Volk klinische Symptome der entsprechenden Krankheit zeigte.

Varroose hatte auch auf Standebene die höchste klinische Prävalenz unter den anzeigepflichtigen Krankheiten (Tabelle 3.14; Abbildung 3.11). Dabei waren etwa ein Fünftel aller Stände der Beobachtungsstudie im Sommer und Herbst 2015 von Varroose betroffen. Klinische Symptome der Amerikanischen Faulbrut waren auf maximal 1% aller Stände vertreten. Auf keinem Bienenstand wurden Anzeichen des Vorhandenseins des Kleinen Bienenstockkäfers oder von *Tropilaelaps*-Milben gefunden. Die nicht anzeigepflichtigen Krankheiten Sackbrut und Kalkbrut

traten am häufigsten im Sommer 2015 auf (Tabelle 3.14; Abbildung 3.11 B). Alle 193 besuchten Stände waren bei allen erfolgten Standbesuchen frei von Symptomen der Europäischen Faulbrut.

Tabelle 3.14: Klinische Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten auf Bienenstandniveau. Die Häufigkeit wurde aufgrund der von den ProbennehmerInnen beschriebenen Symptomatik erhoben, Werte in Klammer geben das 95% Konfidenzintervall an. Ein Stand galt als befallen, wenn bei zumindest einem Volk Anzeichen der entsprechenden Krankheit bemerkt wurden. Die Diagnose Amerikanische Faulbrut wurde zusätzlich in Labortests verifiziert. Anzahl inspizierter Stände: Besuch 1: n = 193; Besuch 2: n = 190; Besuch 3: n = 183.

Krankheiten		Besuch 1	Besuch 2	Besuch 3
anzeigenpflichtig	Amerikanische Faulbrut	1,0% (0,3-2,7%)	0,0% (0,0-0,0%)	0,5% (0,1-1,9%)
	Varroose	21,8% (16,3-27,9%)	21,6% (16,1-27,8%)	8,7% (5,2-13,4%)
	Kleiner Bienenstockkäfer	0,0%	0,0%	0,0%
	Tropilaelaps Milben	0,0%	0,0%	0,0%
nicht anzeigenpflichtig	Europäische Faulbrut	0,0%	0,0%	0,0%
	Sackbrut	7,3% (4,1-11,5%)	1,6% (0,4-4,1%)	1,6% (0,4-4,2%)
	Kalkbrut	14,0% (9,6-19,4%)	4,2% (1,9-7,7%)	10,4% (6,5-15,4%)

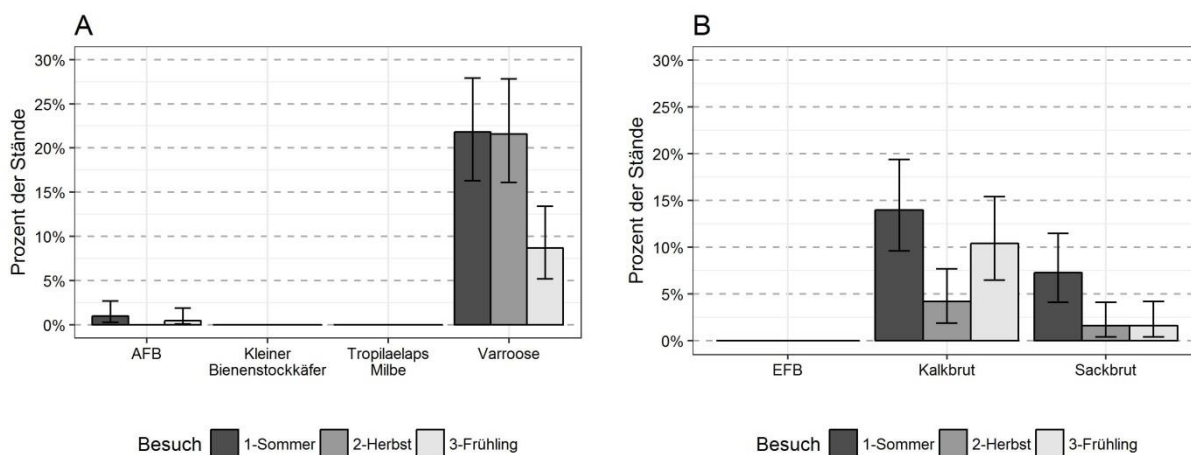


Abbildung 3.11: Klinische Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten auf Standniveau. **A** anzeigepflichtige Krankheiten, **B** nicht anzeigepflichtige Krankheiten. Die Häufigkeit wurde aufgrund der von den ProbennehmerInnen beschriebenen Symptomatik erhoben. Ein Stand galt als befallen, wenn bei zumindest einem Volk Anzeichen der entsprechenden Krankheit bemerkt wurden. Die Diagnose Amerikanische Faulbrut wurde zusätzlich in Labortests verifiziert. Anzahl inspizierter Stände: Besuch 1: n = 193; Besuch 2: n = 190; Besuch 3: n = 183; Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall.

3a.4.2.3 Klinische Prävalenzen anzeigepflichtiger und nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten zu den drei Inspektionsterminen

Da sowohl manche der anzeigepflichtigen als auch der nicht anzeigepflichtigen Bienenkrankheiten von der Jahreszeit bzw. dem Vorhandensein von Brut und dem Brutumfang in den Völkern abhängig sind, erfolgte – zusätzlich zu der im vorigen Abschnitt dargestellten Gesamtauswertung – auch eine nach Inspektionsterminen gegliederte Auswertung der klinischen Prävalenzen.

3a.4.2.3.1 Amerikanische Faulbrut

Beim ersten Standbesuch entdeckten die ProbenehmerInnen auf zwei Ständen in Niederösterreich klinische Symptome der Amerikanischen Faulbrut. Die nach erfolgter Meldung an die zuständige Bezirksverwaltungsbehörde und in Absprache mit dem Amtstierarzt erfolgte Probeziehung durch die ProbenehmerInnen des Projekts wurde als amtlich gewertet. Die Untersuchung des Probenmaterials im Labor der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz der AGES bestätigte in beiden Fällen die Anwesenheit von *Paenibacillus larvae* und damit das Vorkommen von Amerikanischer Faulbrut auf den beiden Bienenständen (Tabelle 3.15). Auf dem einen betroffenen Stand war bei 3 von 9 Völkern vom Probenehmer / von der Probenehmerin Faulbrut diagnostiziert worden (= 33,3%), es wurde jedoch nur die Brutprobe von einem der Völker im Labor analysiert. Da die Diagnose auf dem Bienenstand durch einen erfahrenen Bienensachverständigen erfolgte, wurden alle 3 Völker als von Amerikanischer Faulbrut betroffen gewertet. Auf dem anderen Stand war eines von 13 Völkern (= 7,7%) von Faulbrut betroffen.

Bezogen auf die Gesamtzahl an kontrollierten Völkern der Beobachtungsstudie errechnete sich für den Zeitpunkt des ersten Standbesuches für Amerikanische Faulbrut eine Prävalenz von 0,2% (Konfidenzintervall: 0,1-0,4%) und bezogen auf die kontrollierten 193 Bienenstände eine Prävalenz von 1,0% (Konfidenzintervall: 0,1-1,9%).

Beim zweiten Standbesuch wurden in den inspizierten Völkern keine Anzeichen von Amerikanischer Faulbrut festgestellt, was einer Prävalenz von 0% auf dem Niveau der Gesamtzahl inspizierter Völker bzw. Stände entspricht.

Beim dritten Standbesuch wurde Amerikanische Faulbrut in einem von neun Völkern auf einem Stand in Tirol gefunden (= 11,1%). Dieser Verdacht wurde durch Laboranalysen bestätigt (Tabelle 3.15). Die Prävalenz von Amerikanischer Faulbrut war daher im Frühling 2016 bei 0,1% (Konfidenzintervall: 0,0-0,2%) auf Volksniveau und bei 0,5% (Konfidenzintervall: 0,1-1,9%) auf Standniveau (Tabellen 3.13, 3.14).

3a.4.2.3.2 Kleiner Bienenstockkäfer und Tropilaelaps-Milben

In keinem der während der Beobachtungsstudie inspizierten Völker waren Anzeichen für ein Vorkommen von *Aethina tumida* und Tropilaelapsmilben vorhanden. Daraus ergibt sich eine Prävalenz von 0% für jeden Inspektionstermin auf dem Niveau der inspizierten Völker und auch auf Standniveau (Tabellen 3.13, 3.14; Abbildung 3.10 A, 3.11 A).

3a.4.2.3.3 Varroose

Die Häufigkeit des Auftretens von Varroose-Symptomen varrierte in den Fokusvölkern signifikant in Abhängigkeit von der Jahreszeit der Inspektion ($\chi^2 = 46,11$; $df = 2$; $P < 0,001$). Dabei waren im Sommer und Herbst 2015 etwa 5% aller Völker und 20% aller Stände von Varroose betroffen (Tabellen 3.13, 3.14; Abbildung 3.10 A, 3.11 A). Im Frühling 2016 waren die Völker und Stände signifikant seltener von Varroose betroffen als zu den anderen zwei Beobachtungszeitpunkten (Volksniveau: $P < 0,001$ für beide Vergleiche; Standniveau: $P < 0,01$ für beide Vergleiche). Der Anteil von Völkern bzw. Ständen mit Varroa-Symptomen reduzierte sich vom Herbst 2015 zum Frühling 2016 um 70% der Völker bzw. 60% der Stände (Tabellen 3.13, 3.14; Abbildung 3.10 A, 3.11 A).

Die ProbennehmerInnen gaben bei insgesamt 224 Völkern an, dass diese Völker von Varroose betroffen waren. In 207 Fällen gaben sie zusätzlich noch an, welche Varroose-Symptome sie beobachtet hatten. Mit 140 Nennungen wurde das Symptom „Varroamilben auf Bienen“ am häufigsten beobachtet (Abbildung 3.12 A). Das Symptom „Flügel deformiert“ wurde 96 Mal genannt. „Varroa in Zelldeckeln“ wurde mit 33 Nennungen am seltensten beobachtet. Die Symptome „Flügel deformiert“ und „Varroamilben auf Bienen“ wurden jeweils in etwa 60% der Fälle ohne Nennung weiterer Varroa-Symptome angeführt. Das Symptom „Varroa in Zelldeckeln“ wurde hingegen meist zusammen mit einem anderen Symptom (61% der Fälle) oder mit den beiden häufigsten anderen Symptomen genannt (15%). Es ist daher zu vermuten, dass „Varroa in Zelldeckeln“ ein Symptom ist, das erst bei einer starken Ausprägung der Varroose beobachtet wird.

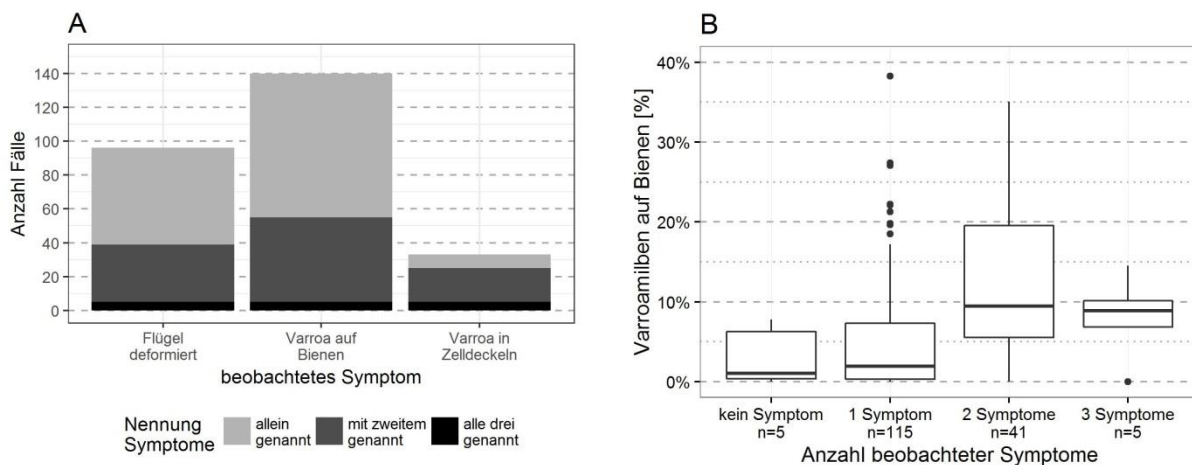


Abbildung 3.12: A Häufigkeit der bei Varroose genannten Symptome (n = 207 Völker). Farben geben an, ob das Symptom allein genannt wurde oder mit einem bzw. zwei der anderen Symptome gemeinsam. **B** Boxplot Diagramm: Zusammenhang zwischen Anzahl der genannten Varroose-Symptome und Höhe des Varroabefalls auf Bienen (n = 166 Völker). Ein Ausreißer wurde aufgrund des hohen Wertes nicht gezeigt (137% Varroamilben in Gruppe „2 Symptome“), Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Es bestand ein positiver Zusammenhang zwischen dem Varroose-Befund der ProbennehmerInnen und den Laborergebnissen des Varroabefalls der Bienen. Beim ersten Besuch betrug der Varroabefall der Bienen aus Völkern mit Varroose-Symptomen im Median 1,1% (unteres Quartil: 0,1%; oberes Quartil: 7,1%; n = 87) und der Varroabefall der Bienen aus Völkern ohne Varroose-Symptome im Median 0,2% (unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 0,8%; n = 1556). Beim zweiten Besuch betrug der Varroabefall der Bienen aus Völkern mit Varroose-Symptomen im Median 7,1% (unteres Quartil: 2,5%; oberes Quartil: 12,1%; n = 79), während der Varroabefall der Bienen aus Völkern ohne Varroose-Symptome im Median 0,5% betrug (unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 1,8%; n = 1479). Bei beiden Besuchen war der Varroabefall der Bienen aus Völkern mit Varroose-Symptomen signifikant höher als der Varroabefall der Bienen aus Völkern ohne Varroose-Symptome (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: 1. Besuch: z = -6,60; P < 0,001; 2. Besuch: z = -9,87, P < 0,001).

Die Anzahl der vom Probennehmer / von der Probennehmerin beobachteten Symptome stand ebenfalls im Zusammenhang mit der Höhe des Varroabefalls auf Bienen (Kruskal-Wallis-Test: H =

26,92; $df = 3$; $P < 0,001$; Abbildung 3.12 A). Bei Beobachtung von zwei oder drei Symptomen war der Varroabefall der Bienen signifikant höher als bei Beobachtung von nur einem oder keinem Symptom (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = -5,123$; $P < 0,001$).

3a.4.2.3.4 Europäische Faulbrut

Bei keinem der drei Standbesuche wurden klinische Symptome der Europäischen Faulbrut gefunden (Tabelle 3.13, Abbildung 3.10). Daraus ergibt sich eine klinische Prävalenz von 0% auf dem Niveau der inspizierten Völker und auch auf Standniveau (Tabellen 3.13, 3.14; Abbildung 3.10 A, 3.11 A).

Dies deckt sich mit den Laboruntersuchungen, die bei allen 41 Brutwabenproben negativ für Europäische Faulbrut ausfielen (Tabelle 3.15).

3a.4.2.3.5 Sackbrut

Insgesamt wurden bei den 3 Standbesuchen in 34 Fokusvölkern Sackbrutsymptome (tote Bienenlarven in Säckchen- oder Schiffchenform) beobachtet. In den betroffenen Völkern wurde jeweils nur bei einem Besuch Sackbrut angetroffen. Die Häufigkeit des Auftretens der Symptome zeigte dabei eine signifikante jahreszeitliche Variation ($\chi^2 = 31,53$; $df = 2$; $P < 0,001$). Mit 28 Fällen und einer Prävalenz von 1,3% (Konfidenzintervall: 0,9-1,9%) wurde Sackbrut am häufigsten im Sommer 2015 beobachtet (Posthoc-Vergleich zu beiden anderen Besuchen: $P < 0,01$). Im Herbst 2015 und Frühling 2016 wurden jeweils 3 Fälle von Sackbrut beobachtet (Prävalenz jeweils 0,2%; Konfidenzintervall: 0,0-0,4%).

Das gleiche jahreszeitliche Muster war auf Standebene zu beobachten ($\chi^2 = 11,06$; $df = 2$; $P = 0,004$; Abbildung 3.11 B; Tabelle 3.14). Es wurde auf insgesamt 17 Ständen Sackbrut diagnostiziert, wobei auf drei Ständen die Symptome bei zwei Besuchen beschrieben wurden. Im Sommer 2015 waren 14 Stände von Sackbrutsymptomen betroffen (7,3%; Konfidenzintervall: 4,1-11,5%). Im Herbst 2015 und Frühling 2016 wurden auf 3 Ständen Sackbrutsymptome beobachtet (jeweils 1,6%; Konfidenzintervall: 0,4-4,1%).

3a.4.2.3.6 Kalkbrut

Kalkbrutmumien wurden während der Beobachtungsstudie 120 Mal in Völkern identifiziert. Dabei wurde Kalkbrut in 18 Völkern bei zwei der Besuche und bei vier Völkern bei allen drei Besuchen diagnostiziert. Die Häufigkeit des Auftretens von Kalkbrutmumien in den Fokusvölkern war abhängig vom jahreszeitlichen Verlauf ($\chi^2 = 43,13$; $df = 2$; $P < 0,001$; Abbildung 3.10 B, Tabelle 3.13), wobei sich die Häufigkeit des Auftretens zwischen allen drei Besuchen signifikant unterschied (Posthoc-Vergleich für alle drei Paarungen: $P < 0,05$). Am häufigsten trat Kalkbrut im Sommer 2015 auf (72 Fälle; 3,5% alle Völker; Konfidenzintervall: 2,7-4,3%). Am seltensten wurde Kalkbrut im Herbst 2015 gefunden (13 Fälle; 0,7% aller Völker; Konfidenzintervall: 0,4-1,1%). Im Frühjahr 2016 wurde ein Anstieg im Auftreten von Kalkbrut auf 2,0% aller Völker verzeichnet (Konfidenzintervall: 1,4-2,7%; 35 Fälle).

Ein ähnlicher jahreszeitlicher Rhythmus wurde auf Standebene beobachtet ($\chi^2 = 11,76$; $df = 2$; $P = 0,003$; Abbildung 3.11 B; Tabelle 3.14). Im Unterschied zur Volksebene unterschied sich die Häufigkeit von Kalkbrut nur zwischen dem Sommer 2015 und Herbst 2015 signifikant (Posthoc-Vergleich: $P = 0,005$). Kalkbrut wurde auf 9 Ständen bei zwei Besuchen und auf 6 Ständen bei

allen drei Besuchen beobachtet. Beim Besuch im Sommer 2015 wurde Kalkbrut am häufigsten beobachtet (27 Stände; 14,0% aller Stände; Konfidenzintervall: 9,6-19,4%). Im Herbst 2015 wurde Kalkbrut auf 8 Ständen vermerkt (4,2% aller Stände, Konfidenzintervall: 1,9-7,7%). Im Frühling 2016 waren Kalkbrutmumien auf 19 Ständen vorhanden (10,4% aller Stände, Konfidenzintervall: 6,5-15,4%).

3a.4.3 Ergebnisse der Untersuchung der Verdachtsproben

Die Entnahme von Verdachtsproben im Zuge der Völkerinspektion war in jenen Fällen vorgesehen, in denen zwar Krankheitssymptome an den Bienenvölkern erkennbar waren, aber eine eindeutige Diagnose vor Ort aufgrund der Art des Erregers oder Parasiten grundsätzlich nicht möglich war (zum Beispiel für bestimmte Viren, *Nosema* spp.), unklarer Status von Brutmumien, bzw. ähnliche Symptome durch mehrere unterschiedliche Erreger und Parasiten ausgelöst werden können (zum Beispiel lückenhaftes Brutnest bei Brutkrankheiten oder Varroabefall). Die Tabellen 3.5 und 3.6 im Kapitel 3a.3.4. geben dazu eine Übersicht.

3a.4.3.1 Anzahl gezogener Verdachtsproben und Art des Untersuchungsmaterials

Die ProbenehmerInnen nahmen insgesamt 142 Verdachtsproben während der drei Bienenstandsbesuche (Besuch 1: 51 Proben, Besuch 2: 58 Proben, Besuch 3: 33 Proben, siehe Tabelle 3.16). Es wurden 41 Brutproben, 90 Bienenproben, 3 Puppen, 1 Probe mit Kalkbrutmumien, 4 Kotproben, und eine Käferlarve als Verdachtsproben genommen und zusammen mit den anderen Proben zur weiteren Untersuchung an die AGES eingesandt.

Zwei Proben des zweiten Bienenstandsbesuchs wurden nicht ausgewertet: eine Probe war eine Futterkranzprobe, deren Bearbeitung in der Studie nicht vorgesehen war. Bei der anderen Probe handelte es sich um eine Bienenprobe, die als Vergiftungsverdacht eingestuft und daher im Modul 3c bearbeitet wurde. Die Probe wurde daher im Modul 3a nicht weiter bearbeitet.

Tabelle 3.16: Übersicht der entnommenen Verdachtsproben.

Art der Probe	Anzahl der Proben			
	insgesamt	Besuch 1	Besuch 2	Besuch 3
Brut	41	17	13	11
Bienen	90	31	41	18
Puppen	3	2	1	0
Kalkbrut-Mumien	1	1	0	0
Kot	4	0	0	4
Käferlarve	1	0	1	0
Futterkranz*	1*	0	1*	0
Bienen – Vergiftungsverdacht*	1*	0	1*	0
insgesamt	142	51	58	33

* nicht im Rahmen dieses Moduls untersucht

3a.4.3.2 Untersuchung von Brut-Verdachtsproben

Es wurden insgesamt 41 Brutproben im Labor hinsichtlich eines Befalles mit Amerikanischer Faulbrut, Europäischer Faulbrut, Kalkbrut, Sackbrut und *Varroa* untersucht (Tabelle 3.16). Bei Proben mit positivem AFB-Befund wurde nicht mehr auf weitere Brutkrankheiten untersucht. Außerdem wurde eine Probe, bestehend aus zirka 15 Larvenmumien mit Verdacht auf Kalkbrut, begutachtet.

Bei sieben der Verdachtsproben konnte eine Brutkrankheit festgestellt werden (Tabelle 3.15). Bei weiteren elf Brutproben wurden Varroamilben in den verdeckelten Brutzellen gefunden (Tabelle 3.17). Bei weiteren 13 Brutproben war die kleine Wachsmotte für Unregelmäßigkeiten im Brutbild verantwortlich (Tabelle 3.15). In einem Fall wurden sowohl Varroamilben als auch Spuren von Wachsmottenbefall (Kot, Gespinst) gefunden, daher sind 14 Fälle von Wachsmottenbefall angeführt.

3a.4.3.2.1 Zusammenhang zwischen beobachteten Symptomen und Erregernachweis bei Brut-Verdachtsproben

Die ProbenehmerInnen nannten zwölf der im Fragebogen aufgelisteten Symptome im Zusammenhang mit Brut-Verdachtsproben (gesamte Symptomliste: Tabelle 3.6). Dabei wurden auch drei Symptome bei Bienen (Bienen mit *Varroa*, Flügel deformiert, Bienen schwarz-glänzend) genannt. Da diese Symptome Hinweise auf Varroose und Virose geben können, wurden sie in die Auswertung aufgenommen.

Die drei am häufigsten genannten Symptome waren „Brut lückig“, „Zelldeckel löchrig“ und „Brut abgestorben“ (Abbildung 3.13). Dies sind unspezifische Symptome, da sie von den ProbenehmerInnen sowohl mit Brutkrankheiten, mit Varroabefall als auch mit Wachsmottenbefall in Verbindung gebracht wurden. Ebenso war das Laborresultat bei einem Viertel bis einem Drittel dieser Proben negativ, das heißt, das angegebene Krankheitsbild konnte labordiagnostisch keinem der untersuchten Erreger zugeordnet werden.

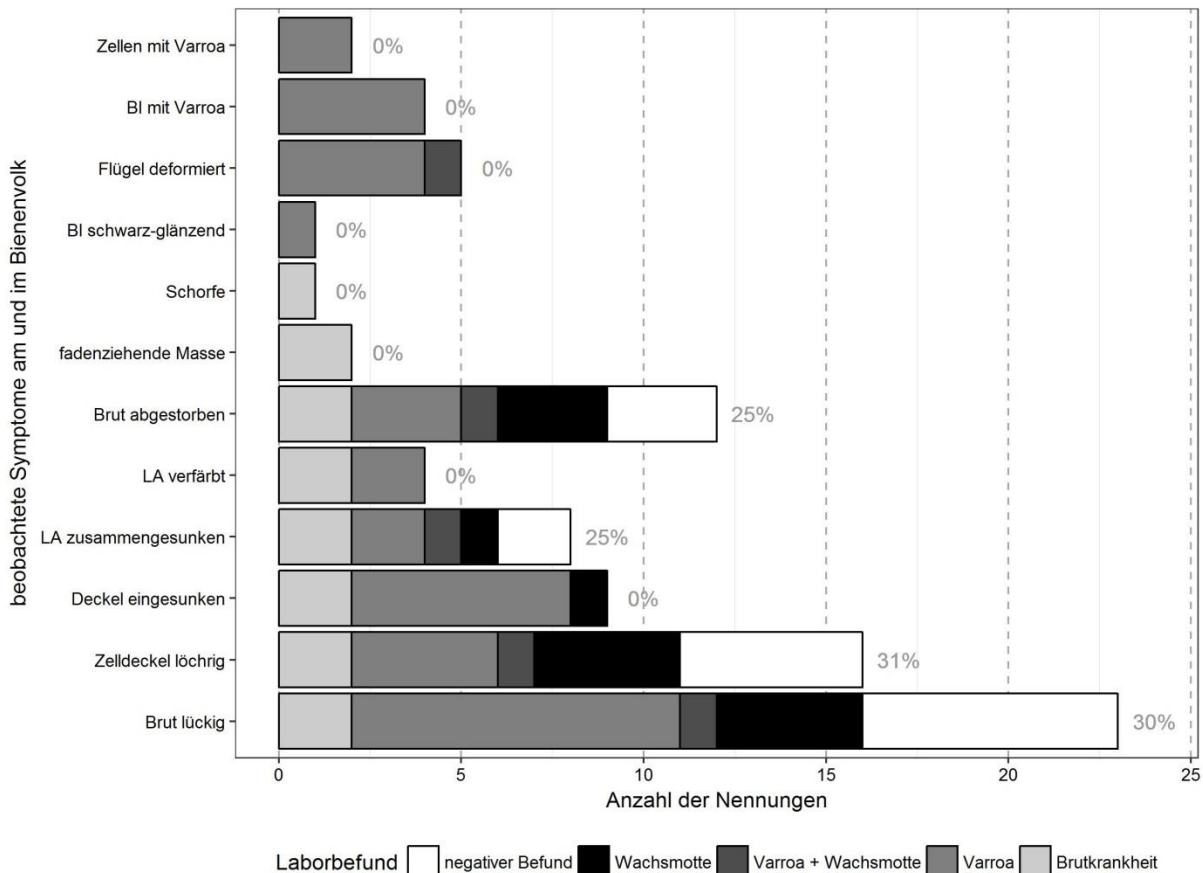


Abbildung 3.13: Von Probenehmern und Probenehmerinnen beobachtete Symptome bei der Entnahme von Brut-Verdachtsproben. Die Symptome sind nach dem Ergebnis der Untersuchungen zugeordnet, dabei wurden die Proben im Labor auf Brutkrankheiten (AFB, EFB, Sackbrut, Kalkbrut) und Varroa (mindestens eine Varroamilbe in Probe gefunden) untersucht. Außerdem wurden Symptome eines Wachsmottenbefalls an Brutproben vermerkt. Die grau geschriebenen Prozentwerte geben an, wie viele der Proben in der jeweiligen Symptomkategorie mit negativem Laborbefund waren. Abkürzungen: BI: Bienen; LA: Larven; Balken: grau: negative Resultate; orange: Wachsmottenbefall; blau: positiv auf Varroa + Wachsmottenbefall; grün: positiv auf Varroa; gelb: positiv auf eine Brutkrankheit.

Im Gegensatz dazu waren alle Symptome, die weniger als fünf Mal genannt worden waren, sehr spezifisch und konnten in der Laboruntersuchung durch einen positiven Erreger- bzw. Parasitennachweis bestätigt werden.

Bei Amerikanischer Faulbrut nannten die ProbenehmerInnen als Symptome „fadenziehende Masse“, „Schorfe“ und „löchrige Zelldeckel“. Die restlichen Symptommennungen der Brutkrankheiten bezogen sich auf eine Sackbrut-Probe („Brut lückig“) und eine Kalkbrut-Probe („Deckel eingesunken“, „Larven zusammengesunken“, „Larven verfärbt“, „Brut abgestorben“).

Symptome, die ausschließlich bei Brutproben mit Varroabefall angeführt wurden, waren „Zellen mit Varroa“, „Bienen mit Varroa“, „Flügel deformiert“ und „Bienen schwarz-glänzend“. Die ersten drei Symptome decken sich mit den in der Tabelle 3.6 aufgeführten Leitsymptomen für Varroose.

3a.4.3.2.2 Brutkrankheiten

3a.4.3.2.2.1 Amerikanische Faulbrut

Drei der insgesamt 42 Brut-Verdachtsproben wurden mit Verdacht auf Amerikanische Faulbrut eingeschickt (Tabelle 3.15). Die Einsendung erfolgte in Absprache mit dem zuständigen Amtstierarzt (Details siehe Kapitel 3a.4.2.1). Bei allen drei Brutproben wurden klinische Symptome und die Anwesenheit des Erregers *Paenibacillus larvae* festgestellt. Damit wurde das Vorkommen von Amerikanischer Faulbrut auf den betroffenen Bienenständen durch die Untersuchungen im Labor der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz der AGES bestätigt.

Beim ersten Standbesuch wurde Amerikanische Faulbrut bei zwei Proben von zwei Ständen in Niederösterreich festgestellt. Beim zweiten Standbesuch wurde kein Fall von Amerikanischer Faulbrut gefunden. Beim dritten Standbesuch wurde Amerikanische Faulbrut bei einer Verdachtsprobe aus Tirol bestätigt.

Tabelle 3.15: Ergebnisse der Laboruntersuchung der Brut-Verdachtsproben auf Amerikanische Faulbrut, Kalkbrut, Sackbrut, Europäische Faulbrut und Wachsmottenbefall.

Besuch	Bundesland	Material	Anzahl Proben	In Anzahl Proben nachweisbar				
				AFB*	Kalkbrut	Sackbrut	EFB	Wachsmotte
1	Bgl.	Brutwaben	1					
	NÖ.	Brutwaben	13	2				4
	OÖ.	Brutwaben	1					
		Brutmumien	1		1			
	Sbg	Brutwaben	1					1
	Stm.	Brutwaben	1		1			
	Anzahl Besuch 1			18	2 (11%)	2 (11%)	0	0
2	NÖ.	Brutwaben	9					
	OÖ.	Brutwaben	1					
	Sbg	Brutwaben	1					
	Stm.	Brutwaben	2					1
	Anzahl Besuch 2			13	0	0	0	0
3	Ktn	Brutwaben	1					1
	NÖ.	Brutwaben	3					3
	OÖ.	Brutwaben	4			1		3
	Tirol	Brutwaben	3	1		1		1
	Anzahl Besuch 3			11	1 (9%)	0	2 (18%)	0
Gesamtanzahl			42	3 (7%)	2 (5%)	2 (5%)	0	14 (33%)

* Diese Proben wurden nach Meldung und in Absprache mit dem zuständigen Amtstierarzt als amtliche Proben untersucht (Details siehe 3a.4.2.1).

3a.4.3.2.2.2 Kalkbrut, Sackbrut

Die beiden Brutkrankheiten Kalkbrut und Sackbrut können in der Regel anhand ihrer Symptome direkt auf dem Bienenstand diagnostiziert werden (Tabelle 3.6). Daher wurde in den meisten Fällen bei Verdacht auf diese Krankheiten keine Verdachtsprobe eingeschickt. Eine Ausnahme bildeten zwei Proben unklarer Symptomatik, die beim 3. Besuch mit Verdacht auf Sackbrut, bzw.

eine Probe, die mit gemeinsamem Verdacht auf Sackbrut und Kalkbrut, eingeschickt worden waren.

Die Laboruntersuchungen bestätigten die Diagnose Sackbrut bei den beiden Proben mit Sackbrut-Verdacht (Tabelle 3.15). Bei der Probe mit dem Verdacht auf Sackbrut und Kalkbrut konnte nur ein Befall mit Wachsmotten festgestellt werden. Dieses Beispiel zeigt, dass im Zweifelsfall nur eine Laboruntersuchung Klarheit schaffen kann.

Bei einer Brutprobe vom ersten Bienenstandbesuch mit unspezifischem Verdacht konnte im Labor Kalkbrut festgestellt werden. Das vom Probenehmer beschriebene Schadbild umfasste die Symptome „Deckel eingesunken“, „Larven zusammengesunken“ und „Larven verfärbt“.

3a.4.3.2.2.3 Europäische Faulbrut

Bei keiner der 42 Brutproben wurden Symptome von Europäischer Faulbrut festgestellt.

3a.4.3.2.3 Wachsmotten

Der vor Ort dreimal geäußerte Verdacht auf Wachsmottenbefall wurde im Labor durch den Nachweis von *Achroia grisella* (Kleine Wachsmotte) bestätigt. Insgesamt war bei 14 Völkern ein Befall durch die Kleine Wachsmotte in den eingesandten Brut-Verdachtsproben die Ursache für Auffälligkeiten in der Brut (Tabelle 3.15).

3a.4.3.2.4 Varroabefall der Brut

Der Beprobungsplan sah vor, dass die ProbenehmerInnen Varroose vor Ort identifizieren (Tabelle 3.7). Da das Krankheitsbild „Varroose“ nicht allein durch den Varroabefall der Brutzellen oder Bienen feststellbar ist, sondern einem komplexen Symptombild entspricht, ist die Diagnose idealerweise bei der Durchsicht des gesamten Volkes zu stellen. Bei eingesandten Brutproben wurde routinemäßig auch der Varroabefall der Brut festgestellt, da das Symptom „Varroamilben in der Brut“ Hinweise auf einen hohen Varroadruck im Volk und die Gefahr von Varroose geben kann.

Tabelle 3.17: Völker mit Verdachtsproben: Ergebnisse der Laboruntersuchung auf Varroabefall der Brutproben. Die Anzahl der Brutproben in den jeweiligen Varroa-Brutbefallskategorien sind angegeben. In Klammer sind die Prozente der Proben an der Anzahl der Gesamtproben des jeweiligen Besuchs angegeben. An Brutproben mit positivem AFB Befund wurden keine Varroa-Untersuchungen durchgeführt, diese fehlen daher in der Aufzählung.

Besuch	Anzahl Proben insgesamt	mehr als 50 Brutzellen vorhanden (quantitative Auswertung)			weniger als 50 Brutzellen (qualitative Auswertung)	
		Brutbefall Varroa über 10%	Brutbefall Varroa vorhanden (<=10%)	Brutbefall Varroa 0%	Varroamilben vorhanden	keine Varroamilben
1	15	3* (20%)	2** (13%)	6 (40%)	2** (13%)	2 (13%)
2	13	0 (0%)	2 (15%)	3 (23%)	1 (8%)	7 (54%)
3	10	0 (0%)	1 (10%)	5 (50%)	0 (0)	4 (40%)
insgesamt	38	3* (8%)	5** (13%)	14 (37%)	3** (8%)	13 (34%)

* drei Proben mit Mehrfachbefall der Brutzellen

** eine Probe mit Mehrfachbefall der Brutzellen

Insgesamt wurden 38 Brutproben im Labor auf Varroabefall untersucht. In dieser Zahl sind auch die von einigen ProbenehmerInnen bei Verdacht auf Varroose zusätzlich genommenen Brutproben

enthalten. Bei 22 Proben standen die vorgesehenen 50 verdeckelten Brutzellen für die Untersuchung zur Verfügung. In weiteren 16 Brutproben waren weniger als 50 verdeckelte Brutzellen vorhanden (zwischen 25 und 44 verdeckelte Zellen). In diesen Fällen wurde nur eine qualitative Auswertung vorgenommen und vermerkt, ob Varroamilben gefunden wurden oder nicht. Die Ergebnisse dieser Proben sind mit Vorsicht zu interpretieren, da durch die geringere Anzahl an ausgewerteten Brutzellen auch die Gefahr eines falsch negativen Ergebnisses steigt.

In den Verdachtsproben des ersten Standbesuchs wurden am häufigsten Anzeichen für Probleme mit *Varroa* festgestellt (Tabelle 3.17). In sieben von 15 Brutproben des ersten Besuches wurden Varroamilben gefunden. In drei dieser Proben war der Varroabefall über 10% – eine Befallshöhe, die in Auswertungen der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz standardmäßig mit Varrooseverdacht in Verbindung gebracht wird. Der Maximalwert lag bei 36% befallenen Brutzellen (Abbildung 3.14). Ein Mehrfachbefall der Brutzellen wurde in fünf Proben des ersten Standbesuchs festgestellt.



Abbildung 3.14: Brutwabenstück mit Verdacht auf Varroose (Ergebnis der Laboruntersuchung: 36% Varroa-Brutbefall mit Mehrfachbefall von Brutzellen).

Bei den anderen zwei Besuchen wurde in drei von 13 bzw. in einer von zehn Brutproben ein Varroabefall festgestellt. Dabei wurde kein Varroabefall von über 10% und auch kein Mehrfachbefall festgestellt.

3a.4.3.3 Untersuchung von Bienen-Verdachtsproben

Die ProbenehmerInnen zogen bei der Völkerinspektion vor Ort bei den drei Besuchen insgesamt 90 Bienenproben mit Krankheitsverdacht und eine Bienenprobe mit Vergiftungsverdacht (Tabelle 3.16). Alle 90 Proben wurden auf das Vorhandensein von Akute Bienenparalyse-Virus (ABPV), Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV) und Flügeldeformations-Virus (DWV) mit klassischer RT-PCR untersucht (Tabelle 3.18), diese Methode erlaubte eine qualitative Bestimmung des Virenbefalls. Eine Untersuchung auf das Vorhandensein von Nosemasporen erfolgte in jenen Fällen, in denen von den ProbenehmerInnen ein entsprechender Verdacht am Protokollblatt vermerkt und auch eine Mindestmenge von 30 Bienen für die Untersuchung entnommen worden war. Dies war bei 22 Verdachtsproben der Fall.

Die Bienenprobe mit Vergiftungsverdacht wurde im Arbeitspaket 3c: „Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring in Fällen mit Vergiftungsverdacht“ rückstandsanalytisch untersucht. Dabei wurden in der Bienenprobe Spuren von Clothianidin (unterhalb der Bestimmungsgrenze = BG) sowie Biphenyl (0,15 mg/kg) nachgewiesen. In einer aufgrund des Vergiftungsverdacht zusätzlich gezogenen Bienenbrotprobe desselben Standes waren Spuren von Imidacloprid (< BG), Biphenyl (0,03 mg/kg), Fenvalerat (0,1 mg/kg) und Pirimiphos-methyl (0,01 mg/kg) nachweisbar. (Details zu Analyten, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, siehe Kapitel 3c.2.3, Tabellen 3.45

und 3.46). Angesichts der Mehrfachbelastung durch Clothianidin, Imidaclopid, Fenvalerat und Pirimiphos-methyl in der Bienen- bzw. Bienenbrotprobe ist in diesem Fall mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit der Bienenschaden auf die Einwirkung dieser Stoffe zurückzuführen. Die Bienenprobe wurde im Modul 3a nicht weiter bearbeitet.

Wie das Ergebnis der Virusuntersuchungen an Bienen-Verdachtsproben zeigte, war DWV mit 15 positiven Proben (17%) das am häufigsten nachgewiesene Virus (Tabelle 3.18). Die beiden Viren CBPV und ABPV wurden jeweils in sechs der 90 Proben (= 6%) nachgewiesen. ABPV und CBPV wurden nur in Proben des ersten und zweiten Besuchs gefunden. DWV war in Proben von allen drei Besuchen nachweisbar, wobei der Anteil positiver Proben vom ersten bis zum 3. Besuch anstieg (10%, 20% und 22%).

Tabelle 3.18: Nosema- und Virusnachweis in den Bienen-Verdachtsproben. In Klammer sind die Prozente der Proben an der Anzahl der Gesamtproben des jeweiligen Besuchs angegeben. --- keine Proben vorhanden.

Besuch	Bundesland	Nosema Untersuchungen				Virusuntersuchungen			
		Proben insg.	Nosema positiv	<i>Nosema apis</i>	<i>Nosema ceranae</i>	Proben insg.	DWV positiv	CBPV positiv	ABPV positiv
1	Bgl.	---	---	---	---	1	0	0	0
	Ktn	---	---	---	---	2	0	0	0
	NÖ.	2	1	0	1	13	2	1	0
	OÖ.	2	2	0	2	6	0	0	2
	Sbg	---	---	---	---	4	0	0	0
	Stm.	---	---	---	---	1	0	0	0
	Vbg	---	---	---	---	3	0	0	0
	Wien	---	---	---	---	1	1	0	0
	insg.	4	3 (75%)	0	3 (75%)	31	3 (10%)	1 (3%)	2 (6%)
2	Bgl.	---	---	---	---	3	1	0	0
	NÖ.	1	0	---	---	6	1	0	1
	OÖ.	1	0	---	---	3	1	2	2
	Sbg	---	---	---	---	2	1	0	0
	Tirol	10*	2	2	0	12*	0	0	1
	Vbg	---	---	---	---	4	0	0	0
	Wien	---	---	---	---	11	4	3	0
	insg.	12*	2 (17%)	2 (17%)	0	41*	8 (20%)	5 (12%)	4 (10%)
3	Bgl.	---	---	---	---	1	0	0	0
	NÖ.	4	4	4	1	6	2	0	0
	OÖ.	---	---	---	---	4	0	0	0
	Sbg	1	0	---	---	2	0	0	0
	Wien	1	0	---	---	5	2	0	0
	insg.	6	4 (67%)	4 (67%)	1 (17%)	18	4 (22%)	0 (0%)	0 (0%)
insgesamt		22	9 (41%)	6 (27%)	4 (18%)	90	15 (17%)	6 (7%)	6 (7%)

* 10 Proben eines Imkers mit Problemstand (Probe aus Posthoc Bienenprobe entnommen)

Bei den 22 Bienen-Verdachtsproben, die auf Nosema untersucht wurden, waren in 41% aller Proben Nosemasporen nachweisbar. In sechs der Nosema-positiven Proben wurde mittels PCR *N. apis* nachgewiesen und in vier Proben *N. ceranae*. Bei einer Probe wurde eine Doppelinfektion mit beiden Arten von Nosema nachgewiesen.

Vereinzelt konnten auch zwei Krankheitserreger in derselben Bienenprobe nachgewiesen werden. Vom ersten Besuch waren in einer niederösterreichischen Probe zwei Viren (CBPV, DWV) und in einer Probe aus Oberösterreich *N. ceranae* gemeinsam mit ABPV nachweisbar. Vom zweiten Besuch konnte in zwei Proben aus Oberösterreich ein Befall mit ABPV und CBPV, bzw. mit ABPV und DWV, nachgewiesen werden.

3a.4.3.3.1 Zusammenhang zwischen beobachteten Symptomen und Erregernachweis bei Bienen-Verdachtsproben

Von den am Probenbegleitblatt insgesamt 25 zur Auswahl gestellten Symptomen (17 zum Erscheinungsbild im Volk, 8 zu Auffälligkeiten außerhalb des Stockes) wurden 14 in sehr unterschiedlicher Häufigkeit bei der Einsendung der Bienen-Verdachtsproben angekreuzt (Abbildung 3.15, Tabellen 3.5, 3.6).

Die Symptome „schwarzglänzende Bienen“, „Brutnest lückig“, „Flügel deformiert“ und „Bienen mit Varroamilben“ wurden am häufigsten angegeben. Bei Proben mit diesen Angaben konnten im Labor dann in 30% bis 40% aller Fälle Krankheitserreger nachgewiesen werden. Bei den Beobachtungen der Probenehmer „Bienen flugunfähig“ oder „Bienen tot vor dem Stock“ waren in 67% bzw. 100% der Fälle untersuchte Erreger in der Bienen-Verdachtsprobe nachweisbar.

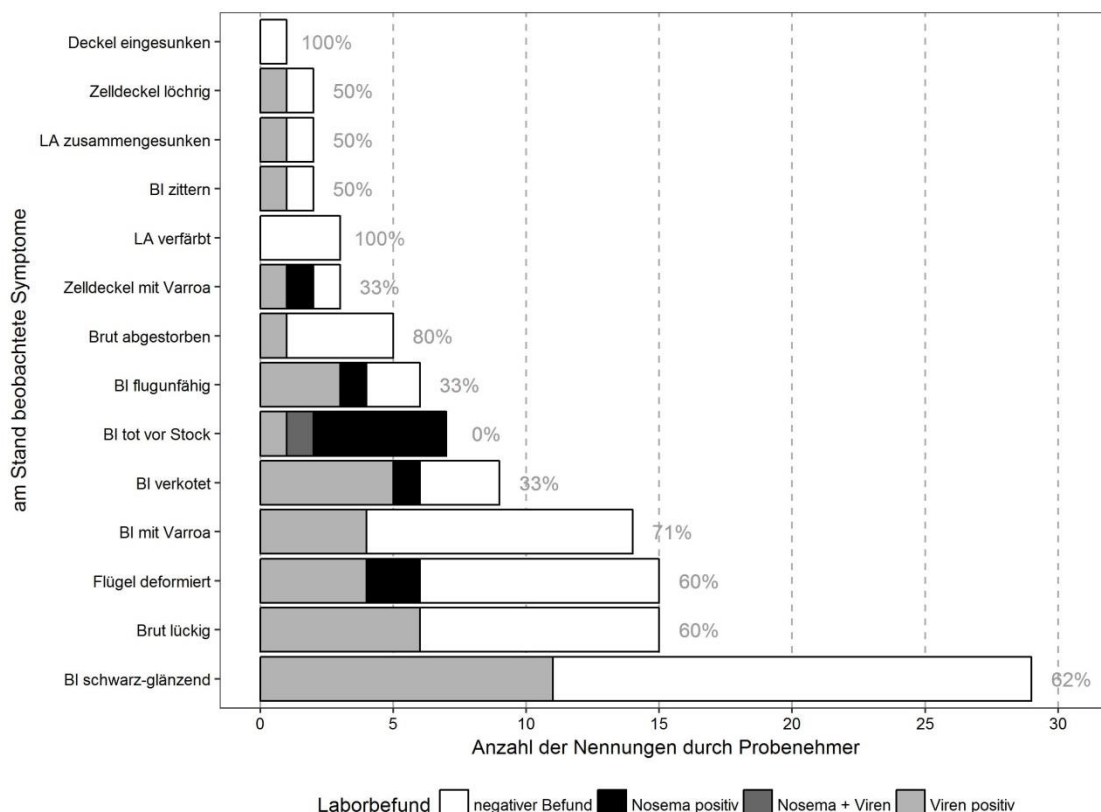


Abbildung 3.15: Am Volk beobachtete Symptome bei Entnahme von Bienen-Verdachtsproben nach Ergebnis der Untersuchungen geordnet; dabei wurden die Proben im Labor auf Nosema (*N. ceranae* und *N. apis*) und drei Bienenviren (DWV, ABPV, CBPV) untersucht. Prozentwerte über grauem Balken: Anteil Proben der jeweiligen Symptomkategorie mit negativem Befund. Abkürzungen: BI: Bienen; LA: Larven; Balken: weiß: negativer Befund; schwarz: Probe positiv auf *Nosema* spp.; dunkelgrau: Probe positiv auf *Nosema* spp. und ein Virus; grau: Probe positiv auf mindestens ein Virus.

3a.4.3.3.2 Verdachtsproben mit positivem Nachweis von *Nosema* spp.

Das Auftreten beider *Nosema*-Erreger war eng mit dem von den ProbenehmerInnen beobachteten Symptom „Bienen tot vor dem Stock“ verbunden. Dieses Symptom trat bei 67% aller *N. apis*-Nachweise und bei 75% aller *N. ceranae*-Nachweise auf (Abbildung 3.16). In einer von sieben Beobachtungen konnte das Symptom nicht mit *Nosema*-Erregern in Verbindung gebracht werden. In diesem Fall wurde CBPV nachgewiesen – ein Virus, das ebenfalls das Symptom „Bienen tot vor dem Stock“ verursacht (siehe Tabelle 3.5). Auffällig ist, dass bei Verdachtsproben mit dem Symptom „Bienen tot vor dem Stock“ immer zumindest ein Erreger nachgewiesen werden konnte.

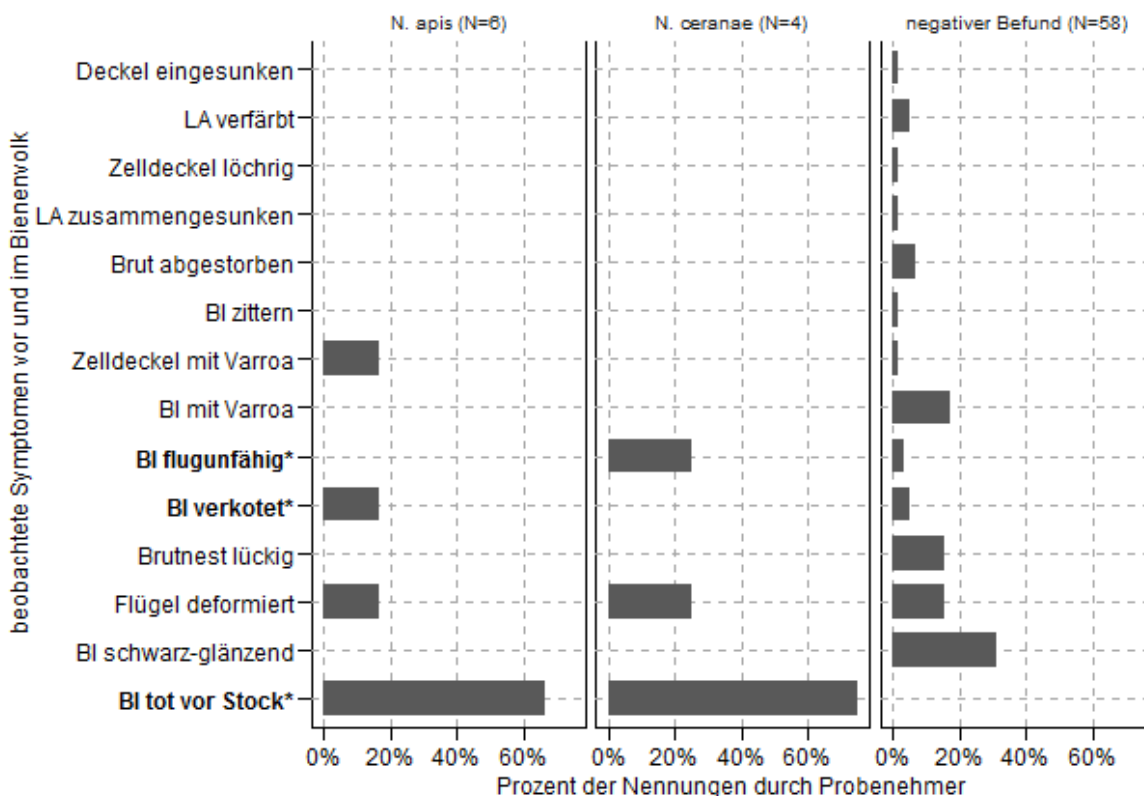


Abbildung 3.16: Häufigkeit von beobachteten Symptombildern bei positivem Nosemabefund in der Bienenprobe (*Nosema apis*: sechs positive Proben; *Nosema ceranae*: vier positive Proben; eine Probe hatte eine Doppelinfektion). Zum Vergleich wurde die Häufigkeit der Symptombilder bei negativen Befunden (keine *Nosema* spp. nachweisbar, keine Viren – DWV, ABPV oder CBPV – nachweisbar) angegeben (N=58). Symptome, die klassisch mit Nosemose verbunden sind, sind fett gedruckt und mit einem Sternchen gekennzeichnet (vollständige Liste siehe Tabelle 3.5). Abkürzungen: BI: Bienen; LA: Larven.

Das Nosemose-Symptom „Bienen flugunfähig“ wurde nur in einem Fall bei Nachweis von *N. ceranae* angegeben. In Einzelfällen wurden auch Symptome wie „Zelldeckel mit Varroa“ (Symptom der Varroose) und „Flügel deformiert“ (Symptom von Varroose + DWV) angeführt. Dies lässt darauf schließen, dass die betreffenden Völker auch mit der Varroamilbe und deren Sekundärinfektionen zu kämpfen hatten.

3a.4.3.3 Bienen-Verdachtsproben mit positivem Nachweis für das Akute Bienenparalyse-Virus

Das Akute Bienenparalyse-Virus (ABPV) weist keine typischen Befallssymptome auf. Dies spiegelt sich auch in den Beobachtungen der ProbenehmerInnen wider. Vier Symptome wurden jeweils einmal genannt: „Zelldeckel mit *Varroa*“, „Bienen mit *Varroa*“, „Brutnest lückig“ und „Bienen tot vor dem Stock“ (Abbildung 3.17). Die ersten zwei Symptome sind typische Varroose-Symptome. Das Symptom „Brutnest lückig“ ist ein unspezifisches Symptom und zeigt generelle Probleme in der Brutentwicklung, aber auch *Varroa*-Parasitierung oder Inzucht an. Das Symptom „Bienen tot vor dem Stock“ wurde bei einem Volk genannt, in dessen Bienenprobe sowohl *Nosema ceranae* als auch ABPV gefunden wurden.

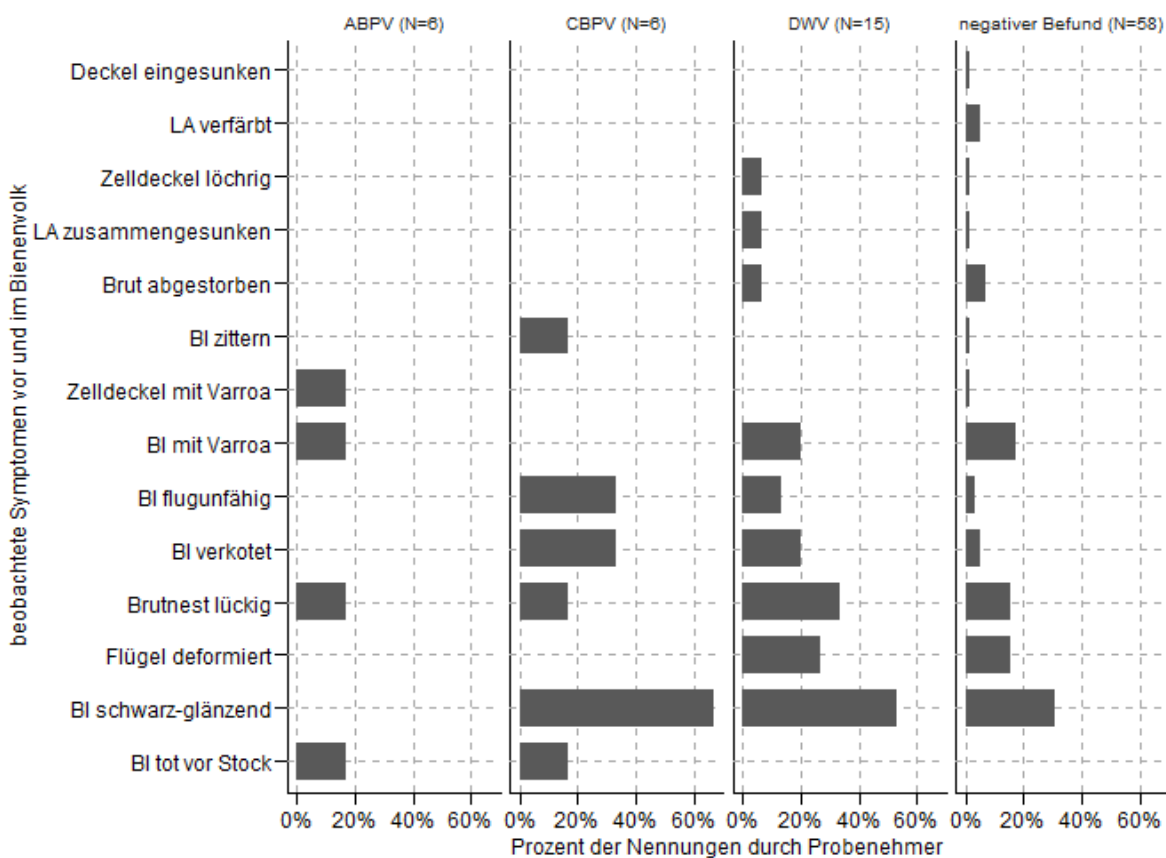


Abbildung 3.17: Häufigkeit von beobachteten Symptombildern bei positivem Virennachweis in der Bienenprobe (ABPV: sechs positive Proben; CBPV sechs positive Proben; DWV: 15 positive Proben). Zum Vergleich wurde auch die Häufigkeit der Symptombilder bei negativen Befunden (keine *Nosema* spp. nachweisbar, keine Viren – DWV, ABPV oder CBPV – nachweisbar) angegeben (N=58). Abkürzungen: BI: Bienen; LA: Larven.

3a.4.3.3.4 Bienen-Verdachtsproben mit positivem Nachweis für das Chronische Bienenparalyse-Virus

Bei Bienenproben mit positivem Nachweis für das Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV) wurden insgesamt sechs Symptome genannt (Abbildung 3.17). Alle genannten Symptome – außer das Symptom „Brutnest lückig“ – werden als Symptome von CBPV geführt (Symptomliste: Tabelle 3.5). „Bienen schwarz-glänzend“ wurde mit 67% am häufigsten in Verbindung mit CBPV genannt.

Gleichzeitig wurde das Symptom auch in 53% der Bienenproben mit DWV-Nachweis genannt. Es wurde aber auch für 31% aller Proben angegeben, bei denen keiner der untersuchten Erreger nachweisbar war.

Die Symptome „Bienen flugunfähig“ und „Bienen verkotet“ wurden in zwei von sechs Fällen (je 33%) mit positivem CBPV-Nachweis genannt (Abbildung 3.17). Diese Symptome wurden weiters in 3% bzw. 5% aller Fälle genannt, in denen keiner der untersuchten Erreger nachgewiesen werden konnte.

3a.4.3.3.5 Bienen-Verdachtsproben mit positivem Nachweis für das Flügeldeformations-Virus

Bei Bienenproben mit positivem Nachweis für das Flügeldeformations-Virus (DWV) wurden insgesamt neun Symptome genannt (Abbildung 3.17). Das klassische Symptom für DWV, die deformierten Flügel, wurden in 27% der Fälle genannt, aber auch eine Reihe von Varroose-Symptomen wie „Brutnest lückig“, „Bienen mit *Varroa*“ und „Zelldeckel löchrig“ (Symptomliste: Tabelle 3.6).

Das Symptom „Bienen schwarzglänzend“ wurde in 53% der Fälle angeführt und war damit das am häufigsten genannte Symptom. Dieses Symptom ist typisch für eine Erkrankung an CBPV, wie die ebenfalls im Zusammenhang mit DWV genannten Symptome „Bienen verkotet“ und „Bienen flugunfähig“. Eine Nennung von „Bienen flugunfähig“ war bei einer Doppelinfektion von CBPV und DWV erfolgt.

3a.4.3.4 Untersuchung von Bienenpuppen mit Krankheitsverdacht

Drei Proben von Puppen wurden auf Bienenviren untersucht. Zwei der Proben waren aufgrund von Verfärbungen und eine aufgrund des Symptoms „abgestorbene Brut“ eingeschickt worden. Bei allen drei Proben ist die Untersuchung auf ABPV, CBPV und DWV negativ ausgefallen, es konnten also diese Viren nicht nachgewiesen werden. Da an den Puppen keine Anzeichen von Brutkrankheiten erkennbar waren, wurden keine weiteren bakteriologischen Tests durchgeführt.

3a.4.3.5 Untersuchung von Kot-Verdachtsproben

Beim dritten Besuch im Frühling wurden auf 2 Bienenständen in Wien insgesamt vier Kotproben genommen. Diese wurden auf Nosemasporen untersucht. Zwei der Proben waren positiv, jeweils eine von jedem Stand. Bei einer der positiven Proben konnte die Artbestimmung mittels PCR durchgeführt werden. Sie war positiv für den Erreger *N. ceranae*.

3a.4.3.6 Untersuchung einer Käferlarve

Die Käferlarve stammte aus einem innenliegenden Spalt zwischen zwei Beuteneinheiten. Dabei handelte es sich nicht um die Larve des Kleinen Bienenstockkäfers, sondern um die rosa gefärbte, stark behaarte Larve des Gemeinen Bienenkäfers oder Immenkäfers (*Trichodes apiarius*) mit dem typischen, hornförmig gegabelten letzten Hinterleibsring. Die Käferlarven ernähren sich in Nestern von Solitär- und Honigbienen von Larven und Puppen.

3a.4.4 Varroabefall auf Bienen

Bei den durchgeführten Standbesuchen im Sommer und Herbst 2015 wurden Bienenproben von jeweils zirka 300 Bienen genommen und mit der Auswaschmethode in Seifenlauge auf Varroamilben untersucht. Derartige Proben wurden aus maximal zehn Fokusvölkern pro Beobachtungsstand entnommen.

3a.4.4.1 Beurteilung der Höhe des Varroabefalles

3a.4.4.1.1 Einzelvolkbeurteilung des Varroabefalles

Wichtig für die Interpretation der Varroa-Ergebnisse ist, ab welchem Befallsgrad ernsthafte Probleme für ein Bienenvolk auftreten können. Dies variiert in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Daher haben wir für die beiden Standbesuche unterschiedliche Schwellenwerte festgelegt. Zur Zeit der ersten Probenahme (Juli/August 2015) ist ein Befall der Bienen von 1% oder höher als jene Schwelle anzusehen, ab der eine Aufzucht von gesunden Winterbienen gefährdet ist (Büchler et al., 2006; Büchler, 2008; Lodesani et al., 2014). Für den Zeitraum der zweiten Probenahme (September/Okttober 2015) wurde 3% Varroabefall in der Bienenprobe als kritische Schwelle definiert, über der die Überlebensfähigkeit des Volkes gefährdet ist (Büchler et al., 2006; Büchler, 2008; Genersch et al., 2010; Lodesani et al., 2014). Einer der Gründe für die Erhöhung der Schwelle ist, dass im September weniger Brut in den Völkern vorhanden ist und daher die Varroamilben von der Brut auf die Bienen wandern und damit der Bienenbefall ansteigt. Dies führt zu höheren Befallswerten der Bienen im Vergleich zum ersten Standbesuch (vergleiche Abbildungen 3.18 und 3.20).

3a.4.4.1.2 Standbeurteilung des Varroabefalles

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Interpretation ist die Einschätzung des gesamten Bienenstandes. Varroamilben aus Völkern mit hoher Varroabelastung können in umliegende Völker übertragen werden und dort weiteren Schaden anrichten (Sarkofski et al., 1990; Seeley & Smith, 2015). Ebenso spielt für die Vorgangsweise des Imkers der Zustand des gesamten Standes eine wichtigere Rolle als der Zustand eines einzelnen Volkes. In der Regel werden Völker eines Standes gemeinsam gegen die Varroamilbe behandelt bzw. ist dies in der Gebrauchsanleitung verschiedener Varroabekämpfungsmittel vorgesehen.

Um den Varroadruck auf einem Bienenstand beschreiben zu können, wurden die Bienenstände für beide Bienenstandbesuche in vier „Befallskategorien“ – abhängig von der maximal gemessenen Varroabelastung auf dem Stand – eingeteilt (Tabelle 3.19). Dabei ist das am höchsten befallene Volk des Standes ausschlaggebend für die Klassifizierung des Standes. Hatte zum Beispiel ein einziges Volk eines Standes einen Varroabefall über 5%, dann galt für diesen Stand ein hoher Varroadruck, unabhängig vom Befallsgrad der anderen Völker. Dabei war ein signifikanter Unterschied in der Höhe des medianen Varroabefalles zwischen den Ständen der so gebildeten Befallskategorien feststellbar (Kruskal-Wallis Test: erster Besuch: $H = 99,0$; $df = 3$; $P < 0,001$; zweiter Besuch: $H = 98,3$; $df = 3$; $P < 0,001$). Dies heißt, dass die vorgenommene Klassifizierung einen Unterschied im Varroabefall der untersuchten Stände abbildete.

3a.4.4.1.3 Vergleich des Varroabefalles der Bienen zwischen den Standbesuchen

Ein Vergleich des Varroabefalles der Bienen zwischen erstem und zweitem Bienenstandbesuch ist komplex. Aufgrund der verringerten Brutfläche im Herbst und der dadurch ausgelösten Wanderung

der Varroamilben auf die Stockbienen ist der Befallsgrad der Bienen zwischen den Standbesuchen nicht direkt vergleichbar. Bei gleicher Gesamtmilbenpopulation im Volk wären dadurch theoretisch mehr Milben in einer Bienenprobe des Herbstbesuches zu erwarten als in einer Probe des Sommerbesuches.

Um einen ungefähren Vergleich zu ermöglichen, wurden die Bienenvölker anhand ihrer Gefährdung zum jeweiligen Zeitpunkt in vier Kategorien eingestuft:

- Kategorie 1: „beide Besuche unter Schadschwelle“: Volk hatte beim ersten Standbesuch einen Varroabefall unter 1% und beim zweiten Standbesuch einen Varroabefall unter 3%;
- Kategorie 2: „verbessert“: Volk hatte beim ersten Standbesuch einen Varroabefall über der Schadschwelle von 1%, dieser konnte bis zum zweiten Standbesuch unter die Schadschwelle von 3% gesenkt werden;
- Kategorie 3: „verschlechtert“: Volk hatte beim ersten Standbesuch einen Varroabefall unter der Schadschwelle von 1%, dieser erhöhte sich jedoch bis zum zweiten Standbesuch über die Schadschwelle von 3%;
- Kategorie 4: „beide Besuche über der Schadschwelle“: Volk hatte bei beiden Standbesuchen einen Varroabefall über den Schwellenwerten von 1% bzw. 3%.

Tabelle 3.19: Definition der vier Befallskategorien des Varroadrucks (Befall an Bienen) und deskriptive Statistik der Kategorien. Die letzten beiden Spalten geben die mediane Höhe des Varroabefalls auf den Ständen sowie den minimalen und maximalen medianen Standbefall der entsprechenden Kategorie beim ersten und zweiten Standbesuch an.

ZUKUNFT BIENE	Befalls-kategorie	Definition der Kategorien		Höhe des Varroabefalls Median (Minimum/Maximum)	
		1.Standbesuch	2.Standbesuch	1.Standbesuch	2.Standbesuch
alle Völker unter der Schadschwelle	keine Varroa	alle Völker: 0% Varroa auf Bienen		0,0% (0,0/0,0) N = 15 Stände	0,0% (0,0/0,0) N = 5 Stände
	niedrig	alle Völker < 1%	alle Völker < 3%	0,0% (0,0/0,4) N = 51 Stände	0,3% (0,0/1,8) N = 82 Stände
mindestens 1 Volk über der Schadschwelle	mittel	mindestens 1 Volk > 1%	mindestens 1 Volk > 3%	0,3% (0,0/2,5) N = 85 Stände	0,7% (0,0/3,0) N = 26 Stände
	hoch	mindestens 1 Volk > 5% Varroa auf Bienen		1,2% (0,0/17,5) N = 42 Stände	2,4% (0,0/24,1) N = 77 Stände

3a.4.4.2 Varroabefall der Bienen – erster Standbesuch (Juli/August 2015)

Der erste Bienenstandbesuch fand im Zeitraum Juli bis August 2015 vor der Hauptentmilbung statt. Dabei wurden 1637 Bienenproben aus 193 Imkereibetrieben entnommen. Es wurden österreichweit in 52% der Proben Varroamilben gefunden (siehe Tabelle 3.20), wobei der Befallsgrad der Proben stark variierte (Minimum 0% Varroabefall; Maximum 40,4% Varroabefall). Die definierte Schadschwelle von 1% wurde in 392 Proben überschritten (= 24%, Details siehe Tabelle 3.20, Abbildung 3.18). Im Burgenland und Kärnten war der Anteil an Völkern über der Schadschwelle mit 43% bzw. 36% am höchsten (Tabelle 3.20, Abbildung 3.18). Hingegen überschritten in Salzburg und Vorarlberg nur 15% bzw. 13% aller Proben die Schadschwelle von 1%.

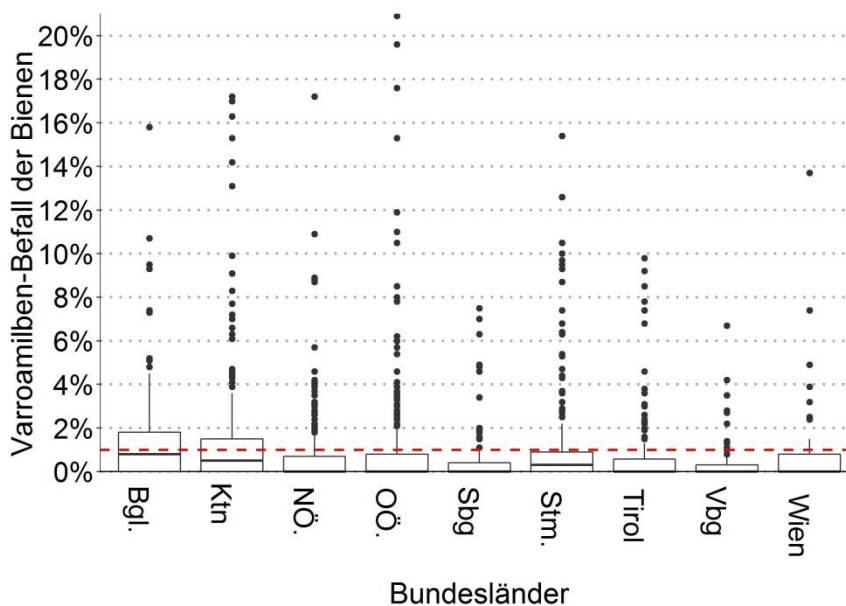


Abbildung 3.18: Erster Bienenstandbesuch im Juli/August 2015: Varroabefall der Bienen in den neun Bundesländern. Die rote strichlierte Linie markiert die 1% Schwelle zum kritischen Varroabefall. Von 193 Bienenständen in ganz Österreich wurden 1637 Bienenproben untersucht. Sechs Datenpunkte zwischen 20% und 40% Varroabefall wurden nicht in der Grafik dargestellt, da sie den gewählten Achsenausschnitt weit überschritten (Oberösterreich: 5 fehlende Datenpunkte, Steiermark: ein fehlender Datenpunkt). Darstellung: Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Betrachtet man den Varroadruck der Stände für ganz Österreich beim ersten Standbesuch, wurde in 44% der Stände ein mittlerer Varroadruck und in 22% aller Stände ein hoher Varroadruck festgestellt (85 bzw. 42 von 193 Ständen). Dabei wurden in einzelnen Völkern in der Steiermark und in Oberösterreich Extremwerte von 32% und 40% Varroabefall gemessen – in der Bienenprobe mit 40% Varroabefall wurden auf 352 Bienen 142 Varroamilben gefunden. In Bienenproben von 8% aller Stände (15 von 193 Ständen) wurde keine einzige Varroamilbe gefunden.

Zwischen den Bundesländern sind Unterschiede im Befallsdruck der Bienenstände festzustellen (Abbildung 3.19). Besonders groß war die Varroalast im Burgenland, wo 5 (45%) der 11 Stände einem hohen Varroadruck und weitere 4 Stände (36%) einem mittleren Varroadruck ausgesetzt waren (Summe der Stände mit mittlerem bis hohem Varroadruck: 81%). Doch auch in Kärnten und der Steiermark wurden an vielen Ständen hohe Befallswerte festgestellt. Die geringste Varroalast hatten die Beobachtungsstände in Vorarlberg und Salzburg zu tragen: hier waren nur 40% der Stände mit einem mittleren bis hohem Varroadruck konfrontiert.

Dieses Kapitel zeigte die Varroa-Situation der teilnehmenden Bienenstände kurz vor der Hauptentmilbung. Es wurde den Imkern, deren Proben die definierte Schadschwelle von 1% überschritten hatten, empfohlen, sofortige Maßnahmen zur Varroareduktion zu treffen. Folglich hatten die Imker die Möglichkeit, auf kritische Varroa-Situationen zu reagieren und größeren Schaden abzuwenden.

Abbildung 3.19 (nächste Seite): Erster Bienenstandbesuch im Juli/August 2015: Varroadruck der Stände im Zuge der Beobachtungsstudie „Zukunft Biene“. Zusammenfassung nach Bundesländern; die Anzahl der Stände pro Bundesland ist in den Einzelgrafiken angegeben. Definition der Befallskategorien siehe Tabelle 3.19.

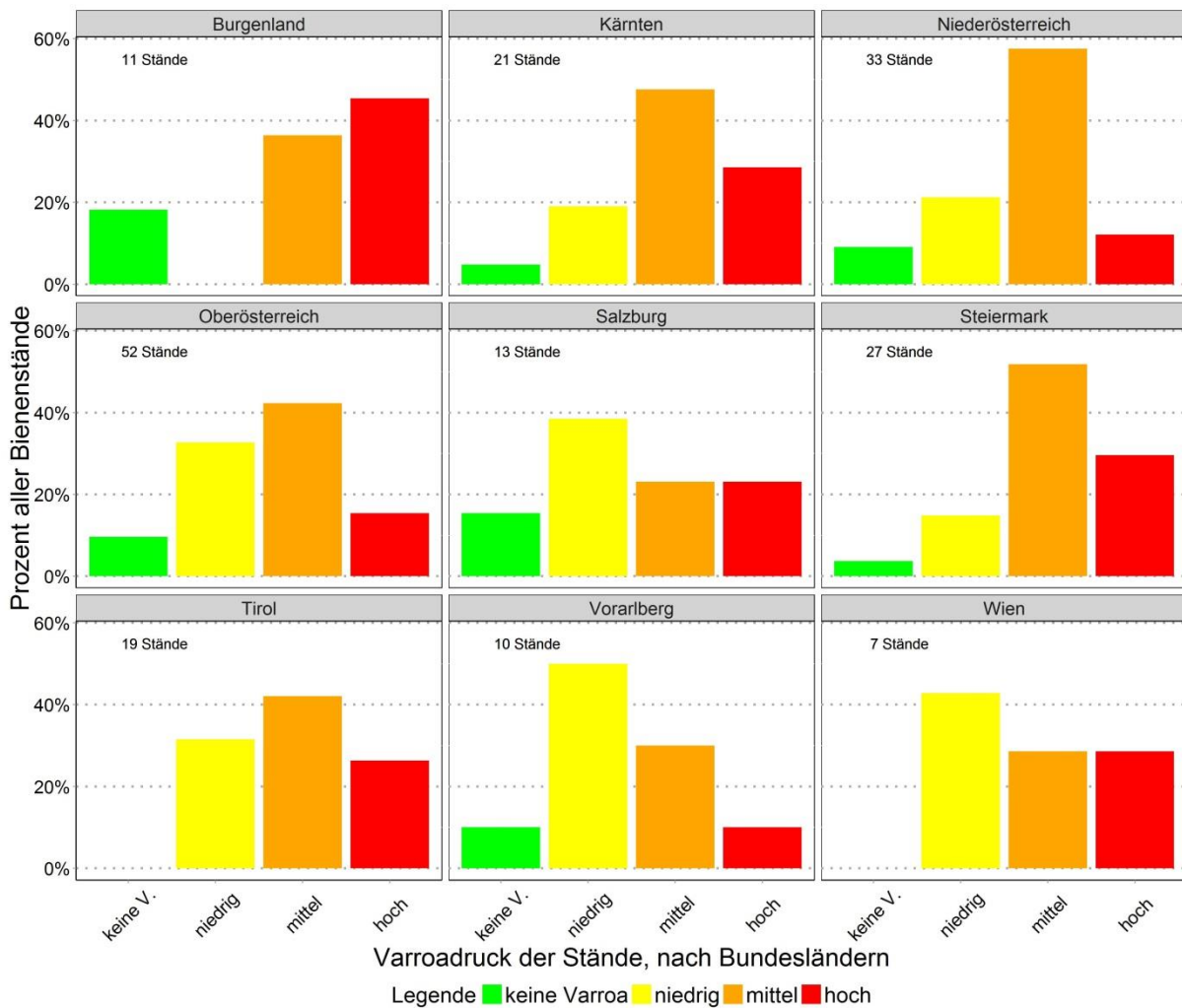


Tabelle 3.20: Erster Standbesuch im Juli/August 2015: Varroabefall der Bienenproben nach Bundesländern; Ab 1% Varroabefall im Sommer ist Aufzucht von gesunden Winterbienen gefährdet.

BL	Anzahl Völker	Anzahl (prozentueller Anteil) der Völker nach Varroabefall auf Bienen			Deskriptive Statistik [% Varroabefall auf Bienen]		
		0% Varroabefall	unter 1% Varroabefall	über 1% Varroabefall	M ± SD	Median	min/max
Bgl	97	27 (28%)	28 (29%)	42 (43%)	1,6 ± 2,6	0,8	0,0/15,8
Ktn	185	55 (30%)	64 (35%)	66 (36%)	1,7 ± 3,2	0,5	0,0/17,2
NÖ	298	160 (54%)	74 (25%)	64 (21%)	0,7 ± 1,7	0,0	0,0/17,2
OÖ	416	213 (51%)	111 (27%)	92 (22%)	1,2 ± 3,9	0,0	0,0/40,4
Sbg	116	68 (59%)	31 (27%)	17 (15%)	0,6 ± 1,4	0,0	0,0/7,5
Stm	233	99 (42%)	78 (33%)	56 (24%)	1,3 ± 3,1	0,3	0,0/32,3
Tirol	158	82 (52%)	42 (27%)	34 (22%)	0,8 ± 1,8	0,0	0,0/9,8
Vbg	84	52 (62%)	21 (25%)	11 (13%)	0,4 ± 1,0	0,0	0,0/6,7
Wien	50	31 (62%)	9 (18%)	10 (20%)	1,0 ± 2,3	0,0	0,0/13,7
insg.	1637	787 (48%)	458 (28%)	392 (24%)	1,1 ± 2,9	0,3	0,0/40,4

BL = Bundesland, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, min = Minimum, max = Maximum

3a.4.4.3 Varroabefall auf Bienen – zweiter Bienenstandbesuch (September/Oktober 2015)

Während des zweiten Standbesuches im Zeitraum September bis Oktober 2015 wurden 190 Imkereibetriebe besucht und 1560 Bienenvölker inspiziert und beprobt. Dies waren drei Imkereibetriebe weniger als beim ersten Standbesuch, da diese Imker aus persönlichen Gründen aus der Studie ausgeschieden waren.

Insgesamt sind 78 Völker weniger beprobt worden als beim ersten Standbesuch. Gründe dafür waren der Wegfall der Bienenstände der drei ausgeschiedenen Betriebe, die Zusammenlegung von schwachen Völkern, sowie das Absterben von Völkern.

Tabelle 3.21: Zweiter Standbesuch im September/Oktober 2015: Varroabefall der Bienenproben nach Bundesländern; 3% Varroabefall auf Bienen stellt die Schadschwelle dar, über der im Herbst die Überlebensfähigkeit des Volks gefährdet ist.

BL	Anzahl Völker	Anzahl (prozentueller Anteil) der Völker nach Varroabefall auf Bienen			Deskriptive Statistik [% Varroabefall auf Bienen]		
		0% Varroabefall	unter 3% Varroabefall	über 3% Varroabefall	M ± SD	Median	min/max
Bgl	96	27 (28%)	55 (57%)	14 (15%)	1,4 ± 2,3	0,6	0,0/15,2
Ktn	172	45 (26%)	89 (52%)	38 (22%)	2,9 ± 5,5	1,1	0,0/40,9
NÖ	266	103 (39%)	122 (46%)	41 (15%)	1,5 ± 3,1	0,4	0,0/27,1
OÖ	410	123 (30%)	215 (52%)	72 (18%)	2,3 ± 5,0	0,6	0,0/45,3
Sbg	114	38 (33%)	49 (43%)	27 (24%)	3,1 ± 6,3	0,4	0,0/37,1
Stm	213	56 (26%)	115 (54%)	42 (20%)	3,3 ± 11,5	0,6	0,0/137,9
Tirol	159	57 (36%)	55 (35%)	47 (30%)	3,4 ± 5,8	0,6	0,0/26,9
Vbg	80	22 (28%)	42 (53%)	16 (20%)	2,6 ± 5,5	0,6	0,0/29,9
Wien	50	11 (22%)	31 (62%)	8 (16%)	1,7 ± 2,9	0,5	0,0/12,5
insg.	1560	482 (31%)	773 (49%)	305 (20%)	2,5 ± 6,2	0,6	0,0/137,9

BL = Bundesland, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, min = Minimum, max = Maximum

Die für den Herbst definierte Schadschwelle von 3% wurde in 305 von 1560 beprobten Völkern erreicht oder überschritten (Details siehe Tabelle 3.21, Abbildung 3.20). Dies entsprach 20% aller Proben. Es wurden österreichweit in 69% der gezogenen Bienenproben Varroamilben gefunden.

In Tirol wurden vermehrt Bienenproben mit Varroabefall über der Schadschwelle festgestellt (30% der Proben). Im Gegensatz dazu wurden im Burgenland und in Wien anteilig am wenigsten Proben mit erhöhtem Varroabefall registriert (Burgenland: 15%, Wien: 16%). Bei einzelnen Völkern in Kärnten, Oberösterreich und in der Steiermark wurden Werte von über 40% Varroabefall auf den Stockbienen festgestellt (siehe Abbildung 3.20). Der Maximalwert wurde bei einem Volk in der Steiermark ermittelt und betrug 137,9% Varroabefall der Bienen (179 Varroamilben auf 130 Bienen).

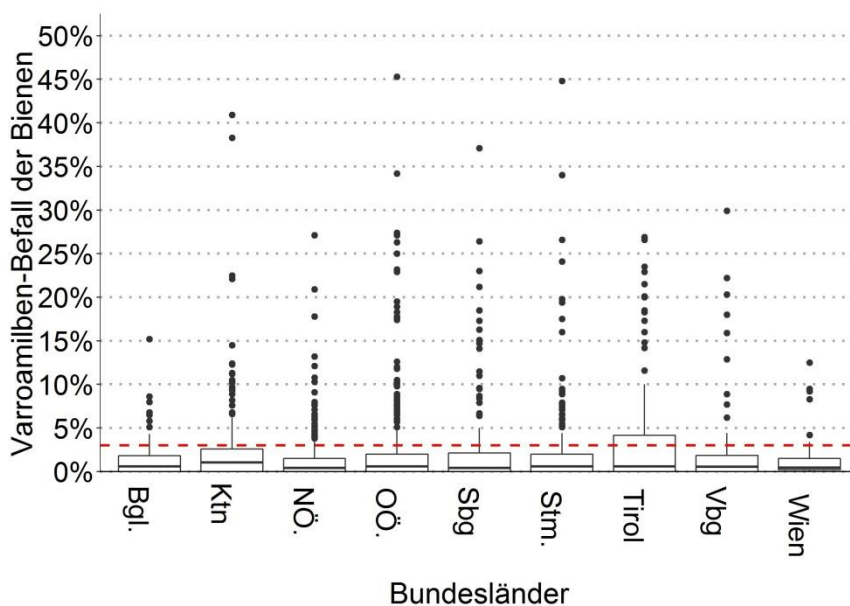


Abbildung 3.20: Zweiter Bienenstandbesuch im September/Oktober 2015: Varroabefall der Bienen in den neun Bundesländern. Die rote strichlierte Linie markiert die 3% Grenze zum kritischen Varroabefall. Von 190 Bienenständen in ganz Österreich wurden 1560 Bienenproben untersucht. Zwei Datenpunkte wurden nicht in der Grafik dargestellt, da sie den gewählten Achsenausschnitt weit überschreiten (Steiermark: 63,2% bzw. 137,9% Varroamilbenbefall). Darstellung: Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Im Herbst 2015 – nach der Hauptentmilbung – war auf 14% aller beprobten Stände ein mittlerer Varroadruck und auf 41% der Stände ein hoher Varroadruck vorhanden (26 bzw. 77 von 190 Ständen). Damit waren um 19% mehr Stände der Kategorie „hoher Varroadruck“ zugeordnet als im Sommer, aber um 30% weniger Stände in der Kategorie „mittlerer Varroadruck“ zu finden. Beim zweiten Standbesuch wurden auf 97% aller Bienenstände Varroamilben in zumindest einer Bienenprobe gefunden.

Der Varroadruck auf den Ständen unterschied sich deutlich zwischen den Bundesländern (siehe Abbildung 3.21). Wie schon beim ersten Standbesuch, war ein erhöhter Varroadruck auf vielen Ständen im Burgenland und in Kärnten festzustellen. Dabei war erstaunlich, dass im Burgenland der Varroabefall auf Volksniveau relativ gering erschien (Median: 0,6%; Tabelle 3.21), der Varroadruck auf Standniveau jedoch sehr hoch war (72% aller Stände mit mittlerem bis hohem Varroadruck; Abbildung 3.21). Dies lag daran, dass im Burgenland auf vielen Ständen ein oder zwei stark befallene Völker neben vielen gering befallenen Völkern vorkamen (Abbildung 3.22).

In der Steiermark hingegen hatte sich der Varroadruck im Vergleich zum ersten Standbesuch entspannt. Im Gegensatz dazu war der Varroabefall auf den Ständen in Tirol stark gestiegen. Salzburg und Wien hatten den geringsten Anteil an stark varroabelasteten Ständen von allen Bundesländern.

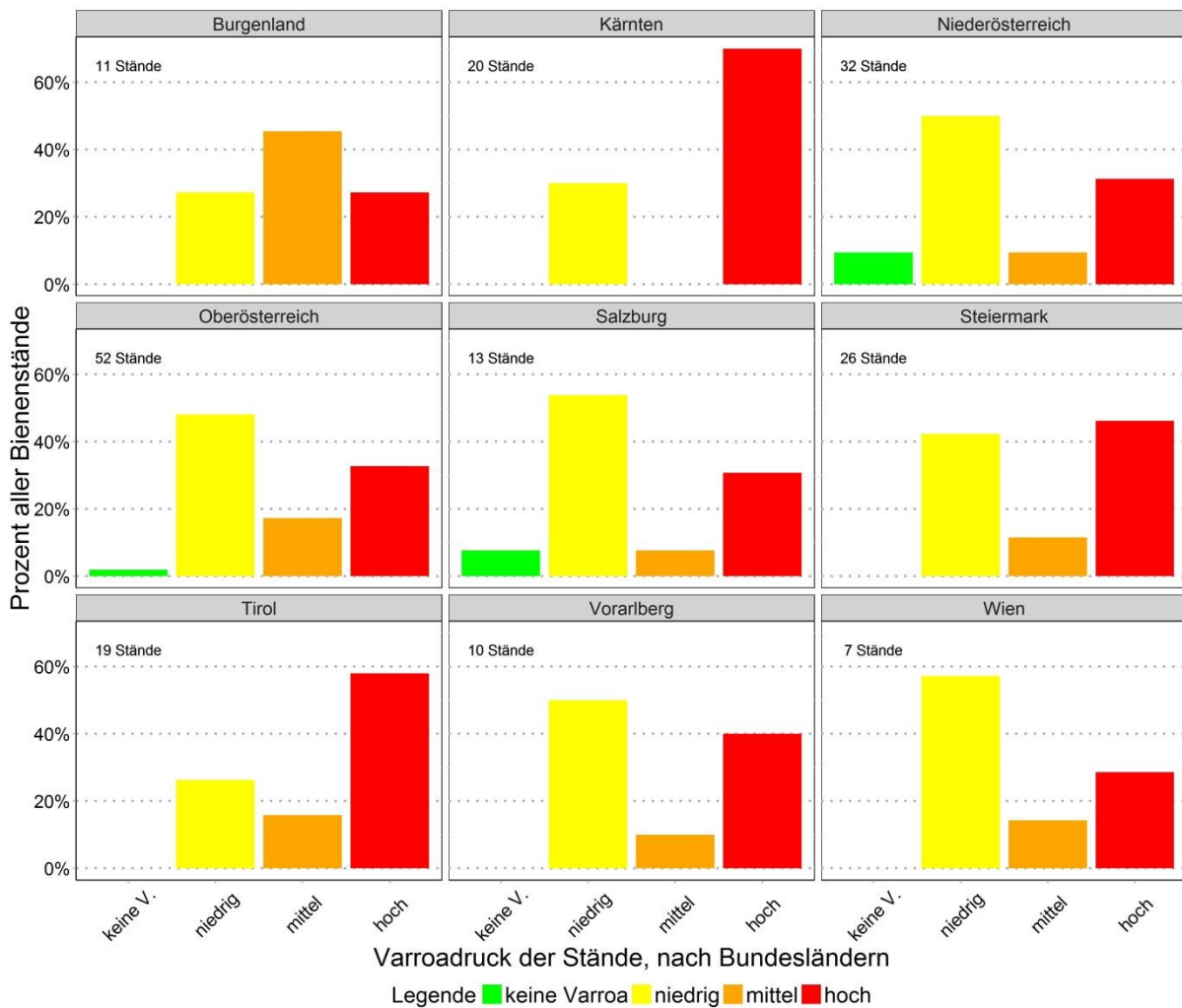


Abbildung 3.21: Zweiter Bienenstandbesuch (September/Oktober 2015): Varroadruck der Stände im Zuge der Beobachtungsstudie „Zukunft Biene“. Zusammenfassung nach Bundesländern; die Anzahl der Stände pro Bundesland ist in den Einzelgrafiken angegeben. Definition der Befallskategorien siehe Tabelle 3.19.

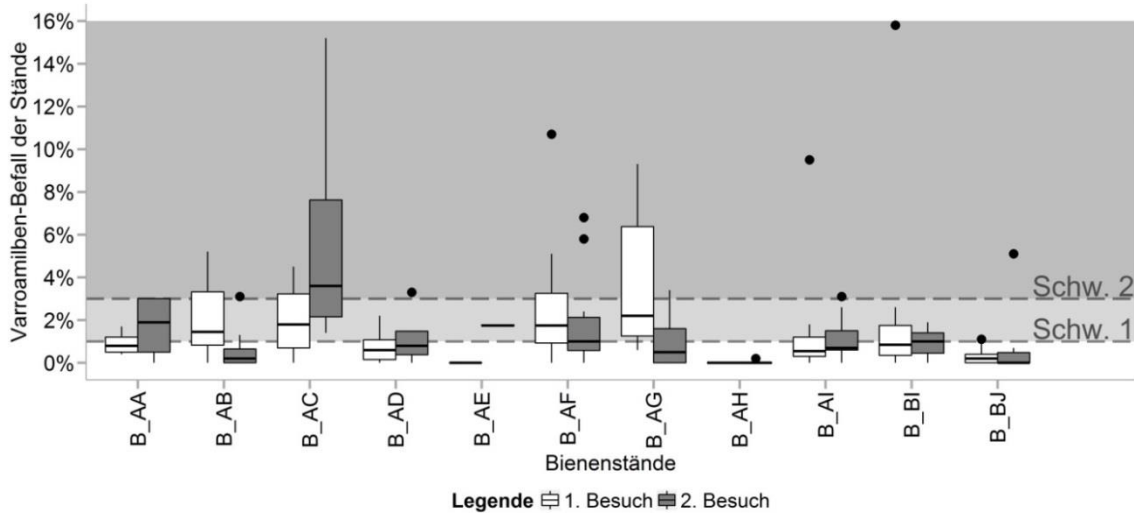
Die hier zusammengefassten Ergebnisse gaben die Situation des Varroabefalls im Zeitraum nach der Varroa-Hauptentmilbung wieder. Alle ImkerInnen wurden umgehend über die Ergebnisse zum Varroabefall informiert und hatten daher die Möglichkeit, bei erhöhtem Befall entsprechende zusätzliche Varroabekämpfungsmaßnahmen durchzuführen.

3a.4.4.4 Detailanalyse des Varroabefalls ausgewählter Bundesländer beim ersten und zweiten Standbesuch

Im folgenden Kapitel wird der Varroabefall ausgewählter Bundesländer im Detail besprochen. Dabei werden sowohl Bundesländer mit hohem Varroabefall in Bienenproben bei beiden Standbesuchen, als auch Bundesländer mit variierendem Varroabefall zwischen den Standbesuchen und Bundesländer, in denen sehr wenig Varroabefall festgestellt wurde, behandelt.

3a.4.4.1 Burgenland

A



B

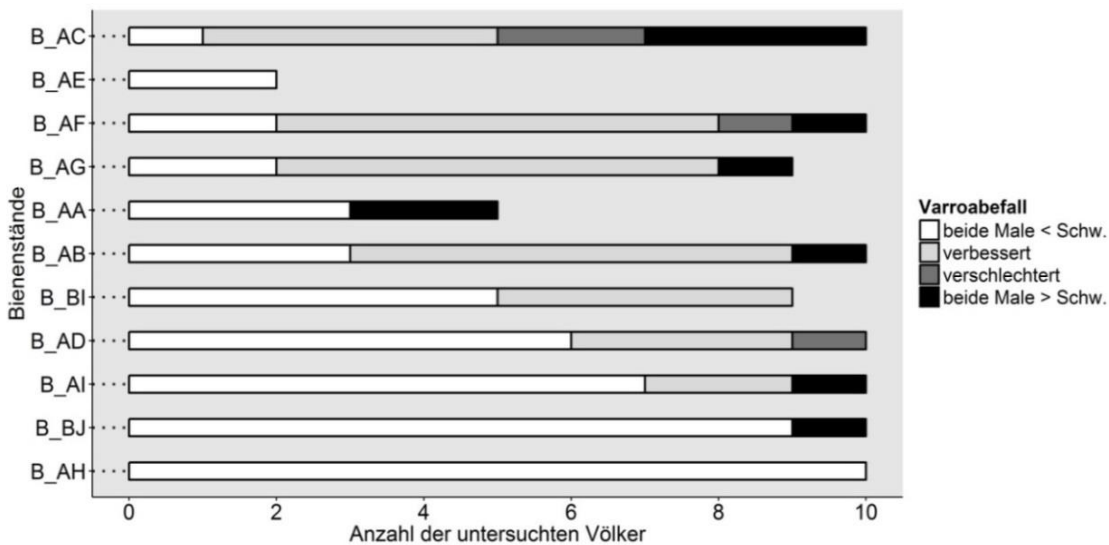


Abbildung 3.22: A Varroabefall der Bienen der besuchten Bienenstände im Burgenland (N = 11) beim ersten (weiße Boxplots; 97 Völker) bzw. beim zweiten Bienenstandbesuch (graue Boxplots; 96 Völker). Schw. 1: Schadschwelle für den ersten Besuch bei 1%; Schw. 2: Schadschwelle für den zweiten Besuch bei 3%; hellgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung beim ersten Besuch; dunkelgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung bei beiden Besuchen. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Vergleich der Varroabelastung zwischen den beiden Besuchen (95 Völker). „beide Male < Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen unter der Schadschwelle; „verbessert“ = Volk war nur beim ersten Besuch über der Schadschwelle; verschlechtert“ = Volk war nur beim zweiten Besuch über der Schadschwelle; „beide Male > Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen über der Schadschwelle.

Auf den Beobachtungsständen im Burgenland wurde beim ersten und zweiten Standbesuch ein hoher Varroadruck festgestellt, da auf den meisten Ständen mindestens ein hoch varroabefallenes Volk zu finden war. Der Anteil an Völkern mit hohem Varroabefall konnte jedoch bis zum zweiten Standbesuch stark gesenkt werden.

Bei beiden Standbesuchen wurden elf Stände besucht. Dabei bestand der kleinste Stand aus zwei Völkern (B_AE) und der größte Stand aus über 50 Völkern, von denen zehn Völker beprobt wurden (B_AC). Es wurden beim ersten Standbesuch 97 Völker und beim zweiten Standbesuch 96 Völker beprobt (Tabellen 3.20, 3.21). Davon konnten von 95 Völkern bei beiden Standbesuchen Bienenproben genommen werden, was einen direkten Vergleich dieser Völker möglich macht.

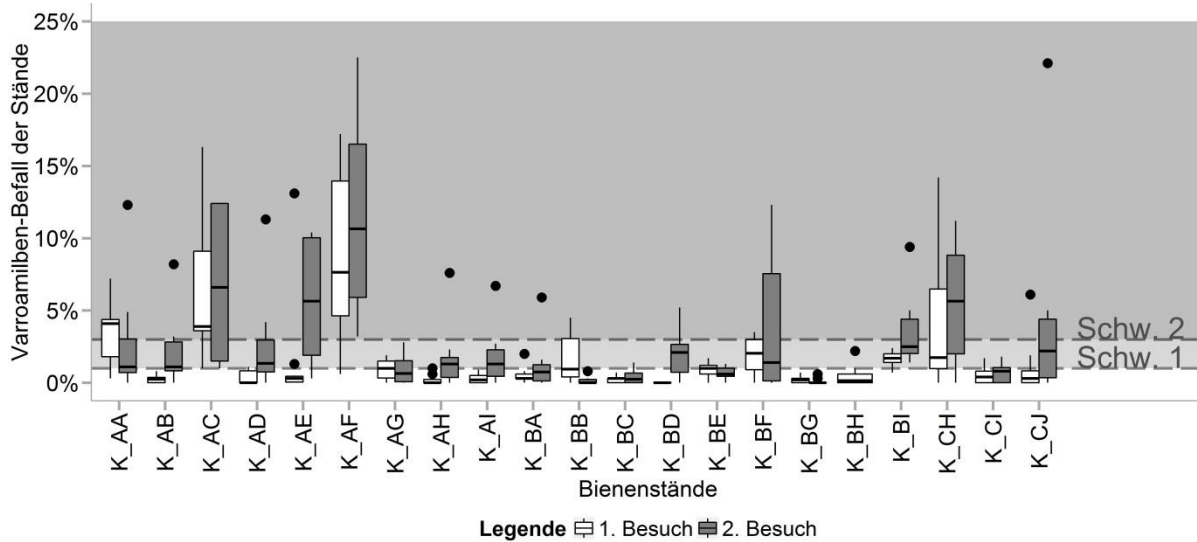
Beim ersten Standbesuch lag der mediane Varroabefall aller Bienenproben im Burgenland bei 0,8% (Minimum = 0,0%; Maximum = 15,8%; Abbildung 3.22 A, weiße Boxplots). Dabei unterschieden sich die Stände in der Höhe der Varroabelastung der Einzelvölker signifikant voneinander (Kruskal-Wallis-Test: $H = 41,7$; $df = 10$; $P < 0,001$; Abbildung 3.22 A). So lagen die Varroabefallswerte beim am stärksten befallenen Stand B_AG zwischen 0,6% und 9,3%, während in den Proben der beiden gering belasteten Ständen B_AE und B_AH keine einzige Varroamilbe gefunden wurde.

Beim zweiten Standbesuch war der mediane Varroabefall der Bienen mit 0,6% etwas geringer als beim ersten Standbesuch (Minimum = 0,0%; Maximum = 15,2%; Abbildung 3.22 A, graue Boxplots). Wieder variierte die Varroabelastung signifikant zwischen den Ständen (Kruskal-Wallis-Test: $H = 41,3$; $df = 10$; $P < 0,001$; Abbildung 3.22 A). Im Unterschied zum ersten Besuch war nun der Stand B_AC der am stärksten befallene Stand (Minimum = 1,4%; Maximum = 15,2%). Der am geringsten befallene Stand war erneut B_AH (Minimum = 0,0%; Maximum = 0,2%).

Auf sieben von neun Beobachtungsständen im Burgenland, die beim ersten Besuch erhöhte Varroabefallswerte aufwiesen, hatte sich der Varroadruck zwischen erstem und zweitem Besuch stark verringert. Beim zweiten Standbesuch waren nur mehr 25% der Völker, deren Bienenprobe beim ersten Standbesuch einen Varroabefall von über 1% aufwies, über der kritischen Schwelle von 3% (Abbildung 3.22 B, schwarze Balken). Nur vier Völker hatten beim zweiten Standbesuch einen höheren Varroadruck als beim ersten Standbesuch (Abbildung 3.22 B, dunkelgraue Balken). Ein Beispiel für eine erfolgreiche Varroareduzierung ist der Bienenstand B_AG, auf dem beim ersten Standbesuch ein Großteil der Völker einen Varroabefall über der Schadschwelle aufwies. Beim zweiten Standbesuch war der Bienenbefall mit Varroamilben nur mehr bei einem Volk oberhalb der Schadschwelle von 3%. In diesem Fall kann man von einer erfolgreichen Varroabehandlung ausgehen.

3a.4.4.4.2 Kärnten

A



B

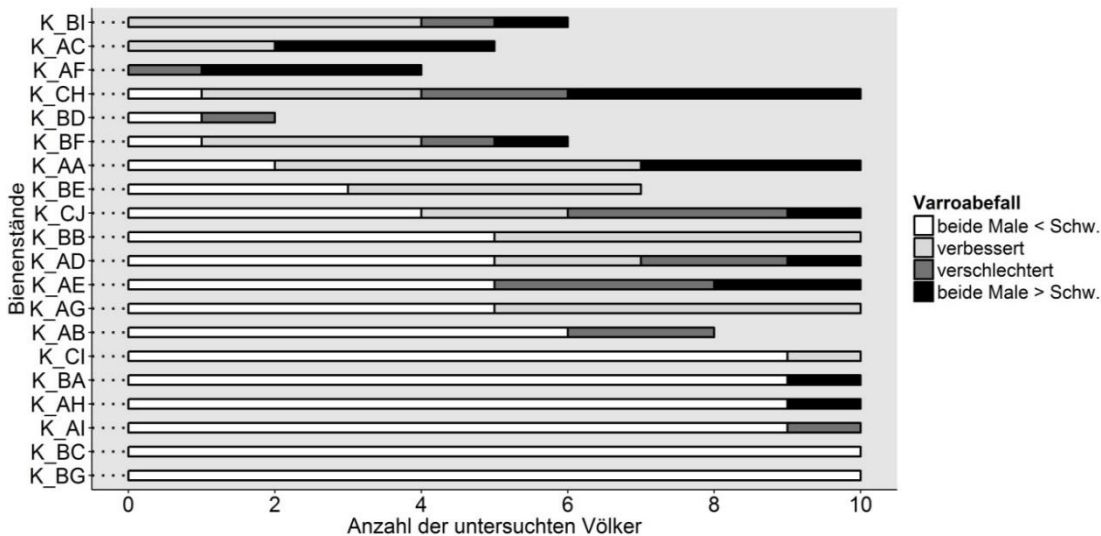


Abbildung 3.23: A Varroabefall der Bienen der besuchten Bienenstände in Kärnten beim ersten (weiße Boxplots; N = 22; 185 Völker) bzw. beim zweiten Bienenstandbesuch (graue Boxplots; N = 21; 172 Völker). Zwei Datenpunkte (Ausreißer) wurden aufgrund des gewählten Achsenausschnitts nicht in der Grafik dargestellt (beide zweiter Besuch: K_AC: 40,9%; K_AE: 38,3%). Schw. 1: Schadschwelle für den ersten Besuch bei 1%; Schw. 2: Schadschwelle für den zweiten Besuch bei 3%; hellgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung beim ersten Besuch; dunkelgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung bei beiden Besuchen. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Vergleich der Varroabelastung zwischen den beiden Besuchen (N = 20; 168 Völker). „beide Male < Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen unter der Schadschwelle; „verbessert“ = Volk war nur beim ersten Besuch über der Schadschwelle; „verschlechtert“ = Volk war nur beim zweiten Besuch über der Schadschwelle; „beide Male > Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen über der Schadschwelle.

Kärnten zählte zu den Bundesländern, in denen beim ersten und zweiten Standbesuch ein hoher Varroadruck festgestellt wurde (Abbildungen 3.19, 3.21). Es gab dabei auf fast 75% aller Stände mindestens ein Volk mit hohem Varroabefallswert.

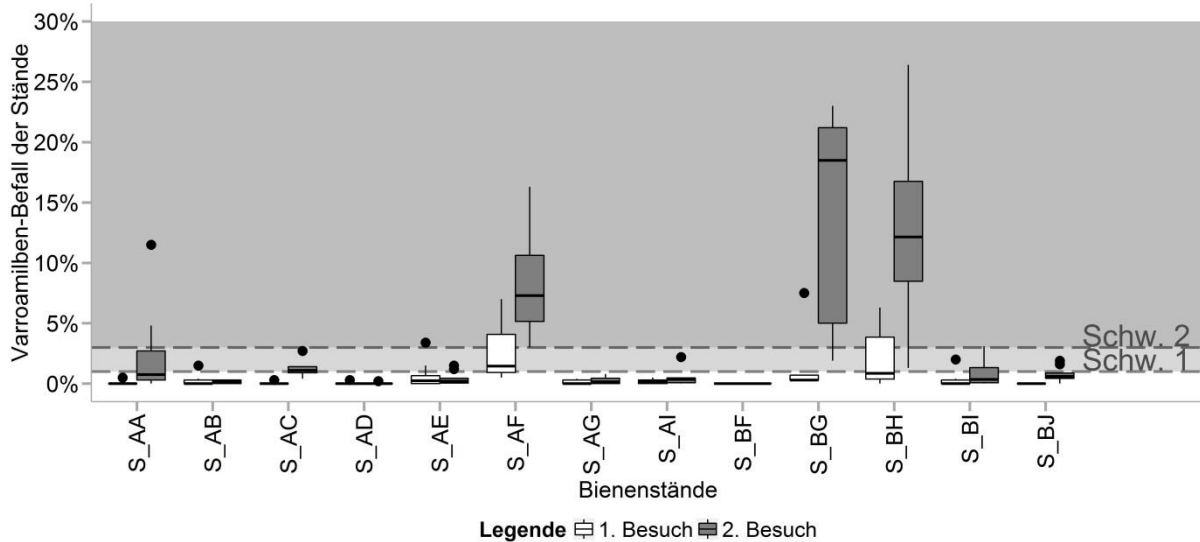
In Kärnten wurden 21 Stände im Zuge des ersten Standbesuchs und 20 Stände im Zuge des zweiten Standbesuchs inspiziert. Dabei wurden von 185 bzw. 172 Völkern Proben für Varroauntersuchungen entnommen (Tabellen 3.20, 3.21). Es wurden von 168 Völkern bei beiden Standbesuchen Proben entnommen, diese konnten daher direkt verglichen werden. Der größte unter den besuchten Bienenständen war der Stand K_BA mit 45 Völkern (10 davon beprobt). Der kleinste Stand war beim ersten Besuch der Stand K_AC mit fünf Völkern und bei Besuch 2 K_AF mit vier Völkern.

Beim ersten Standbesuch lag der Median des Varroabefalls der Bienenproben bei 0,5% (Minimum 0,0%; Maximum 15,8%; Abbildung 3.23 A, weiße Boxplots). Auf 16 der 21 Stände wurden Bienenproben gefunden, deren Varroabefall über dem Schwellenwert von 1% lag (Abbildung 3.23 A). Die Varroabefallszahlen unterschieden sich signifikant zwischen den Bienenständen (Kruskal-Wallis-Test: $H = 87,1$; $df = 20$; $P < 0,001$). Der Stand mit dem minimalen Befall war K_BD, in dessen Bienenproben keine Varroamilben gefunden wurden. Der Stand mit der höchsten medianen Varroabelastung war K_AF mit 7,6% (Minimum: 0,6%; Maximum: 17,2%).

Beim zweiten Standbesuch betrug der mediane Befall der Bienenproben 1,1% (Minimum: 0,0%; Maximum: 40,9%; Abbildung 3.23 A, graue Boxplots). Bei diesem Besuch wurden auf 14 von 20 Ständen Bienenproben mit Varroabefall über der Schadschwelle gefunden. Wieder zeigte sich zwischen den Ständen ein signifikanter Unterschied in der Varroabelastung der Völker (Kruskal-Wallis-Test: $H = 72,3$; $df = 19$; $P < 0,001$). Wie schon beim ersten Besuch war der Stand K_AF am schwersten belastet, diesmal waren alle beprobten Völker über der Schadschwelle von 3% (Median: 10,7%; Minimum: 3,2%; Maximum: 22,5%). Zwei Stände hatten mit 0,0% den geringsten medianen Varroabefall (Maximum von K_BB: 0,8%; Maximum von K_BG: 0,6%). Der Varroabefall der Völker von K_BB wurde zwischen dem ersten und zweiten Standbesuch stark verringert. Vergleicht man beide Standbesuche, war beim zweiten Besuch eine leichte Verbesserung der Situation festzustellen. Bei einem Drittel der Völker, deren Varroabefall beim ersten Besuch oberhalb der Schadschwelle war, konnte der Befall unter die Schadschwelle gedrückt werden (Abbildung 3.23 B, hellgraue Balken). Auf 14 von 20 Ständen wurden Völker gefunden, deren Varroasituation sich vom ersten zum zweiten Standbesuch verschlechtert hatte (Abbildung 3.23 B, dunkelgraue Balken) oder durchgehend über der Schadschwelle verblieben war (Abbildung 3.23 B, schwarze Balken). Diese Völker stellten eine Varroaquelle dar, die zur Reinfektion anderer Völker des Standes geführt haben konnte. Es ist anzunehmen, dass die Varroabehandlung auf Ständen mit vielen belasteten Völkern nicht optimal funktioniert hat (zum Beispiel: K_AE, K_AF, K_CJ). Es sind aber auch Stände zu finden, bei denen die Varroabehandlungen gut gewirkt haben und die zwischen den Standbesuchen ihren Varroabefall unter die Schadgrenze senken konnten (zum Beispiel: K_BB, K_BE).

3a.4.4.4.3 Salzburg

A



B

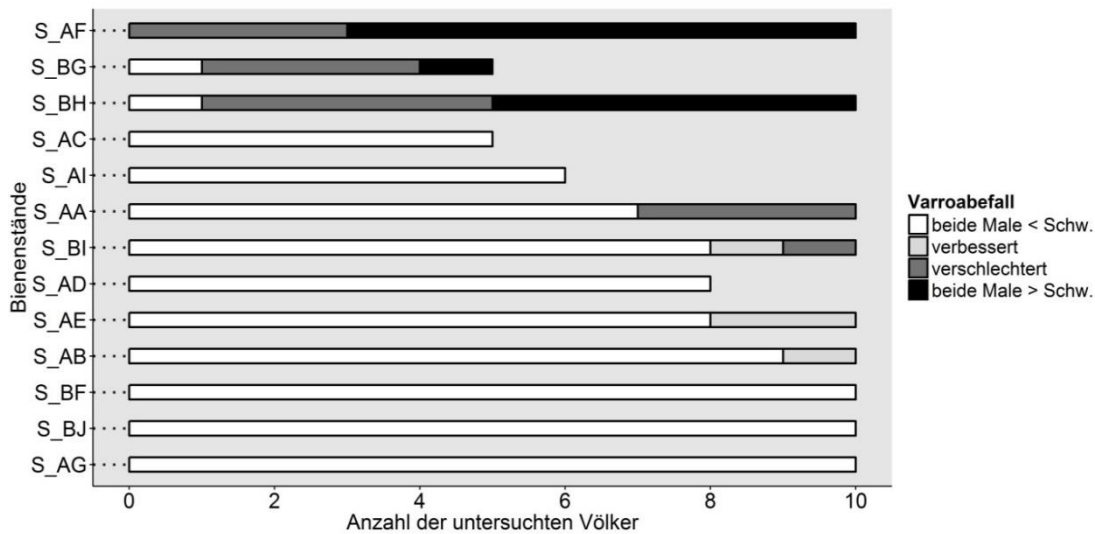


Abbildung 3.24: A Varroabefall der Bienen der besuchten Bienenstände in Salzburg (N = 13) beim ersten (weiße Boxplots; 116 Völker) bzw. beim zweiten Bienenstandbesuch (graue Boxplots; 114 Völker). Ein Datenpunkt (Ausreißer) wurde aufgrund des gewählten Achsenausschnitts nicht in der Grafik dargestellt (zweiter Besuch: S_BH: 37,1%). Schw. 1: Schadschwelle für den ersten Besuch bei 1%; Schw. 2: Schadschwelle für den zweiten Besuch bei 3%; hellgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung beim ersten Besuch; dunkelgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung bei beiden Besuchen. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Vergleich der Varroabelastung zwischen den beiden Besuchen (N = 13; 114 Völker). „beide Male < Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen unter der Schadschwelle; „verbessert“ = Volk war nur beim ersten Besuch über der Schadschwelle; „verschlechtert“ = Volk war nur beim zweiten Besuch über der Schadschwelle; „beide Male > Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen über der Schadschwelle.

Salzburg ist eines der Bundesländer, in denen der geringste Anteil an Ständen mit Völkern über den jeweiligen Schadschwellen gefunden wurde. Die wenigen Stände, auf denen ein Varroaproblem festgestellt wurde, waren hingegen stark belastet.

In Salzburg wurden insgesamt 13 Bienenstände beprobt, wobei beim ersten Standbesuch 116 Völker und beim zweiten Standbesuch 114 Völker beprobt wurden. Es konnte von 114 Völkern bei beiden Standbesuchen eine Bienenprobe genommen werden. Der größte Bienenstand in Salzburg war S_AD mit 22 Völkern, von denen zehn Völker beprobt wurden. Auf dem Bienenstand S_AC waren fünf Völker aufgestellt, dieser war der kleinste Salzburger Stand.

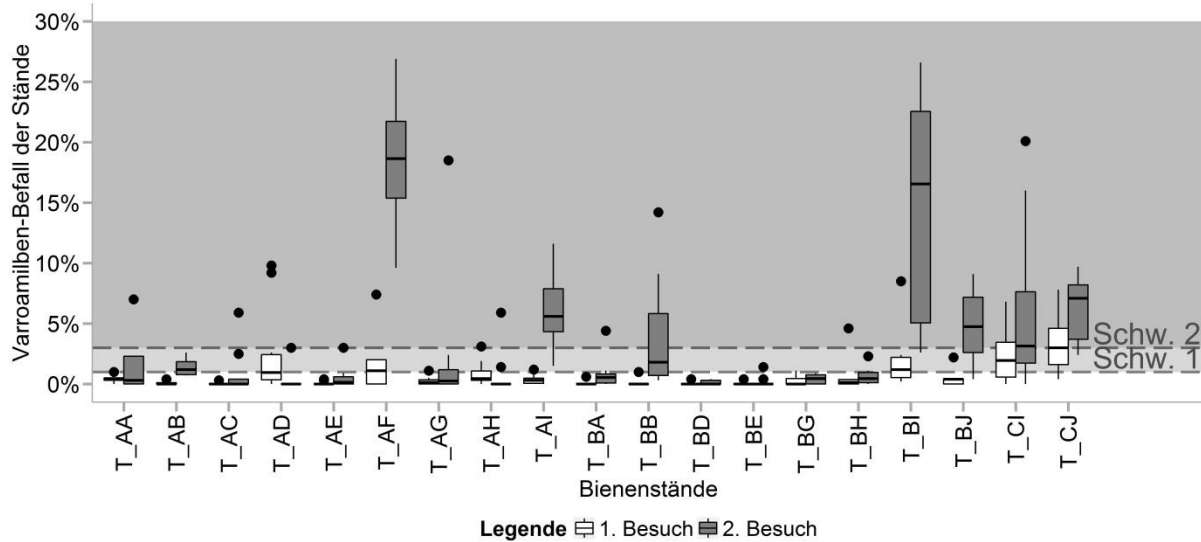
Beim ersten Standbesuch lag der mediane Varroabefall aller Völker bei 0% (Minimum: 0%, Maximum: 7,5%, Abbildung 3.24 A, weiße Boxplots). Dabei wurden auf weniger als der Hälfte aller Stände Bienenvölker mit einem Varroabefall über der Schadschwelle gefunden. In den Bienenproben von zwei der Stände (S_BF, S_BJ) wurden keine Varroamilben gefunden. Allgemein fällt auf, dass die meisten Stände sehr geringen Varroabefall aufwiesen, mit maximal ein bis zwei stark befallenen Völkern. Im Gegensatz dazu hatten die Bienenvölker auf den zwei Ständen S_AF (Median: 1,45%, Minimum: 0,5%, Maximum: 7,0%) und S_BH (Median: 0,9%, Minimum: 0,0%, Maximum: 6,3%) mit einem sehr hohen Varroabefall zu kämpfen. Die untersuchten Stände unterschieden sich signifikant in der Höhe des Varroabefalls der Bienen (Kruskal-Wallis-Test: $H = 60,1$; $df = 12$; $P < 0,001$).

Beim zweiten Standbesuch sahen die Ergebnisse ähnlich aus. Mit einem Median von 0,4% war der Varroabefall allgemein gering (Minimum 0,0%; Maximum: 37,7%, Abbildung 3.24 A, graue Boxplots). Bei diesem Besuch wurde auf acht von 13 Ständen ein Varroabefall unter der Schadschwelle von 3% gefunden. In den Bienenproben des Standes S_BF wurde erneut keine einzige Varroamilbe gefunden. Wieder waren einige wenige Stände sehr stark befallen (S_AF, S_BH, S_BG). Der am stärksten befallene Stand wies einen Median von 18,5% Varroabefall auf Bienen auf (Minimum: 1,9%, Maximum: 23,0%). Wieder unterschied sich die Höhe des Varroabefalls signifikant zwischen den Salzburger Ständen (Kruskal-Wallis-Test: $H = 79,7$; $df = 12$; $P < 0,001$).

Beim Vergleich der beiden Standbesuche zeigt sich, dass auf über 60% der beprobten Salzburger Stände die Varroamilbe erfolgreich unter Kontrolle gehalten wurde. Diese Stände zeichneten sich dadurch aus, dass entweder nie Völker mit erhöhtem Varroabefall festgestellt wurden oder dieser zwischen dem ersten und zweiten Besuch auf ein unbedenkliches Maß gesenkt werden konnte (Abbildung 3.24 B, hellgraue Balken). Auf anderen Ständen scheint die Varroabehandlung hingegen nicht ausreichend gewirkt zu haben. Hier sind drei Stände besonders auffällig, bei denen beim ersten Besuch einige bis viele Völker mit hohem Varroabefall gefunden wurden (Abbildung 3.24 B, schwarze Balken). Bis zum zweiten Besuch erhöhte sich der Varroabefall in den anderen Völkern (Abbildung 3.24 B, dunkelgraue Balken), bis fast alle Völker dieser Stände einen Befall über der Schadschwelle verzeichneten.

3a.4.4.4 Tirol

A



B

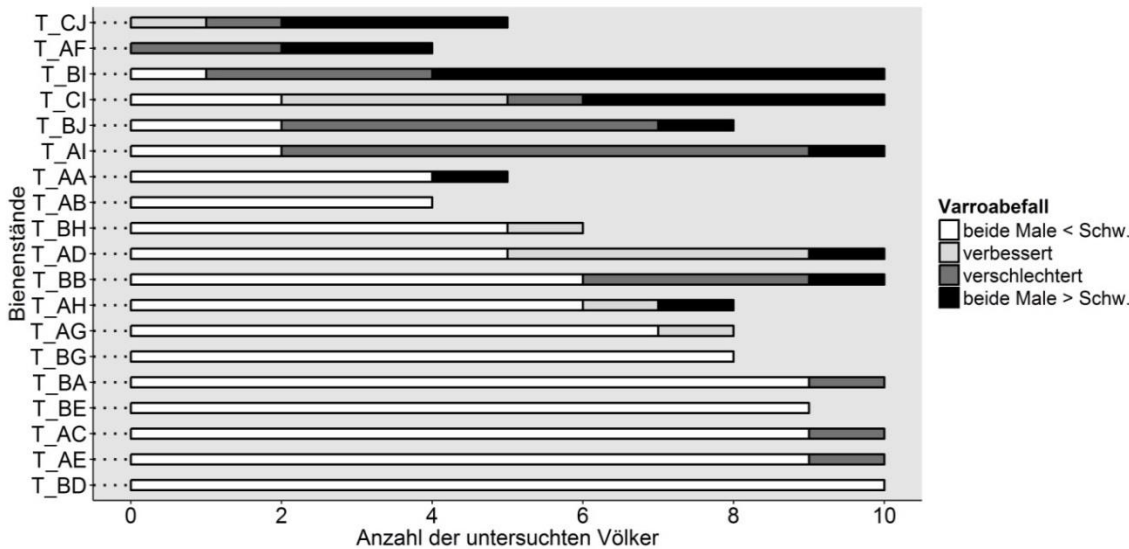


Abbildung 3.25: A Varroabefall der Bienen der besuchten Bienenstände in Tirol (N = 19) beim ersten (weiße Boxplots; 158 Völker) bzw. beim zweiten Bienenstandbesuch (graue Boxplots; 159 Völker). Schw. 1: Schadschwelle für den ersten Besuch bei 1%; Schw. 2: Schadschwelle für den zweiten Besuch bei 3%; hellgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung beim ersten Besuch; dunkelgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung bei beiden Besuchen. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Vergleich der Varroabelastung zwischen den beiden Besuchen (N = 19; 155 Völker). „beide Male < Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen unter der Schadschwelle; „verbessert“ = Volk war nur beim ersten Besuch über der Schadschwelle; „verschlechtert“ = Volk war nur beim zweiten Besuch über der Schadschwelle; „beide Male > Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen über der Schadschwelle.

Auf den Tiroler Versuchsständen hatte sich beim ersten Standbesuch eine mäßige Varroabelastung gezeigt, die auf einigen Ständen bis zum zweiten Besuch deutlich stieg.

In Tirol wurden insgesamt 19 Stände beprobt, dabei wurden beim ersten Standbesuch 158 Völker und beim zweiten Standbesuch 159 Völker beprobt. Von 155 Völkern lagen Daten vom ersten und zweiten Standbesuch vor; die Entwicklung dieser Völker zwischen den Standbesuchen konnte

verglichen werden. Der größte Stand in Tirol ist T_AH und bestand aus 47 Völkern, von denen zehn Völker beprobt wurden. Der Stand T_AB war mit vier Völkern der kleinste Stand der Stichprobe.

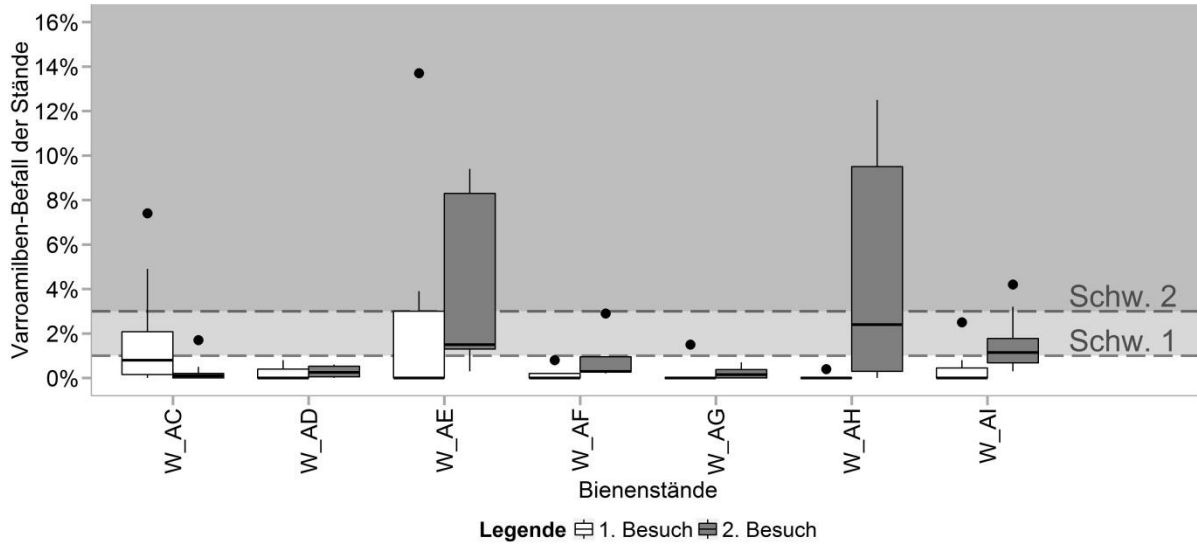
Beim ersten Standbesuch lag der mediane Varroabefall bei 0,0% (Minimum: 0,0%, Maximum 9,8%, Abbildung 3.25 A, weiße Boxplots). Auf etwa 70% aller untersuchten Stände war zumindest ein Volk mit einer Varroabelastung über der Schadschwelle vorhanden. Auf den meisten dieser Stände waren ein oder zwei Völker stark belastet. Die Tiroler Stände unterschieden sich in der Varroabelastung ihrer Völker signifikant voneinander (Kruskal-Wallis-Test: $H = 74,5$; $df = 18$; $P < 0,001$). Der am geringsten befallene Stand war T_AC mit einem medianen Befall von 0,0% (Maximum: 0,3%). Der höchstbefallene Stand T_CJ wies einen medianen Befall von 3,0% auf (Minimum: 0,4%; Maximum: 7,8%).

Beim zweiten Standbesuch hatten die Tiroler Völker einen medianen Befall von 0,6% mit einem minimalen Befall von 0,0% und einem Befallsmaximum von 26,9%. Ähnlich wie beim ersten Besuch wurden bei 74,0% aller Stände Völker mit hoher Varroabelastung gefunden. Im Gegensatz dazu waren beim zweiten Besuch bei der Hälfte aller belasteten Stände eine Mehrzahl der Völker stark mit Varroa befallen, wie die hohen Medianwerte in Abbildung 3.25 A ersichtlich machen (graue Boxplots). Wieder war ein signifikanter Unterschied in der Varroabelastung zwischen den Ständen zu beobachten (Kruskal-Wallis-Test: $H = 96,5$; $df = 18$; $P < 0,001$). Dabei hatte der Stand T_BD mit einem medianen Befall von 0,0% die geringste Varroabelastung (Minimum: 0,0%; Maximum: 0,4%), während der Stand T_AF einen medianen Befall von 18,7% und damit die höchste Varroabelastung in Tirol aufwies (Minimum: 9,6%, Maximum: 26,9%).

Beim Vergleich der beiden Besuche zeigte sich ein inhomogenes Bild der Tiroler Stände. Bei etwa einem Drittel der Stände lässt starke Zunahme der Völker mit Varroabefall über der Schadschwelle vermuten, dass die gesetzten Varroabekämpfungsmaßnahmen nicht gewirkt haben (Abbildung 3.25 B, dunkelgraue Balken). Auf einem weiteren Drittel der Stände hat die Mehrzahl aller Völker eine Varroabelastung unter der Schadschwelle, nur bei einem „Problemvolk“ ist ein Varroabefall über der Schadschwelle zu finden. Hier bestand die Gefahr der Reinvansion der Varroamilben in die umliegenden Völker (Sarkofski et al., 1990; Seeley & Smith, 2015). Auf dem letzten Drittel der Stände wurde durchgehend ein niedriger Varroabefall oder eine effektive Verringerung des Varroabefalls gemessen (Abbildung 3.25 B, Stände mit weißen und hellgrauen Balken). Auf diesen Ständen konnte man von einer optimalen Wirksamkeit der Varroabehandlung ausgehen.

3a.4.4.4.5 Wien

A



B

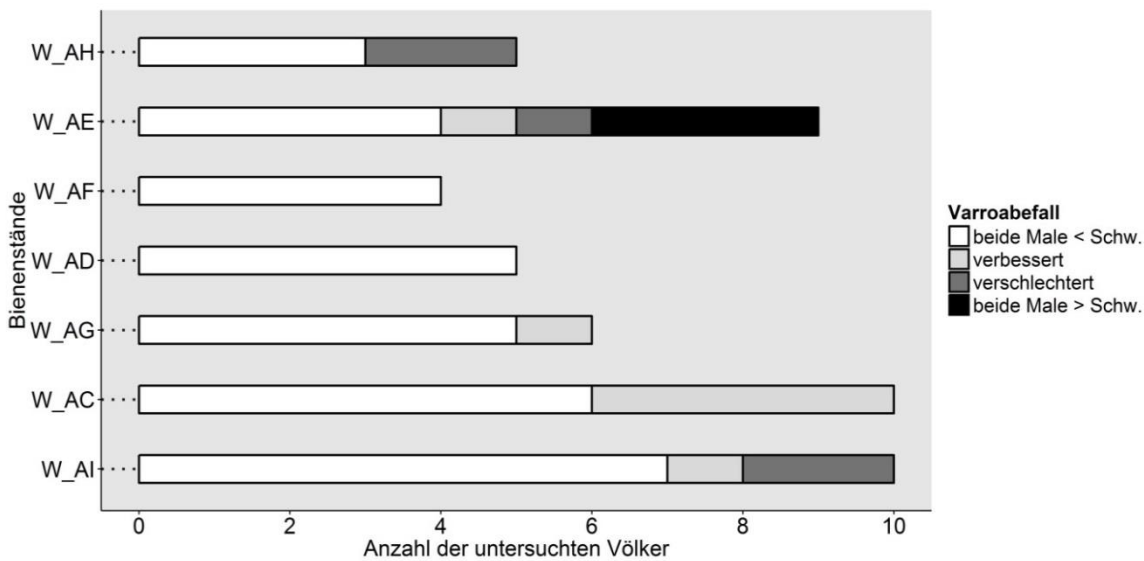


Abbildung 3.26: A Varroabefall der Bienen der besuchten Bienenstände in Wien (N = 7) beim ersten (weiße Boxplots; 50 Völker) bzw. beim zweiten Bienenstandbesuch (graue Boxplots, 50 Völker). Schw. 1: Schadschwelle für den ersten Besuch bei 1%; Schw. 2: Schadschwelle für den zweiten Besuch bei 3%; hellgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung beim ersten Besuch; dunkelgrauer Bereich: Gefahr der Schädigung bei beiden Besuchen. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Vergleich der Varroabelastung zwischen den beiden Besuchen. „beide Male < Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen unter der Schadschwelle; „verbessert“ = Volk war nur beim ersten Besuch über der Schadschwelle; „verschlechtert“ = Volk war nur beim zweiten Besuch über der Schadschwelle; „beide Male > Schw.“ = Volk war bei beiden Besuchen über der Schadschwelle.

Auf dem Stadtstandort Wien war beim ersten und beim zweiten Besuch etwa die Hälfte aller Bienenstände von Varroabefall über der Schadschwelle betroffen. Dabei erhöhte sich der Varroabefall bei einigen Ständen vom ersten zum zweiten Standbesuch, während auf anderen Ständen der Varroabefall erfolgreich gesenkt wurde. Der kleinste Bienenstand in Wien bestand aus vier Völkern (W_AF) und der größte Bienenstand bestand aus 14 Völkern (W_AE).

In Wien wurden insgesamt sieben Stände beprobt (erster Besuch: 50 Völker; zweiter Besuch: 50 Völker). Von 49 Völkern lagen Varroabefallsdaten bei beiden Besuchen vor, daher konnten die Varroabefallsdaten dieser Völker zwischen den Besuchen verglichen werden.

Beim ersten Standbesuch betrug der Varroabefall der Bienen im Median 0,0% (Minimum: 0,0%; Maximum: 13,7%; Abbildung 3.26 A, weiße Boxplots). Auf vier von sieben Ständen wurden Völker mit Varroabefall über der Schadschwelle gefunden. Der Stand W_AC war der am stärksten befallene Stand mit einem medianen Varroabefall von 0,8% (Minimum: 0,0%; Maximum 7,4%). Die Bienen des Standes W_AH hatten den geringsten Varroabefall (Median = 0,0%; Maximum 0,4%). Die Höhe des Varroabefalls unterschied sich signifikant zwischen den sieben Ständen (Kruskal-Wallis-Test: $H = 8,0$; $df = 6$; $P < 0,001$).

Beim zweiten Standbesuch betrug der mediane Varroabefall der Bienen 0,5% (Minimum: 0,0%; Maximum 12,5%; Abbildung 3.26 A, graue Boxplots). Bei diesem Standbesuch hatten drei von sieben Ständen Völker mit Varroabefall über der Schadschwelle. Die Völker des Bienenstands W_AH, die beim ersten Standbesuch den geringsten Varroabefall hatten, waren beim zweiten Standbesuch am stärksten befallen (Median = 2,4%; Minimum: 0,0%; Maximum: 12,5%). Der Stand mit dem geringsten Befall war W_AG mit einem medianen Befall von 0,15% (Minimum 0,0%, Maximum 0,7%). Wieder war ein signifikanter Unterschied zwischen den Wiener Ständen in der Höhe des Varroabefalls vorhanden (Kruskal-Wallis-Test: $H = 23,2$; $df = 6$; $P < 0,001$).

Zwischen den zwei Standbesuchen zeigten sich sowohl Verschlechterungen als auch Verbesserungen in der Stärke des Varroabefalles (Abbildung 3.26 B). Auf zwei Ständen, bei denen im Sommer kein bzw. ein leichtes Varroaproblem vorhanden war, stieg die Zahl der varroabefallenen Völker bis zum zweiten Standbesuch im Herbst an (W_AH, W_AI). Ein dritter Stand hatte bei beiden Standbesuchen mit der Varroamilbe zu kämpfen (W_AE). Es ist anzunehmen, dass in diesen Fällen keine optimale Wirkung der Varroabehandlung gegeben war. Die andere Hälfte der Wiener Beobachtungsstände hatte beim zweiten Besuch bei allen Völkern einen Varroabefall unter der Schadschwelle. Hier konnte der Befall entweder verringert werden oder blieb konstant niedrig.

3a.4.4.5 Durchgeführte Maßnahmen zur Reduktion des Varroabefalles

Die teilnehmenden Imker und Imkerinnen gaben im Zuge der drei Standbesuche an, mit welchen medikamentösen Präparaten und biotechnischen Maßnahmen sie die Fokusbienenvölker behandelt hatten. Außerdem gaben sie den Zeitpunkt der Behandlungen, die Applikationsart und die angewendete Menge bekannt, soweit die Informationen noch vorlagen. Es wurde der Behandlungszeitraum zwischen dem Juli 2014 und dem Frühling 2016 abgefragt. Vollständige Behandlungsprotokolle liegen von 188 Bienenständen vor.

3a.4.4.5.1 Medikamentöse Varroabehandlung

Auf allen 188 Ständen waren im Aufzeichnungszeitraum medikamentöse Behandlungen der Bienenvölker gegen die Varroamilbe durchgeführt worden. Die organischen Säuren Oxalsäure und Ameisensäure waren dabei die mit Abstand am häufigsten verwendeten Substanzen (Abbildung 3.27 A). Oxalsäure wurde von 98% aller befragten ImkerInnen verwendet und Ameisensäure von 85% der ImkerInnen. Thymol wurde von 23% aller ImkerInnen verwendet und Milchsäure von 3% der ImkerInnen. Tau-Fluvalinat (Apistan) und Flumethrin (Bayvarol) wurden in 2 Imkereibetrieben eingesetzt, Coumaphos (Checkmite) in einem. Ebenfalls bei jeweils einem Imker / einer Imkerin wurden alternative Präparate aus Hopfen und Kampfer angewendet.

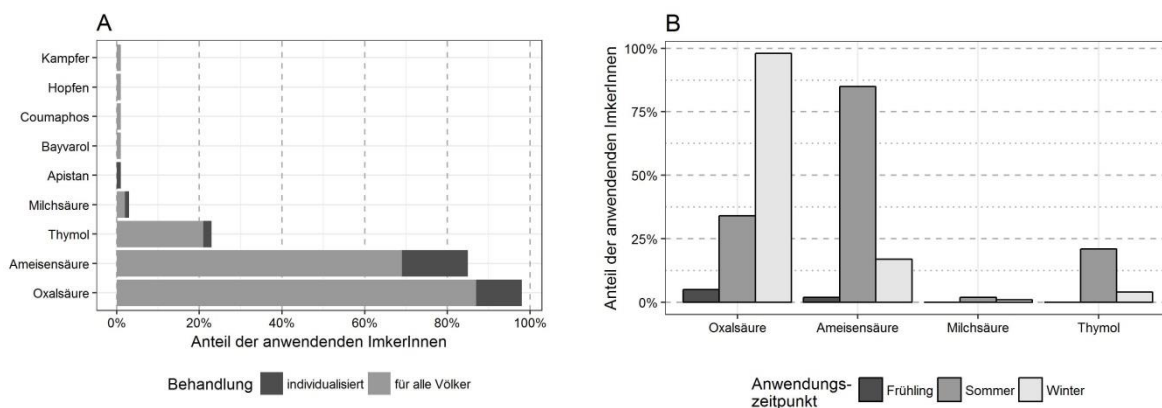


Abbildung 3.27: **A** Häufigkeit der Verwendung unterschiedlicher Substanzen gegen die Varroamilbe im Zeitraum Juli 2014 bis April 2016 bei den 188 ImkerInnen der Beobachtungsstudie. Wenn die Behandlung individualisiert erfolgte, dann wurde die Art und Häufigkeit der Behandlung auf den Zustand des jeweiligen Bienenvolks abgestimmt. **B** Einsatz der vier häufigsten Substanzen – unterteilt in die Behandlungssaisonen des Imkerjahres; Frühling: März bis Juni; Sommer: Juli bis September; Winter: Oktober bis Februar.

Die organischen Säuren wurden erwartungsgemäß zu speziellen Zeitpunkten im Jahr eingesetzt. Ameisensäure wurde auf 85% der Stände in den Sommermonaten zwischen Juli und September verwendet (Abbildung 3.27 B). Genauso wurde Thymol in erster Linie im Sommer angewandt (21% der Betriebe). Oxalsäure wurde in 98% der Betriebe in den Wintermonaten Oktober bis Februar zur Restentmilbung verwendet. Interessanterweise gaben ein Drittel aller ImkerInnen an, Oxalsäure ebenfalls im Sommer zu verwenden. Im Frühling kam es nur in einzelnen Fällen zur Anwendung von Ameisensäure oder Oxalsäure. Tau-Fluvalinat (Apistan), Flumethrin (Bayvarol) und Coumaphos wurden ausschließlich zwischen Juli und September eingesetzt.

3a.4.4.5.1.1 Oxalsäure

Die befragten ImkerInnen verwendeten drei Arten der Applikation von Oxalsäure, wobei ein Viertel der Imkerschaft mehr als eine Applikationsmethode verwendete. Auf 82% der Stände wurde Oxalsäure durch Beträufeln auf die Bienen appliziert (Abbildung 3.28 B). Ebenfalls häufig wurde das Verdampfen von Oxalsäure angewandt (36% der Stände). Sehr selten wurde die Oxalsäure durch Besprühen (7% der Stände) oder Vernebeln (2% der Stände) auf die Bienen aufgebracht. Die Applikation durch Besprühen oder Vernebeln wurde nur in Kombination mit mindestens einer anderen Methode angewandt. Zwei ImkerInnen hatten die Art der Applikation nicht angegeben.

Die Häufigkeit der Applikationsarten bleibt zwischen den Jahreszeiten relativ konstant. Die ImkerInnen applizierten die Oxalsäure das ganze Jahr über am häufigsten durch Beträufeln der Bienen, gefolgt durch das Verdampfen (Abbildung 3.28 A).

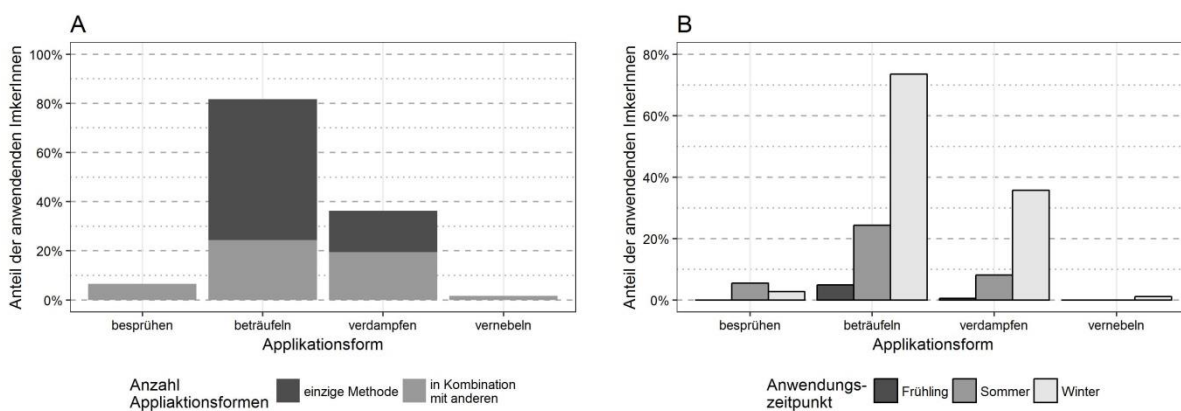


Abbildung 3.28: **A** Häufigkeit der Verwendung der verschiedenen Applikationsarten für Oxalsäure bei den 185 ImkerInnen der Beobachtungsstudie, die Oxalsäure angewandt haben. Ein Viertel der ImkerInnen hat mehr als eine Applikationsart verwendet um Oxalsäure in das Bienenvolk einzubringen. **B** Häufigkeit der verschiedenen Applikationsformen, unterteilt in die Behandlungszeiten des Imkerjahres; Frühling: März bis Juni; Sommer: Juli bis September; Winter: Oktober bis Februar.

3a.4.4.5.1.2 Ameisensäure

Ameisensäure wurde von 160 der teilnehmenden ImkerInnen im Aufzeichnungszeitraum (Juli 2014-April 2016) zur Varroabekämpfung eingesetzt. Dabei verwendeten 62% der ImkerInnen Verdunstungssysteme zur Langzeitbehandlung und 59% der ImkerInnen Systeme zur Kurzzeitbehandlung (Doppelnennungen waren möglich). 78% der 160 ImkerInnen verwendeten beide Systeme, 22% ausschließlich Systeme zur Kurzzeitbehandlung oder ausschließlich für Langzeitbehandlungen.

Für die Langzeitbehandlung wurde eine Reihe von Verdunstern angegeben, wobei am häufigsten der Liebig-Verdunster (34%), der Universal-Verdunster (25%) und der Nassenheider-Verdunster (23%) genannt wurden (Abbildung 3.29 A). Eher selten in Verwendung waren der Apidea-Verdunster (6%) und die Biotabs (11%). 12% der ImkerInnen verwendeten einen Eigenbau-Verdunster ohne genauere Angaben dazu zu machen, weitere 4% eine umgedrehte Medizinflasche.

Für die Kurzzeitbehandlung wurde in 84% der Fälle die Schwammtuchmethode angewandt. Weitere 19% der ImkerInnen verwendeten eine Stoßbehandlung ohne genauere Angaben der

Durchführung. Eher selten wurde Ameisensäure mit Hilfe einer Weichfaserplatte (8%) oder mit den mit Ameisensäure getränkten „To Bee“-Tüchern in das Bienenvolk eingebracht (5%).

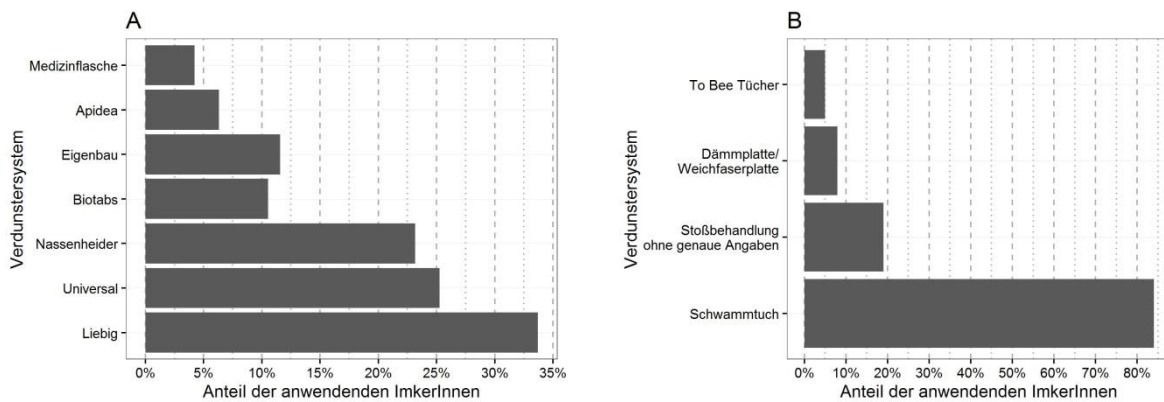


Abbildung 3.29: Häufigkeit der Anwendungen der Verdunstersysteme für Ameisensäure von den teilnehmenden ImkerInnen für (A) die Langzeitbehandlungen (95 anwendende ImkerInnen) und (B) die Kurzzeitbehandlungen (100 anwendende ImkerInnen). Mehrfachantworten waren möglich.

3a.4.4.5.2 Biotechnische Maßnahmen

Unter biotechnische Maßnahmen fasst man alle Methoden der Varroabekämpfung zusammen, die ohne Einsatz von chemischen Substanzen auskommen. Insgesamt haben 160 der 188 ImkerInnen neun verschiedene biotechnische Methoden auf den Bienenständen der Beobachtungsstudie verwendet, um den Varroabefall zu reduzieren. Mit Abstand am häufigsten wurde die Methode des Drohnenbrutschneidens von über zwei Drittel aller ImkerInnen angewandt (Abbildung 3.30 A). Diese wurde erwartungsgemäß am häufigsten im Frühling zwischen März und Juni durchgeführt (Abbildung 3.30 B), wobei ein Großteil der ImkerInnen im Mai (82 ImkerInnen) und Juni (60 Imker) verdeckelte Drohnenbrut ausgeschnitten haben. Bei vielen ImkerInnen lagen jedoch keine genauen Zeitangaben über die Durchführung des Drohnenbrutschneidens vor (Abbildung 3.30 B).

Eine Gesamtbrutentnahme wurde von 37% der ImkerInnen durchgeführt (51 ImkerInnen), um den Varroadruck zu reduzieren (Abbildung 3.30 A). Diese erfolgte in den meisten Fällen im Sommer (Abbildung 3.30 B): im Juli führten 21 ImkerInnen und im August 11 ImkerInnen die Maßnahme durch. Häufig wurde keine nähere Zeitangabe zur Durchführung gemacht.

Eine Teilbrutentnahme und die Erstellung eines Kehrschwarms wurden von über 10% der ImkerInnen durchgeführt. Alle anderen Methoden wurden nur von einigen wenigen ImkerInnen durchgeführt (Abbildung 3.30 A).

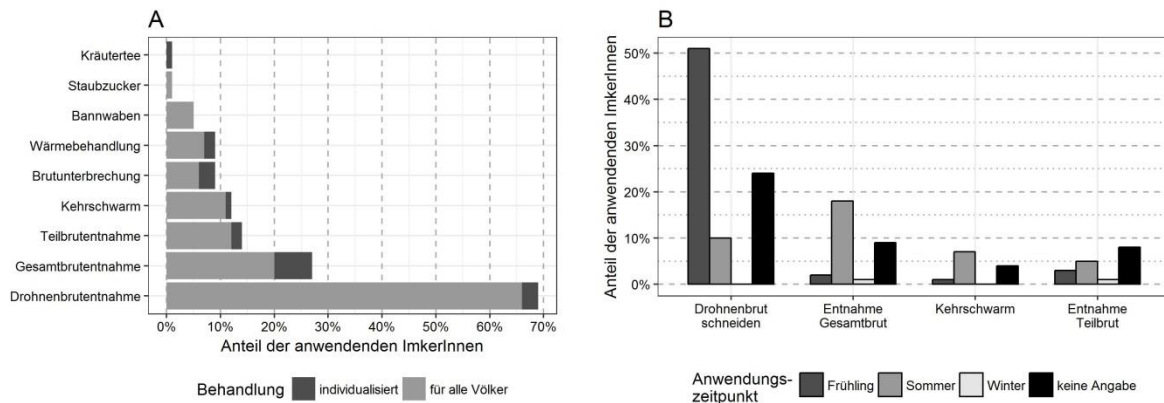


Abbildung 3.30: Häufigkeit der Anwendung von biotechnischen Maßnahmen. **A** Häufigkeit der Verwendung von biotechnischen Maßnahmen gegen die Varroamilbe im Zeitraum Juli 2014 bis April 2016 bei den 188 ImkerInnen der Beobachtungsstudie. Wenn die Maßnahme individualisiert erfolgte, dann wurde die Art und Häufigkeit der Maßnahme auf den Zustand des jeweiligen Bienenvolks abgestimmt. **B** Einsatz der vier häufigsten biotechnischen Maßnahmen, unterteilt in die Behandlungssaisonen des Imkerjahres; Frühling: März bis Juni; Sommer: Juli bis September; Winter: Oktober bis Februar.

3a.4.4.6 Abhängigkeit des Varroabefalls von der Art der Varroabekämpfung

3a.4.4.6.1 Behandlungskonzepte der teilnehmenden ImkerInnen

Die teilnehmenden ImkerInnen kombinierten die möglichen biotechnischen Maßnahmen und verwendeten Mittel in unterschiedlicher Art und Weise. Als Beispiel seien alle Behandlungskonzepte dargestellt, die in Verbindung mit einer Ameisensäurebehandlung im Sommer 2015 durchgeführt wurden (Abbildung 3.31). Insgesamt wurde Ameisensäure auf 138 Bienenständen der Beobachtungsstudie angewandt; auf 79% dieser Stände wurde Ameisensäure als alleiniges medizinisches Präparat verwendet. Auf den restlichen Ständen wurde Ameisensäure im Sommer 2015 gemeinsam mit Oxalsäure (13% der Stände), gemeinsam mit Thymol (7%) und in einem Fall gemeinsam mit Thymol und Oxalsäure angewandt. Die häufigste biotechnische Maßnahme auf den Ständen, die mit Ameisensäure behandelt hatten, war die Drohnenbrutentnahme (69%). Sie wurde in einem Drittel der Fälle auch mit anderen Brutentnahmen kombiniert (andere Brutentnahmen: Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung, Gesamtbrutentnahme, Kehrschwarm). Auf 25% der Bienenstände mit Ameisensäurebehandlung wurden keine biotechnischen Maßnahmen durchgeführt.

biotechn. Maßnahmen Frühling 2015	Drohnenbrut- + andere Brutentnahmen	26 +1W	4	2	0
	Drohnenbrutentnahme	48 +1W	5	7	1
	andere Brutentnahmen	7	2	0	0
	keine biotechn. Maßnahmen	26	6 +1W	1	0
		nur Ameisensäure	Ameisensäure + Oxalsäure	Ameisensäure + Thymol	Ameisensäure + Oxalsäure + Thymol
medikamentöse Maßnahmen Sommer 2015					

Abbildung 3.31: Behandlungskonzepte zwischen März 2015 und dem zweiten Standbesuch auf den Beobachtungsständen, auf denen im Sommer 2015 Ameisensäure bei der Hauptbehandlung angewandt wurde (N = 138 Stände). Die Zahlen geben die Anzahl der Stände der jeweiligen Kategorie an. „+1W“: an einem Stand wurde neben den angeführten Maßnahmen noch eine Wärmebehandlung durchgeführt. Die Kategorie „andere Brutentnahmen“ fasst folgende Maßnahmen zur Brutbeschränkung und Brutentnahme zusammen: Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung, Gesamtbrutentnahme und Kehrschwarm.

Die komplexe Datenlage macht es schwierig, Behandlungskonzepte zu vergleichen, da der Datensatz in sehr viele kleine Gruppen mit verschiedenen Behandlungskonzepten zersplittert ist. In der Folge beschränkt sich die Auswertung daher auf die häufig genannten Behandlungen.

3a.4.4.6.2 Biotechnische Methoden im Frühling 2015 und Varroabefall beim ersten Besuch

Es haben 74% der teilnehmenden ImkerInnen mindestens eine biotechnische Maßnahme zwischen März 2015 und dem ersten Bienenbestandsbesuch durchgeführt (140 von 188 ImkerInnen und Imkern). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Varroabefall zwischen Ständen, auf denen biotechnische Maßnahmen gesetzt wurden und Ständen, auf denen keine biotechnischen Maßnahmen durchgeführt wurden (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: Vergleich des Medians: $z = 0,42$; $P = 0,674$; Vergleich des Maximalwerts: $z = 1,07$; $P = 0,283$). Da große Unterschiede in Art und Häufigkeit der gesetzten Maßnahmen bestehen, werden nachfolgend die Effekte einzelner Maßnahmen im Detail betrachtet.

Insgesamt wurden im Frühling 2015 acht verschiedene biotechnische Maßnahmen durchgeführt (Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung, Drohnenbrutschneiden, Gesamtbrutentnahme, Kehrschwarm, Staubzucker, Teilbrutentnahme, Wärmebehandlung). Drohnenbrutschneiden war die mit Abstand am häufigsten durchgeführte Methode. Maßnahmen zur Brutentnahme und Brutbeschränkung (Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung, Gesamtbrutentnahme, Kehrschwarmverfahren) wurden auf 29 Ständen durchgeführt, davon auf 18 Ständen in Kombination

mit Drohnenbrutschneiden. Wärmebehandlung (5 Stände) und Staubzucker (2 Stände) wurden nur vereinzelt angewandt. Eine Teilbrutentnahme (20 Stände) wurde mit sehr unterschiedlicher Anzahl entnommener Brutwaben durchgeführt. Aufgrund der geringen Stichprobenanzahl bzw. der variablen Durchführung, konnten die Maßnahmen Wärmebehandlung, Staubzucker und Teilbrutentnahme nicht näher vergleichend untersucht werden.

Auf Ständen, auf denen im Frühling Drohnenbrut entnommen wurde, war der Varroabefall des Volkes mit der maximalen Varroabelastung signifikant geringer als auf Ständen, auf denen keine Drohnenbrut entnommen wurde (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = -2,22$; $P = 0,027$; Abbildung 3.32 B). Auf Ständen, auf denen Drohnenbrutschneiden angewandt wurde, lagen die maximal gemessenen Varroabefallswerte der Bienen im Median bei 1,2% (unteres Quartil: 0,5%; oberes Quartil: 2,7%). Auf Ständen auf denen kein Drohnenbrutschneiden durchgeführt wurde, lag der maximal gemessene Varroabefallswert im Juli im Median fast doppelt so hoch (Median: 2,2%; unteres Quartil: 0,7%; oberes Quartil: 6,3%). Das bedeutet, dass Einzelvölker, die bereits im Frühjahr stärker mit Varroamilben belastet waren, von der Durchführung des Drohnenbrutschneidens profitierten. Bezogen auf den medianen Milbenbefall des gesamten Standes waren die Auswirkungen des Drohnenbrutschneidens zwischen den Ständen mit und ohne Durchführung des Drohnenbrutschneidens ebenfalls noch erkennbar, aber nicht signifikant ($z = -1,57$; $P = 0,117$; Abbildung 3.32 A).

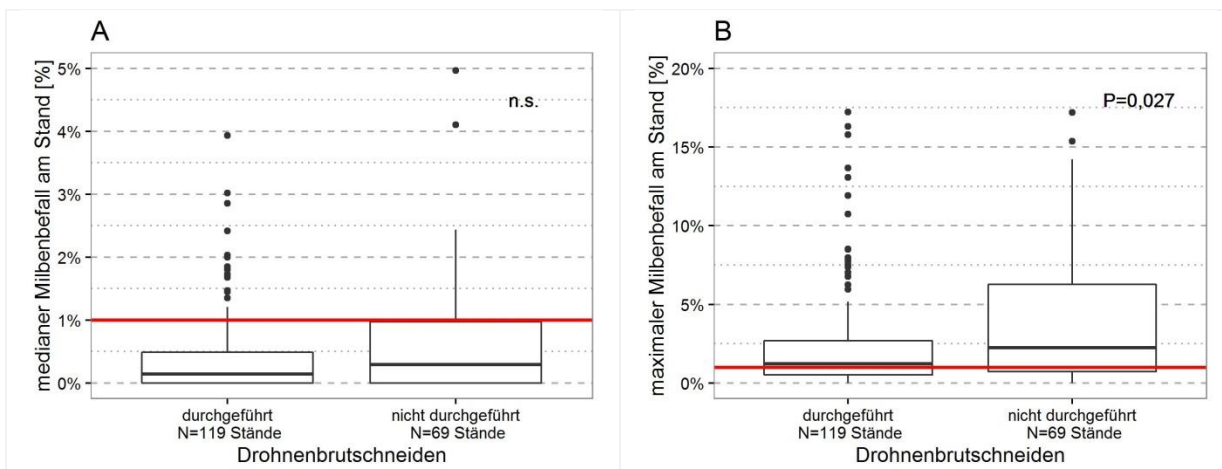


Abbildung 3.32: Höhe des Varroabefalls auf Bienen beim ersten Standbesuch im Juli 2015 abhängig von der Durchführung des Drohnenbrutschneidens im Frühling 2015 (N= 1878 Stände). **A** medianer Milbenbefall am Stand; aufgrund des gewählten Skalenausschnitts sind drei Werte in der Kategorie „nicht durchgeführt“ zwischen 5% und 20% nicht angezeigt. **B** maximal gemessener Milbenbefall am Stand; aufgrund des gewählten Skalenausschnitts sind drei Werte in der Kategorie „nicht durchgeführt“ zwischen 30% und 45% nicht angezeigt. rote Linie: markiert die 1% Schwelle zum kritischen Varroabefall; Statistik: Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Die ImkerInnen hatten mit dem Drohnenbrutschneiden zwischen März und Juni 2015 begonnen (47 Stände mit detaillierter Zeitangabe), wobei rund 90% der ImkerInnen in den Monaten April (17 Stände) und Mai (25 Stände) begonnen hatten. Es gab keinen Zusammenhang zwischen Beginn des Drohnenbrutschneidens und der Höhe des medianen Milbenbefalls im Juli (Spearman-Rang-

Korrelation: $r_s = 0,17$; $P = 0,249$; Abbildung 3.33 A). Ebenso war kein Zusammenhang mit der Höhe des maximalen Milbenbefalls im Juli erkennbar (Spearman-Rang-Korrelation: $r_s = -0,03$; $P = 0,803$). Der Großteil der Stände, von denen genaue Zeitinformationen vorlagen, hatten einen sehr geringen medianen Milbenbefall auf Bienen zwischen 0,0% und 0,5% – nur bei 8 von 47 Ständen (17%) lag der mediane Milbenbefall über 0,5%.

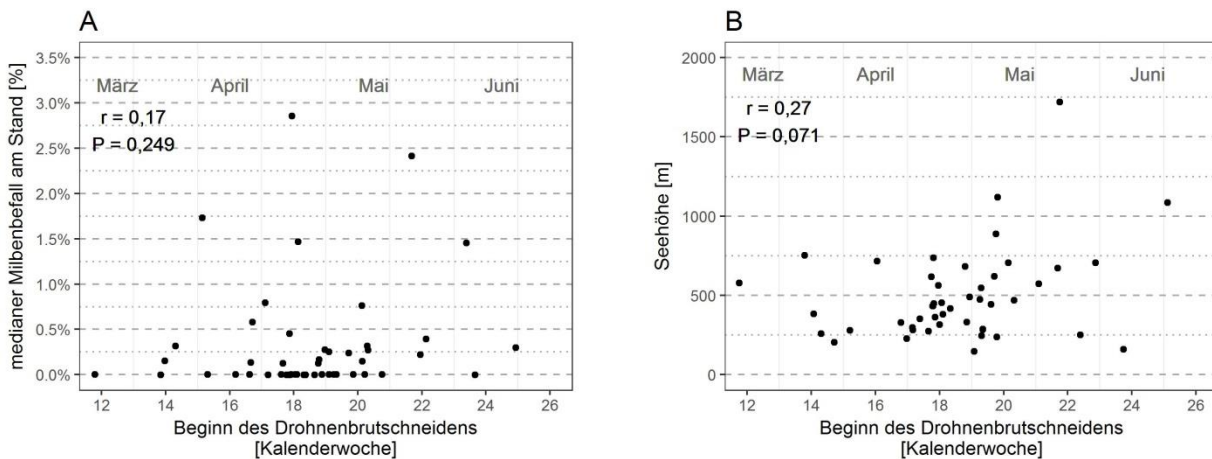


Abbildung 3.33: **A** Zusammenhang zwischen Beginn des Drohnenbrutschneidens und dem medianen Milbenbefall am Stand im Juli 2015 ($n = 47$ Stände). **B** Zusammenhang zwischen dem Beginn des Drohnenbrutschneidens und der Seehöhe des Standes ($n = 47$ Stände). Statistik: Spearman-Rang-Korrelation. Monate in Grau: geben in etwa die Mitte des den Kalenderwochen zugeordneten Monats an.

Es ist verwunderlich, dass kein Zusammenhang zwischen dem Beginn des Drohnenbrutschneidens und dessen Wirksamkeit bestand. Eine mögliche Hypothese bezieht die unterschiedlichen klimatischen Verhältnisse auf den Bienenständen mit ein. So ist zu erwarten, dass ImkerInnen in Gegenden mit früher Vegetationsentwicklung auch früh mit dem Drohnenbrutschneiden beginnen, da der Brutbeginn der Völker aufgrund der milden Temperaturen entsprechend bald im Jahr startet. Daher wäre die große Streuung der Beginnzeit durch die korrekte Durchführung des Drohnenbrutschneidens – angepasst an die Standortbedingungen des Bienenstands – bedingt und würde keinen Einfluss auf den Varroabefall der Bienen im Juni haben.

Sollte diese Hypothese zutreffen, wäre der Beginn des Drohnenbrutschneidens mit den klimatischen Verhältnissen des Standes korreliert, somit auch mit der Seehöhe, da diese ja die Vegetationsentwicklung beeinflusst. Wie Abbildung 3.33 B zeigt, wurde auf Ständen mit geringer Seehöhe früher mit dem Drohnenbrutschneiden begonnen als auf höher gelegenen Ständen (Spearman-Rang-Korrelation: $r_s = 0,28$; $P = 0,071$). Die Korrelation ist nicht sehr ausgeprägt, was an zusätzlichen Faktoren, wie nicht in die Berechnungen einbezogene Wanderstandorte, andere kleinklimatische Gegebenheiten oder auch den Einfluss der Winterbehandlung auf die Höhe der Varroapopulation, liegen kann.

Zwischen der Häufigkeit der Durchführung des Drohnenbrutschneidens und dem medianen bzw. maximalen Varroabefall am Stand beim ersten Standbesuch gab es keinen signifikanten Zusammenhang ($N = 76$ Stände; Spearman-Rang-Korrelation: medianer Varroabefall: $r_s = -0,09$; $P = 0,427$; maximaler Varroabefall: $r_s = 0,06$; $P = 0,586$).

Biotechnische Maßnahmen zur Brutentnahme wurden von 15% aller teilnehmenden ImkerInnen zwischen März 2015 und dem ersten Standbesuch im Juli 2015 durchgeführt (29 von 188 Ständen). Die Höhe des Varroabefalls im Juli 2015 unterschied sich nicht zwischen den Ständen mit bzw. ohne „andere Brutentnahme-Maßnahmen“ (Abbildung 3.34); unabhängig davon, ob der mediane Varroabefall am Stand verglichen wurde ($z = 0,48$; $P = 0,630$) oder der maximal am Stand gemessene Varroawert ($z = 0,69$; $P = 0,494$).

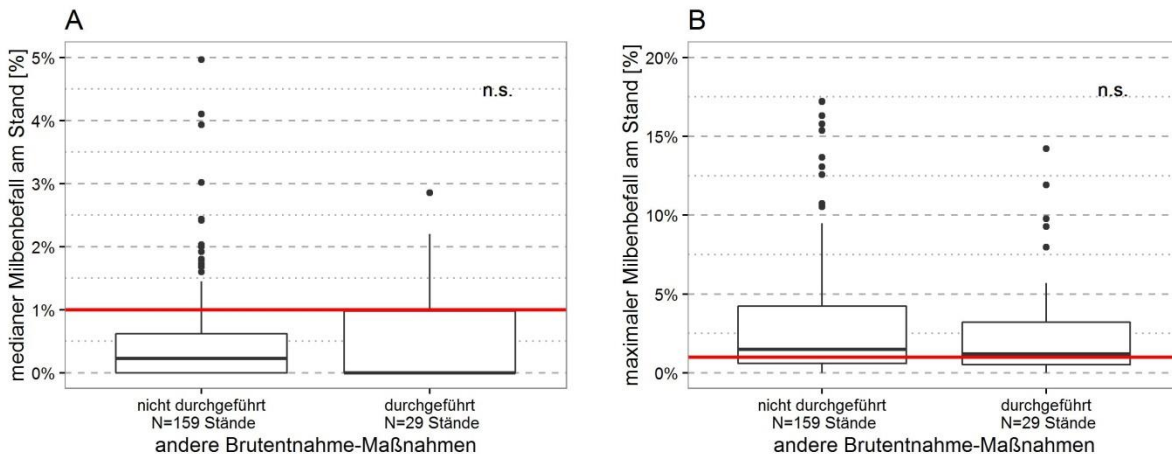


Abbildung 3.34: Höhe des Varroabefalls auf Bienen beim ersten Standbesuch im Juli 2015 in Abhängigkeit der Durchführung von „anderen Brutentnahme-Maßnahmen“ (N= 188 Stände). Diese Gruppe fasst die Maßnahmen Bannwabenverfahren, Brutunterbrechung, Gesamtbrutentnahme und Kehrschwarm zusammen. **A** medianer Milbenbefall am Stand; aufgrund des gewählten Skalenausschnitts sind drei Werte in der Kategorie „nicht durchgeführt“ zwischen 5% und 20% nicht angezeigt. **B** maximal gemessener Milbenbefall am Stand; aufgrund des gewählten Skalenausschnitts sind drei Werte in der Kategorie „nicht durchgeführt“ zwischen 30% und 45% nicht angezeigt. rote Linie: markiert die 1% Schwelle zum kritischen Varroabefall; Statistik: Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

3a.4.4.6.3 Art der Sommerbehandlung und Varroabefall beim zweiten Standbesuch

Die Imkereibetriebe wurden nach der Art der medikamentösen Behandlung aufgeteilt, die sie als erstes durchgeführt hatten, da der Erfolg der ersten Anwendung einen wichtigen Beitrag zur Verringerung der Varroabelastung darstellt (Hauptbehandlung). Bei 167 Ständen lagen detaillierte Terminaufzeichnungen vor, die eine zeitliche Reihung der Anwendungen ermöglichte. Auf 115 Ständen wurde Ameisensäure für die erste Behandlung eingesetzt, auf 24 Ständen Oxalsäure und auf 14 Ständen ein Thymolpräparat. Auf den weiteren 14 Ständen wurden entweder andere Präparate (3x Milchsäure, 1x Coumaphos, 2x Bayvarol) eingesetzt oder es wurden zwei Präparate gleichzeitig verwendet. Diese 14 Stände wurden aufgrund der geringen Stichprobenzahl in den einzelnen Kategorien nicht für die folgenden Analysen verwendet.

Die Art des Wirkstoffes, mit dem die Hauptbehandlung durchgeführt wurde, hatte keinen Einfluss auf den Varroabefallsgrad des Standes im Herbst ($\chi^2 = 1,17$; $df = 2$; $P = 0,558$; Abbildung 3.35 A). Stände, auf denen als erstes mit Ameisensäure behandelt wurde, hatten im Median einen Varroabefall von 0,5% (unteres Quartil: 0,1%; oberes Quartil: 1,5%). Stände, bei denen als erstes

mit Oxalsäure behandelt wurde, hatten im Median einen Varroabefall von 1,0% (unteres Quartil: 0,3%; oberes Quartil: 1,5%) und Stände mit Thymolbehandlung einen medianen Varroabefall von 0,6% (unteres Quartil: 0,2%; oberes Quartil: 3,2%).

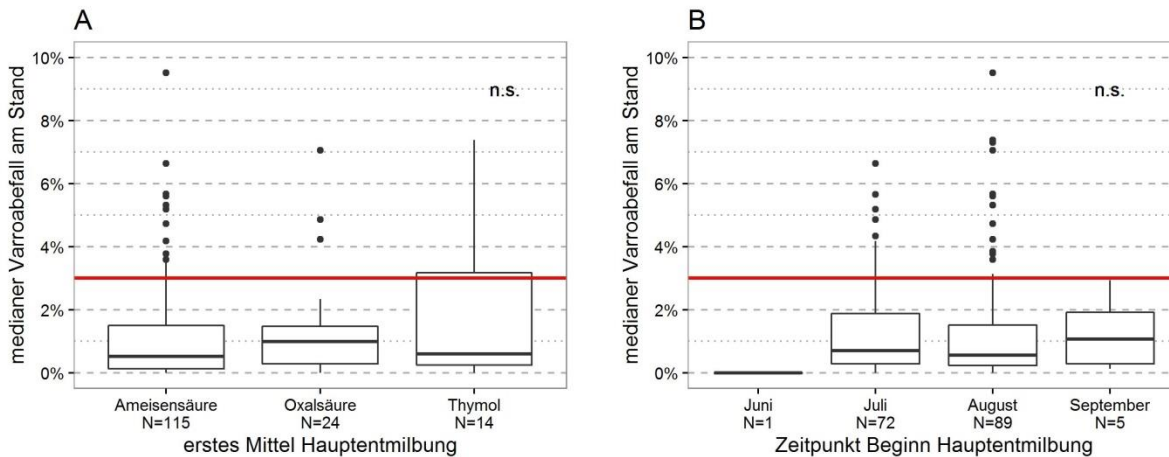


Abbildung 3.35: Varroabefall der Bienen beim zweiten Standbesuch im September 2015, abhängig von (A) dem ersten Mittel, das in der Hauptbehandlung verwendet wurde (N = 153 Stände) und (B) dem Zeitpunkt des Behandlungsbeginns (N = 167 Stände). Aufgrund des gewählten Skalenausschnitts sind einige Ausreißer nicht dargestellt (A vier Werte zwischen 10% und 21%; B sieben Werte zwischen 10% und 40%). rote Linie: markiert die 3% Schwelle zum kritischen Varroabefall beim zweiten Besuch; Statistik: Kruskal-Wallis-Test. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Die gleichwertige Wirkung von Ameisensäure und Oxalsäure auf die Höhe des Varroamilbenbefalles im Sommer verwundert im ersten Augenblick. Oxalsäure wirkt nicht auf Varroamilben in der Brut und sollte daher laut Gebrauchsinformation nur in brutfreien Völkern angewandt werden. Doch auf 20 der 24 Stände, die Oxalsäure als Hauptbehandlung angewandt haben, wurden zusätzliche biotechnische Methoden und Präparate zur Anwendung gebracht. So wurde die Oxalsäure auf 11 der 24 Stände (46% der Stände) in Kombinationen mit Methoden zum Brutunterbrechung eingesetzt. Auf weiteren vier Ständen wurden nach der Oxalsäure noch zusätzlich Ameisensäure oder Thymol in die Völker eingebracht. Auf vier Ständen wurde zusätzlich Drohnenbrutschneiden angewandt. Aufgrund des komplexen Verwendungsmusters kann keine Aussage über den alleinigen Effekt von Oxalsäure allein auf die Höhe des Milbenbefalls getroffen werden.

Es zeigte sich kein Effekt des Behandlungsbeginns (Juli, August, September) der Hauptbehandlung auf die Höhe des Varroabefalls auf Bienen im Herbst ($\chi^2 = 2,90$; $df = 3$; $P = 0,407$; Abbildung 3.35 B). Auf 96% der Stände wurde entweder im Juli (72 von 167 Ständen) oder im August (72 von 167 Ständen) mit der Hauptbehandlung begonnen. Auch zwischen diesen zwei Gruppen war kein signifikanter Unterschied festzustellen (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 0,37$; $P = 0,713$).

3a.4.4.6.3.1 Ameisensäure

In den Sommermonaten 2015 (zwischen erstem und zweitem Besuch) verwendeten drei Viertel der teilnehmenden ImkerInnen Ameisensäure zur Behandlung gegen die Varroamilbe (140 von

188 ImkerInnen). Dabei wurde von 69 ImkerInnen eine Applikationsmethode zur Langzeitbehandlung und von 62 eine Applikationsmethode zur Kurzzeitbehandlung verwendet. 8 ImkerInnen verwendeten eine Kombination aus Langzeit- und Kurzzeitbehandlung (Kategorien siehe Abbildung 3.29). Für einen weiteren Bienenstand war die verwendete Applikationsmethode nicht angegeben worden. Für die Analysen zur Wirksamkeit der angewandten Applikationsmethoden wurden diese neun Bienenstände ausgeschlossen, da sie nicht klar einer Methode zugeordnet werden konnten. Genauso wurden alle Bienenstände, auf denen Biotabs eingesetzt worden waren, ausgeschlossen, da bei diesem Präparat die in das Volk eingebrachte Menge an Ameisensäure nicht bekannt ist und daher keine Korrelation zwischen Menge der eingebrachten Ameisensäure und Wirksamkeit möglich war. Mögliche Kombinationen mit anderen Behandlungsmethoden wurden in den folgenden Analysen nicht berücksichtigt.

Bienenvölker auf Bienenständen, bei denen im Sommer 2015 die Methode der Langzeitbehandlung durchgeführt wurde, hatten einen signifikant geringeren Varroamilbenbefall im Herbst 2015 als Bienenstände, auf denen Kurzzeitbehandlungen durchgeführt wurden (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 2,92$; $P=0,004$; Abbildung 3.36 A). Bienenstände mit Langzeitbehandlung wiesen einen medianen Varroabefall auf Bienen von 0,3% (unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 1,4%) auf, Bienenstände mit Kurzzeitbehandlung einen medianen Varroabefall auf Bienen von 0,8% (unteres Quartil: 0,3%; oberes Quartil: 2,1%).

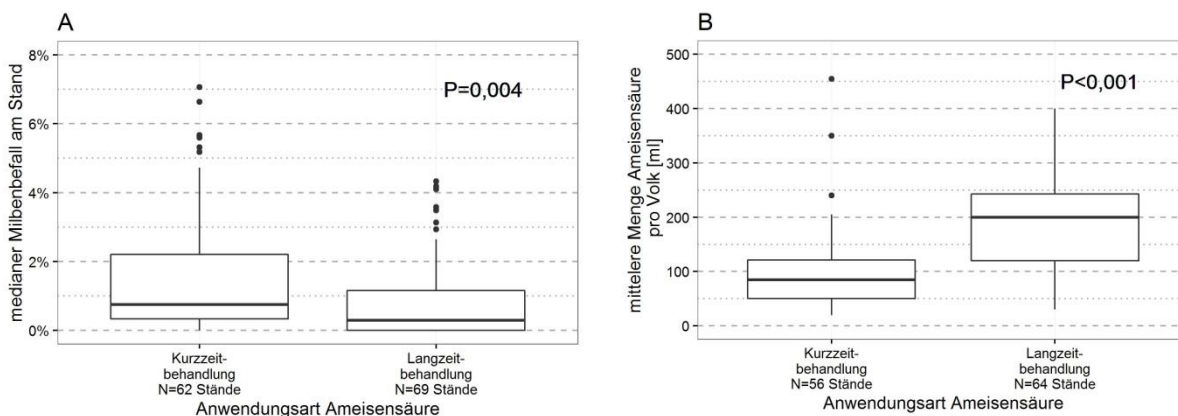


Abbildung 3.36: **A** Vergleich des medianen Bienenbefalls mit Varroamilben auf den Ständen im Herbst 2015, abhängig von der Art der Ameisensäure-Applikation im Sommer 2015. Fünf Ausreißer im Bereich zwischen 9% und 25% sind aufgrund der gewählten Skala nicht abgebildet. **B** Vergleich der mittleren Menge an Ameisensäure, die im Sommer 2015 in das Bienenvolk eingebracht wurde (Mittelwert des jeweiligen Bienenstandes), für die zwei Arten der Ameisensäure-Applikation. Vier Ausreißer im Bereich zwischen 700 ml und 1600 ml sind aufgrund der gewählten Skala nicht abgebildet. Statistik: Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Gleichzeitig wurde während der Kurzzeitbehandlung im Mittel nur halb so viel Ameisensäure in die einzelnen Völker eingebracht als bei der Durchführung der Langzeitbehandlung (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = -5,98$; $P < 0,001$; Abbildung 3.36 B). Daraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass ein Stand im Herbst 2015 umso weniger mit Varroamilben befallen war, je mehr Ameisensäure pro Volk eingebracht wurde. Diese Hypothese traf für die Stände mit Langzeitbehandlung zu: hier hatten Stände, bei denen im Mittel unter 100 mL Ameisensäure pro Volk eingebracht

worden waren, einen signifikant höheren medianen Varroabefall als Stände, bei denen über 100 mL Ameisensäure pro Volk eingebracht worden waren (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 2,10$; $P=0,035$; Abbildung 3.37 A).

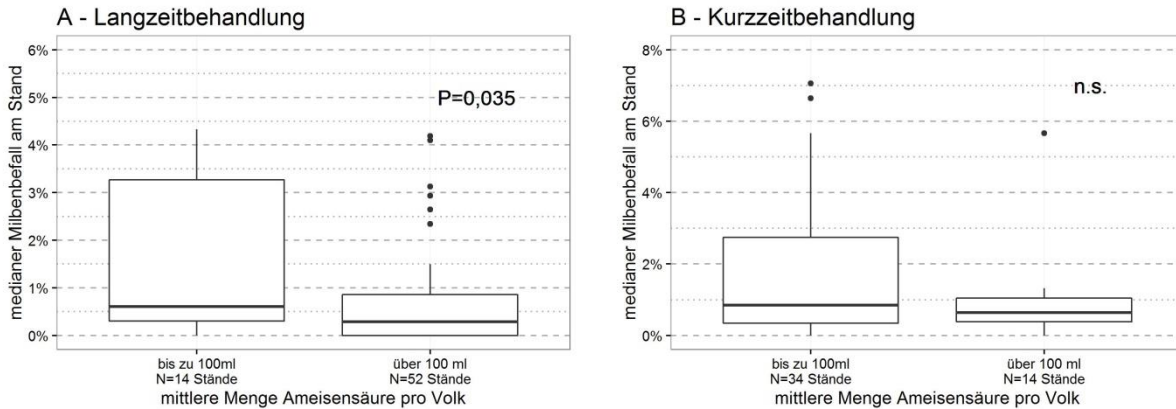


Abbildung 3.37: Zusammenhang zwischen Menge an während des Sommers 2015 in die Bienen­völker eingebrachter Ameisensäure und medianem Varroabefall der Bienen am Stand im Herbst 2015 auf (A) Ständen mit Langzeitbehandlung und (B) Ständen mit Kurzzeitbehandlung. B vier Ausreißer im Bereich zwischen 5% und 25% sind aufgrund der gewählten Skala nicht abgebildet. Statistik: Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

Auf Ständen, bei denen eine Kurzzeitbehandlung durchgeführt worden war, sank die Varroabelastung im Herbst umso stärker, je mehr Ameisensäure pro Woche in das Volk eingebracht wurde (Kruskal-Wallis-Test: $H = 8,02$; $df = 2$; $P = 0,018$; Abbildung 3.38 A). Die totale Menge an in das Volk eingebrachter Ameisensäure hatte in diesem Fall keinen signifikanten Einfluss auf die Varroabelastung im Herbst (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 0,64$; $P = 0,522$; Abbildung 3.37 B). Ebenso hatte die Häufigkeit der Durchführung der Kurzzeitbehandlung keinen Einfluss auf die mediane Varroabelastung im Herbst (Kruskal-Wallis-Test: $H = 0,42$; $df = 3$; $P = 0,937$; Abbildung 3.38 B).

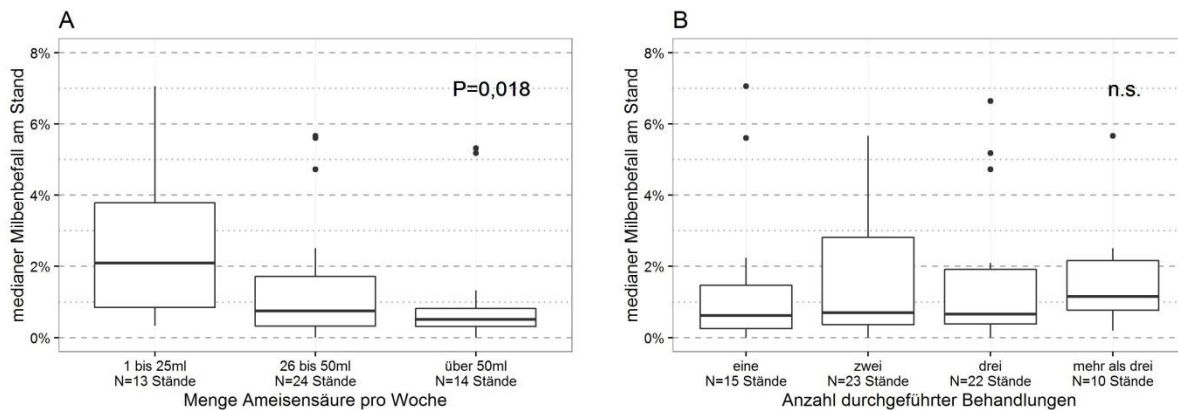


Abbildung 3.38: Zusammenhang zwischen Durchführung der Ameisensäurebehandlung mittels Kurzzeitapplikation im Sommer 2015 und medianem Varroabefall der Bienen am Beobachtungsstand im Herbst 2015. **A** Effekt der pro Woche ins Volk eingebrachten Ameisensäuremenge (85% Ameisensäure). **B** Effekt der Anzahl der durchgeführten Behandlungen. Bei beiden Abbildungen: zwei Ausreißer im Bereich zwischen 10% und 25% sind aufgrund der gewählten Skala nicht abgebildet. Statistik: Kruskal-Wallis Test; n.s. = nicht signifikant. Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand.

In Bezug auf beim zweiten Standbesuch beobachtete und protokollierte Königinnenprobleme nach vorangegangener Anwendung von Ameisensäure, bestanden zwischen Ständen mit Langzeitbehandlung (betroffen waren 11 von 69 Ständen = 15,9%) und Ständen mit Kurzzeitbehandlung (betroffen waren 9 von 62 Ständen = 14,5%) keine signifikanten Unterschiede ($\chi^2 = 1,14$; $df = 1$; $P = 1,000$). Im Vergleich dazu wurden im gleichen Zeitraum nach Anwendung von Thymolpräparaten nur für zwei von 25 Ständen (= 8%) Königinnenprobleme berichtet.

3a.4.5 Völkerverluste auf den Beobachtungsständen

3a.4.5.1 Völkerverluste im Sommer 2015

Die Sommergeverluste 2015 betragen zwischen erstem und zweitem Bienenstandbesuch 2,5% (95% Konfidenzintervall: 1,4-4,0%). Von 2029 Fokusvölkern mit vollständigem Datensatz starben 50 Völker im Sommer 2015. Von den 50 Völkern wurden 13 Völker vom Imker / von der Imkerin aufgelöst. In die Berechnung der Sommergeverluste fließen die Daten von 189 Ständen ein, die beim ersten und beim zweiten Bienenstandbesuch besucht wurden.

3a.4.5.2 Völkerverluste im Winter 2015/2016

Auf den 188 Bienenständen der Beobachtungsstudie, von denen Überwinterungsergebnisse vorliegen, starben 7,5% der eingewinterten Völker (95% Konfidenzintervall: 5,8-9,7%; Tabelle 3.22). Im Herbst 2015 waren 2810 Völker eingewintert worden. Davon wurden 2599 Völker lebend im Frühling 2016 ausgewintert, 211 Völker waren über den Winter abgestorben. Von den abgestorbenen Völkern sind elf Völker vom Imker / von der Imkerin aufgelöst worden. Die Gründe dafür waren hoher Varroabefall (3 Völker) oder Weisellosigkeit (4 Völker). Bei vier Völkern ist der Grund der Auflösung nicht bekannt.

Ein Großteil der teilnehmenden ImkerInnen hatte wenige bis keine Winterverluste erlitten (Abbildung 3.39). Für knapp 60% der Beobachtungsstände waren keine Winterverluste gemeldet worden, für 15% in einer Höhe bis zu 10% und für 10% der Stände in einer Höhe bis zu 20%. Der Anteil der Stände mit Winterverlusten in den Befallsklassen von mehr als 20% lag unter 10% und sank bis zur Befallsklasse 90% gegen Null. Auf Betriebsebene waren für rund 40% der Betriebe keine Winterverluste gemeldet worden, für zirka 25% in einer Höhe bis zu 10% und für etwa 10% der Stände in einer Höhe bis zu 20%.

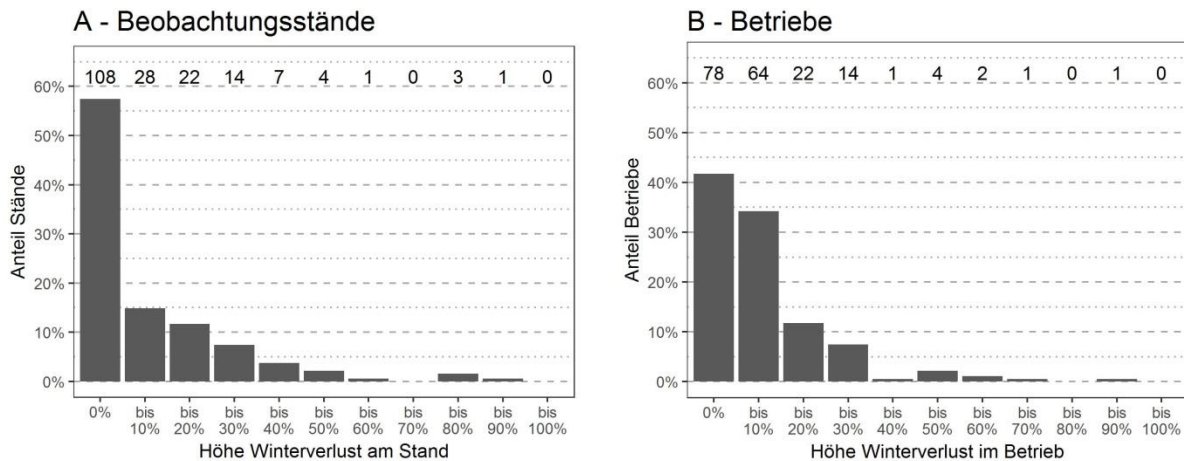


Abbildung 3.39: Höhe der Winterverluste der an der Beobachtungsstudie teilnehmenden Bienenstände (n = 188 Stände) und Betriebe (n = 187 Betriebe). Die Zahlen in den Abbildungen zeigen die Anzahl der Stände bzw. Betriebe in der jeweiligen Kategorie.

Da uns Daten über die Winterverluste des teilnehmenden Imkereibetriebs, des untersuchten Bienenstandes, der inspizierten Fokusvölker und der Probenvölker, aus denen standardmäßig Pflichtproben entnommen worden waren, vorlagen, war eine getrennte Auswertung für diese Gruppen möglich. Je nach betrachteter Datensatzgruppe (Probenvölker, Fokusvölker, Bienenstand, Imkereibetrieb) bewegten sich die Winterverluste auf Ebene der toten Völker in einem Bereich zwischen 5,3% und 7,8%. Die 95% Konfidenzintervalle der vier Gruppen überlappten sich, daher bestand kein signifikanter Unterschied in der Wintersterblichkeit zwischen den Gruppen (Tabelle 3.22).

Tabelle 3.22: Winterverluste der an der Beobachtungsstudie teilnehmenden ImkerInnen. Dabei wurde zwischen Verlusten auf verschiedenen Ebenen des Imkereibetriebs unterschieden. Es werden zwei verschiedene Berechnungen der Winterverluste angegeben: (1) es gelten alle toten Völker als Winterverluste oder (2) es werden zusätzlich die lebenden, aber weiselosen Völker hinzugerechnet.

Art der Berechnung	Gruppe	Anzahl Völker pro Gruppe	Winterverluste [%]	95% Konfidenzintervall [%]
tote Völker	Imkereibetrieb	12.540	5,3%	4,1-6,7%
	Bienenstand	2810	7,5%	5,8-9,7%
	Fokusvölker	1980	7,6%	5,7-10,0%
	Probenvölker	1569	7,8%	6,3-11,1%
tote + weiselose Völker	Imkereibetrieb	12.540	8,6%	7,5-9,9%
	Bienenstand	2.810	10,1%	8,3-12,4%

Um die Ergebnisse der Beobachtungsstudie mit der Erhebung der österreichischen Winterverluste im Rahmen des COLOSS-Studie (siehe Modul 1) vergleichen zu können, wurde noch eine zweite Berechnungsart der Winterverluste durchgeführt. In dieser wurden – neben toten Völkern – auch jene mit Königinnenproblemen (Weisellosigkeit, Drohnenbrütigkeit) in die Winterverluste mit eingerechnet. Dadurch erhöhte sich die Zahl der Winterverluste auf den teilnehmenden Bienenständen um 74 lebende – aber mit Königinnenproblemen ausgewinterte – Völker auf insgesamt 285 Völker. Bei dieser Art der Berechnung betragen die Winterverluste auf den Beobachtungsständen auf Ebene der Bienenstände 10,1% (95% Konfidenzintervall: 8,3-12,4%, Tabelle 3.22) und auf Ebene des Imkereibetriebes 8,6% (95% Konfidenzintervall: 7,5-9,9%).

Die ImkerInnen wurden gefragt, auf welche Ursachen sie das Absterben ihrer Völker zurückführen. Dabei wurden als Hauptprobleme die Varroamilbe (45% der Nennungen) und Königinnenverlust (25%) angeführt (Abbildung 3.40). Tod durch Hunger, Räuberei oder fehlerhafte imkerliche Behandlung wurden als seltene Ursachen für das Absterben der Studienvölker angeführt. Bei 23% Nennungen konnte kein Grund angeführt werden.

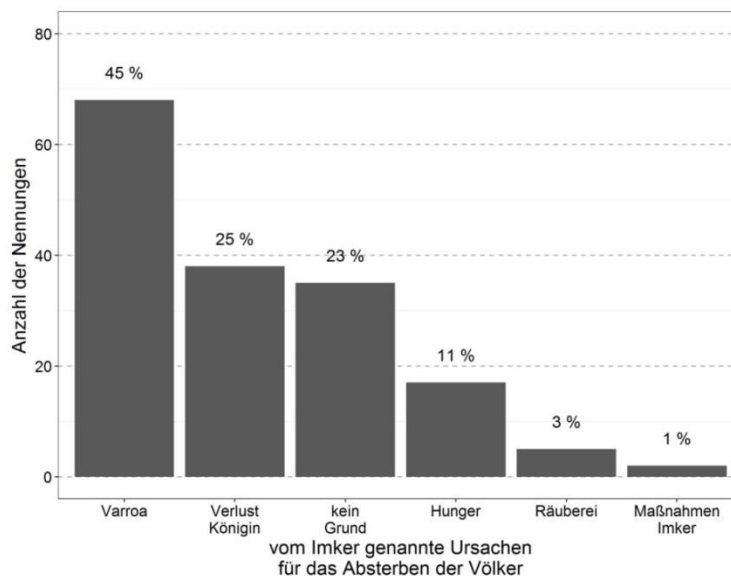


Abbildung 3.40: Häufigkeit der von den ImkerInnen genannten Ursachen für das Absterben der Fokusvölker in der Beobachtungsstudie (N = 150 Völker). Es wurden vereinzelt mehrere Ursachen genannt, daher sind insgesamt 165 Nennungen angeführt. Die im Erhebungsbogen enthaltenen Kategorien „Vergiftung“ und „Naturgewalt“ wurden nie genannt und sind nicht angeführt.

3a.4.5.3 Winterverluste und Standort des Bienenstandes

Zwischen den neun Bundesländern unterschieden sich die Winterverluste der Beobachtungsstände nicht signifikant ($\chi^2 = 4,417$; $df = 8$; $P = 0,818$; Tabelle 3.23). Sie bewegten sich zwischen 4,2% (Konfidenzintervall: 0,8-11,5%) in Salzburg und 10,4% (Konfidenzintervall: 6,4-15,6%) in Oberösterreich.

Tabelle 3.23: Winterverluste nach Bundesländern für die 188 Beobachtungsstände (Berechnungsart: tote Völker).

Bundesland	Anzahl Stände	Völker insgesamt [Anzahl]	tote Völker [Anzahl]	tote Völker [Prozent]	Konfidenzintervall
Bgl.	11	183	16	8,7%	2,9-18,9%
Ktn	19	353	20	5,7%	2,1-11,6%
NÖ.	31	488	33	6,8%	3,2-12,0%
OÖ.	52	653	68	10,4%	6,4-15,6%
Sbg	13	216	9	4,2%	0,8-11,5%
Stm.	26	417	36	8,6%	4,3-14,9%
Tirol	19	343	20	5,8%	2,2-12,0%
Vbg	10	96	5	5,2%	0,5-18,5%
Wien	7	61	4	6,6%	0,4-25,4%
insg.	188	2810	211	7,5%	5,8-9,7%

Die Winterverluste in den acht landwirtschaftlichen Hauptproduktionsgebieten in Österreich unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($\text{Chi}^2 = 7,36$; $\text{df} = 7$; $P = 0,393$; Tabelle 3.24). In den meisten Gebieten lagen sie zwischen 5% und 10% (Tabelle 3.24). Nur das Kärntner Becken mit 1,7% toten Völkern (Konfidenzintervall: 0,1-8,1%) und das Wald- und Mühlviertel mit 11,6% toten Völkern (Konfidenzintervall: 5,4-20,7%) wichen etwas vom allgemeinen Trend ab. Die großen Konfidenzintervalle zeigen jedoch, dass die Unterschiede statistisch nicht signifikant waren.

Tabelle 3.24: Winterverluste (tote Völker) der 188 Beobachtungsstände in den acht landwirtschaftlichen Hauptproduktionsgebieten Österreichs.

Hauptproduktionsgebiete	Anzahl Stände	Völker insgesamt [Anzahl]	tote Völker [Anzahl]	tote Völker [Prozent]	Konfidenzintervall
Alpenostrand	18	253	22	8,7%	3,6-16,8%
Alpenvorland	45	639	52	8,1%	4,7-12,8%
Hochalpen	37	637	32	5,0%	2,4-8,9%
Kärntner Becken	8	175	3	1,7%	0,1-8,1%
NO Flach- und Hügelland	24	367	31	8,4%	4,1-14,9%
SO Flach- und Hügelland	20	337	32	9,5%	4,6-16,5%
Voralpen	14	161	11	6,8%	1,8-16,7%
Wald- und Mühlviertel	22	241	28	11,6%	5,4-20,7%

Wurden die Beobachtungsstände nach Landnutzungsclustern aufgeteilt, ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Winterverluste, wenn man den gesamten Datensatz verglich ($\text{Chi}^2 = 5,58$; $\text{df} = 4$; $P = 0,233$; Tabelle 3.25). Es fällt jedoch auf, dass der Cluster C3 mit der intensivsten ackerbaulichen Nutzung mit 13,3% die höchsten Winterverluste aufwies. Es wurde

daher eine zweite Analyse durchgeführt, in der die Winterverluste des Clusters C3 mit denen der vier anderen Cluster verglichen wurden. Dabei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen C3 und C1 (6,1% Winterverluste; $P=0,035$). Zwischen C3 und den Clustern C2 (9,2% Winterverluste; $P=0,437$), C4 (5,9% Winterverluste; $P=0,082$) und C5 (5,0% Winterverluste; $P=0,103$) bestanden statistisch keine Unterschiede in den Winterverlusten; tendenziell waren diese in C4 und C5 niedriger als in C3.

Tabelle 3.25: Winterverluste (tote Völker) der 188 teilnehmenden Beobachtungsstände in den Landnutzungsclustern der Beobachtungsstudie.

Cluster	Anzahl Stände	Völker insgesamt [Anzahl]	tote Völker [Anzahl]	tote Völker [Prozent]	Konfidenzintervall
C1 - Nadelwald	107	1583	106	6,7%	4,6-9,3%
C2 - Getreide/Mais, Laubwald	15	229	21	9,2%	3,6-18,1%
C3 - Getreide/Mais, Ölfrüchte	22	369	49	13,3%	7,5-20,9%
C4 - Grünland, Nadelwald	26	391	23	5,9%	2,4-11,5%
C5 - Bebaute Flächen	18	238	12	5,0%	1,3-12,3%

3a.4.5.4 Winterverluste und Struktur des Imkereibetriebes

3a.4.5.4.1 Betriebsgröße

Bezogen auf die Beobachtungsstände, hatte die Betriebsgröße keinen signifikanten Effekt auf die Höhe der Winterverluste ($\chi^2 = 4,65$; $df = 2$; $P = 0,098$; Tabelle 3.26). Bezogen auf den Gesamtbetrieb (= alle Stände der teilnehmenden Betriebe) war ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Betriebsgrößen messbar ($\chi^2 = 6,22$; $df = 2$; $P = 0,045$; Tabelle 3.26). Betriebe mit über 100 Völkern hatten etwa halb so hohe Verluste wie Betriebe mit weniger als 50 Völkern (Posthoc Tukey-Test: $P = 0,033$).

Tabelle 3.26: Winterverluste der teilnehmenden Imkereibetriebe nach Größe des Betriebes, Einteilung der Betriebsgrößenkategorien nach der Kategorisierung von EPILOBEE, soweit sie anwendbar war.

Betriebsgröße	Anzahl Stände	Verlust auf dem Beobachtungsstand			Verlust im gesamten Betrieb		
		Anzahl Völker insgesamt	Anteil tote Völker	Konfidenzintervall	Anzahl Völker insgesamt	Anteil tote Völker	Konfidenzintervall
bis zu 50 Völker	134	1628	8,0%	5,8-10,8%	2987	7,9%	5,2-11,4%
51 bis 100 Völker	25	463	10,4%	5,9-16,4%	1820	6,0%	3,2-10,2%
über 100 Völker	29	719	4,5%	2,1-7,9%	7733	4,0%	2,8-5,6%

3a.4.5.4.2 Standgröße

Die Standgröße hatte einen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Winterverluste ($\chi^2 = 8,74$; $df = 2$; $P = 0,013$; Tabelle 3.27). Stände mit über 20 Völkern hatten einen halb so großen Anteil an toten Völkern wie Stände mit unter 11 Völkern (Posthoc Tukey-Test: $P = 0,017$).

Tabelle 3.27: Winterverluste der teilnehmenden Beobachtungsstände nach der Größe des jeweiligen Standes, Einteilung der Standgrößenkategorien nach der Kategorisierung von EPILOBEE, soweit sie anwendbar war.

Standgröße	Anzahl Stände	Verlust auf dem Beobachtungsstand		
		Anzahl Völker	Anteil tote Völker	Konfidenzintervall
2 bis 10 Völker	69	462	9,1%	5,0-14,7%
11 bis 20 Völker	80	1217	9,9%	7,1-13,2%
über 20 Völker	39	1131	4,3%	2,5-6,9%

3a.4.5.4.3 Bewirtschaftungsart (Bio/Konventionell)

Von den insgesamt 188 ImkerInnen hatten 156 angegeben, einen konventionellen Imkereibetrieb zu führen. Die anderen 32 ImkerInnen erfüllten mit ihrem Betrieb die Standards eines österreichischen Bio-Labels. Es wurde weder auf Stand- noch auf Betriebsebene ein Unterschied im Überwinterungserfolg zwischen konventioneller und biologischer Betriebsweise gefunden (Stand: $\chi^2 = 0,50$; $df = 1$; $P = 0,480$ Betrieb: $\chi^2 = 2,97$; $df = 1$; $P = 0,085$; Tabelle 3.28).

Tabelle 3.28: Winterverluste der teilnehmenden Imkereibetriebe nach der Bewirtschaftungsart (Bio/Konventionell).

Bewirtschaftungsart	Anzahl Stände	Verlust auf dem Beobachtungsstand			Verlust im gesamten Betrieb		
		Anzahl Völker insgesamt	Anteil tote Völker	Konfidenzintervall	Anzahl Völker insgesamt	Anteil tote Völker	Konfidenzintervall
konventionell	156	2224	7,1%	5,2-9,4%	7828	4,4%	3,1-6,1%
biologisch	32	586	8,9%	5,1-14,1%	4053	6,9%	4,6-9,7%

3a.4.5.5 Winterverluste und Erfahrung bzw. Ausbildung des Imkers

3a.4.5.5.1 Imkerliche Erfahrung

Mit zunehmender Zahl an Jahren der Imkereierfahrung sank die Höhe der Winterverluste (Abbildung 3.41). Dieser Zusammenhang ist auf Standniveau nicht signifikant ($\chi^2=4,32$; $df = 2$; $P = 0,115$), es ist jedoch optisch ein klarer Trend erkennbar (Abbildung 3.41 A). Auf Betriebsniveau war der negative Zusammenhang zwischen Erfahrungsjahren und Winterverlusten signifikant ($\chi^2=7,67$; $df = 2$; $P = 0,022$; Abbildung 3.41 B). Dabei hatten ImkerInnen mit über 30 Jahren

Erfahrung weniger als halb so viele Winterverluste wie ImkerInnen mit weniger als 10 Jahren Imkereierfahrung (Posthoc: Tukey-Test: $P = 0,029$).

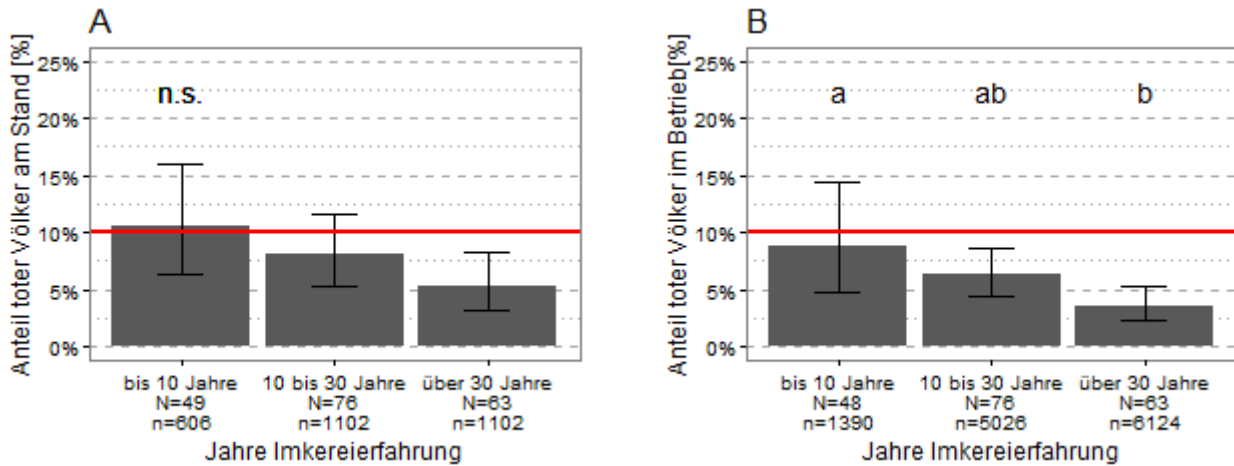


Abbildung 3.41: Zusammenhang zwischen Imkererfahrung in Jahren und Wintersterblichkeit der Bienenvölker (A) am Beobachtungsstand und (B) im teilnehmenden Betrieb. Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall; N: Anzahl der Imkereibetriebe; n: Anzahl der Bienenvölker; rote Linie: gibt die Grenze der für ImkerInnen noch akzeptablen Winterverluste von 10% an; n.s: Unterschiede zwischen den Gruppen nicht signifikant; Unterschiedliche Buchstaben: signifikanter Unterschied ($<0,05$, Posthoc: Tukey-Test).

3a.4.5.5.2 Ausbildung

Die Art und die Anzahl der von den ImkerInnen durchlaufenen Ausbildungsschritte hatten unerwarteterweise keinen Einfluss auf die Höhe der Winterverluste auf den Beobachtungsständen (Abbildungen 3.42 A, B). Der Anteil an toten Völkern auf dem Beobachtungsstand unterschied sich nicht signifikant zwischen ImkerInnen ohne Ausbildung, mit nur einem absolvierten Grundkurs, oder mit absolvierten Aufbaukursen, von jenen mit Berufsausbildung bzw. Wanderlehrausbildung ($\text{Chi}^2 = 0,73$; $\text{df} = 3$; $P = 0,866$; Abbildung 3.42 A). Auch die Anzahl der durchlaufenen Ausbildungsschritte hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der Winterverluste an Bienenvölkern auf dem Beobachtungsstand ($\text{Chi}^2 = 0,73$; $\text{df} = 3$; $P = 0,866$; Abbildung 3.42 B).

Auch auf Betriebsniveau hatten die Faktoren „höchste Imkerausbildung“ oder „Anzahl Ausbildungsschritte“ keinen signifikanten Zusammenhang mit der Höhe der Winterverluste (höchste Berufsausbildung: $\text{Chi}^2 = 4,49$; $\text{df} = 3$, $P = 0,213$; Anzahl Ausbildungsschritte: $\text{Chi}^2 = 5,97$; $\text{df} = 5$; $P = 0,309$).

Da die Inhalte der absolvierten Ausbildungsschritte nicht abgefragt wurden, ist keine Aussage darüber möglich, ob spezielle Kurse zur Biologie und Bekämpfung der Varroamilbe ebenfalls besucht worden waren. An und für sich sind diese Themen fixe Bestandteile der imkerlichen Berufsausbildung (Facharbeiter-, Meisterkurse), aber auch der Grund- und Aufbaukurse und der Wanderlehrerfortbildung. Allerdings ist eine regelmäßige Auffrischung des Wissens unbedingt erforderlich um erfolgreich imkern zu können.

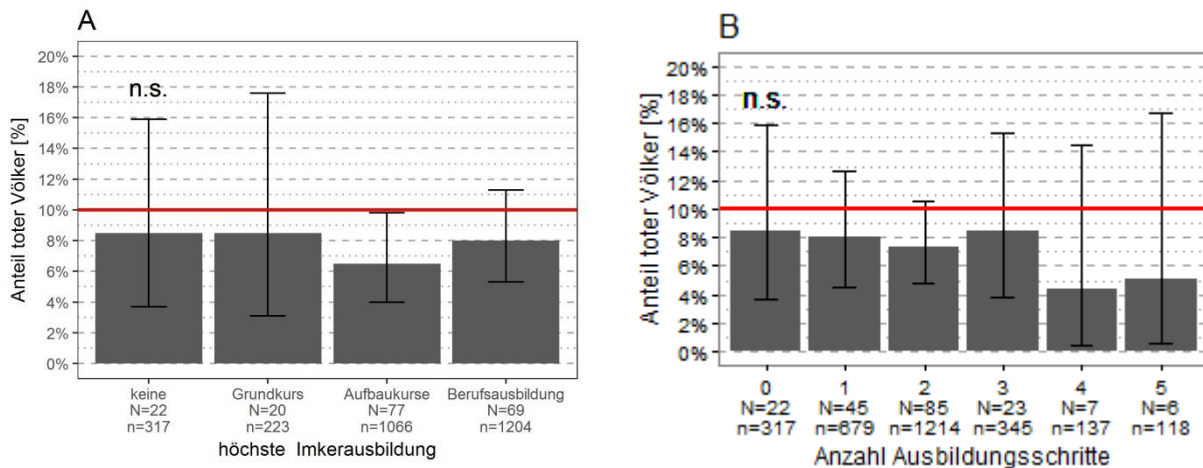


Abbildung 3.42: Zusammenhang zwischen Imkerausbildung und Wintersterblichkeit der Bienenvölker am Beobachtungsstand. **A** Einfluss der höchsten absolvierten Imkerausbildung (Berufsausbildung: FacharbeiterIn, ImkermeisterIn, WanderlehrerIn). **B** Einfluss der Anzahl der durchgeführten Ausbildungsschritte (Grundkurs, Aufbaukurse, FacharbeiterIn, ImkermeisterIn, WanderlehrerIn). Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall; n.s.: Unterschiede zwischen den Gruppen nicht signifikant; N: Anzahl der Imkereibetriebe; n: Anzahl der Bienenvölker; rote Linie: gibt die Grenze der für ImkerInnen noch akzeptablen Winterverluste von 10% an.

3a.4.5.6 Völkerverluste und Varroabefall der Völker

3a.4.5.6.1 Zusammenhang Varroabefall beim ersten Besuch (Sommer 2015) mit Sommer- und Winterverlusten

Von den 1591 im Sommer 2015 begutachteten Völkern mit vollständig vorliegender Volksgeschichte waren 33 Völker bis zum zweiten Besuch im Herbst 2015 abgestorben und weitere 127 Völker bis zum Frühling 2016.

Die Varroabefallsraten im Juli 2015 unterschieden sich signifikant zwischen den im Sommer abgestorbenen, im Winter abgestorbenen und den bis zum Frühling 2016 überlebenden Völkern (Kruskal-Wallis-Test: $H = 51,93$; $df = 2$; $P < 0,001$; Abbildung 3.43 A). Die im Sommer abgestorbenen Völker hatten beim ersten Besuch den höchsten Varroabefallsgrad der Bienen (Median = 1,7% Varroamilben auf Bienen; unteres Quartil: 0,5%; oberes Quartil: 7,0%). Völker, die über den Winter abgestorben waren, hatten beim ersten Besuch einen medianen Varroabefall der Bienen von 0,6% (unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 2,3%). Die im Frühjahr 2016 lebenden Völker hatten im Sommer 2015 den geringsten Varroabefall der Bienen (Median = 0,2% Varroamilben auf Bienen; unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 0,8%).

Ebenso waren Symptome der Varroose signifikant öfter bei später abgestorbenen Völkern als bei überlebenden Völkern zu finden (Chi²-Test: $Chi^2 = 48,08$; $df = 2$; $P < 0,001$; Abbildung 3.43 B). Die ProbenehmerInnen gaben bei 9 der 33 Sommergeverluste (27% der Völker) an, Varroose-Symptome beobachtet zu haben. Varroose-Symptome waren in 12% der im Winter abgestorbenen Völker zu finden (15 von 127 Völkern). Nur bei 58 von den 1431 lebend ausgewinterten Völkern (4% der Völker) war vom Probenehmer / von der Probenehmerin Varroose diagnostiziert worden.

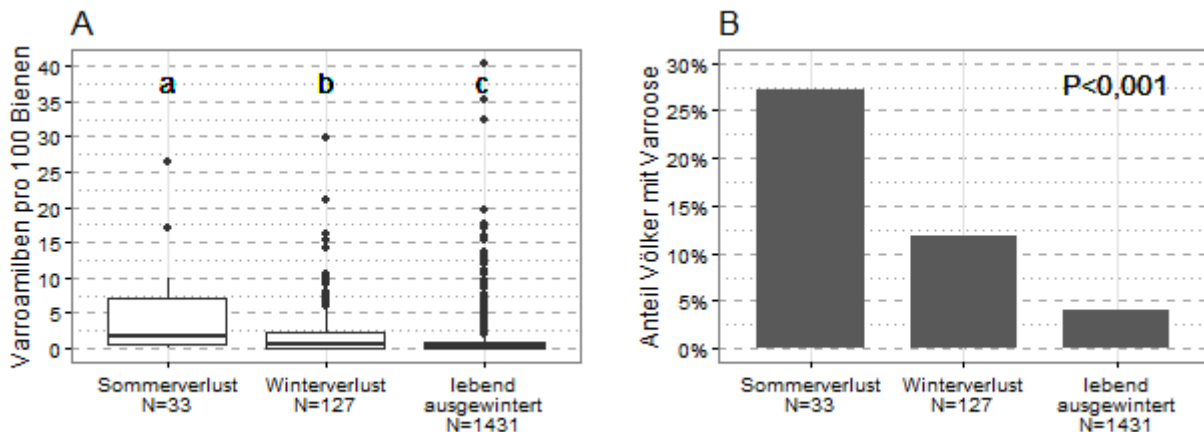


Abbildung 3.43: Zusammenhang zwischen dem Absterben von Bienenvölkern während der Beobachtungsstudie und dem Varroabefall dieser Völker beim ersten Standbesuch (Juli 2015). **A** Der Varroabefall der Bienen war zwischen den drei Gruppen signifikant unterschiedlich ($\text{Chi}^2 = 51,93$; $\text{df} = 2$; $P < 0,001$). Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Der Anteil an Völkern mit Varroose-Symptomen unterschied sich signifikant zwischen den Gruppen ($\text{Chi}^2 = 48,08$; $\text{df} = 2$; $P < 0,001$). Unterschiedliche Buchstaben: signifikanter Unterschied ($< 0,05$; Bonferroni-korrigiert); Sommerverlust: Völker, die zwischen erstem und zweitem Standbesuch gestorben sind; Winterverlust: Völker, die zwischen zweitem und drittem Standbesuch abgestorben sind.

Völker mit erhöhtem Varroabefall auf Bienen im Juli 2015 hatten eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit bis zum Frühjahr 2016 abzusterben als Völker mit geringem Varroabefall ($\text{Chi}^2 = 18,01$; $\text{df} = 3$; $P < 0,001$; Abbildung 3.44 A). Wurden im Juli erhöhte bis stark erhöhte Varroabefallswerte (1 bis 10% Milbenbefall, bzw. über 10% Milbenbefall) gemessen, stieg die Wahrscheinlichkeit eines Volksverlustes bis zum Frühjahr 2016 um das Drei- bis Fünffache im Vergleich zu Völkern, in deren Bienenproben keine Varroamilben vorhanden waren (1 bis 10% Milbenbefall: $P = 0,002$; über 10% Milbenbefall: $P = 0,004$; Abbildung 3.44 A). Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Volk mit über 10% Varroabefall der Bienen bis zum Frühling 2016 starb, lag bei 19,3% (Konfidenzintervall: 5,9-45,9%). Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Volk mit einem Varroabefall zwischen 1% und 10% bis zum Frühling 2016 starb, lag bei 6,6% (Konfidenzintervall: 3,6-10,8%). Lag der Varroabefall der Bienen im Juli unter 1%, war die Wahrscheinlichkeit eines Volksverlustes signifikant geringer als die für die Imkerschaft noch akzeptable Verlustrate von 10%.

Betrachtet man ausschließlich den Zusammenhang zwischen dem Varroabefall im Juli 2015 und den darauffolgenden Winterverlusten, war auch hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen hohem Varroabefall auf Bienen und dem Winterverlust zu finden ($\text{Chi}^2 = 12,65$; $\text{df} = 3$; $P = 0,005$; Abbildung 3.44 B). In dieser Berechnung hatten Völker mit Varroabefall über 10% eine signifikant höhere Sterbewahrscheinlichkeit als Völker, in deren Bienenprobe keine Varroamilben gefunden wurden ($P = 0,010$; Abbildung 3.44 B). Bei allen drei Gruppen mit Varroabefall unter 10% war die Wahrscheinlichkeit eines Absterbens des Volks im Winter signifikant geringer als die für die Imkerschaft noch akzeptable Verlustrate von 10%.

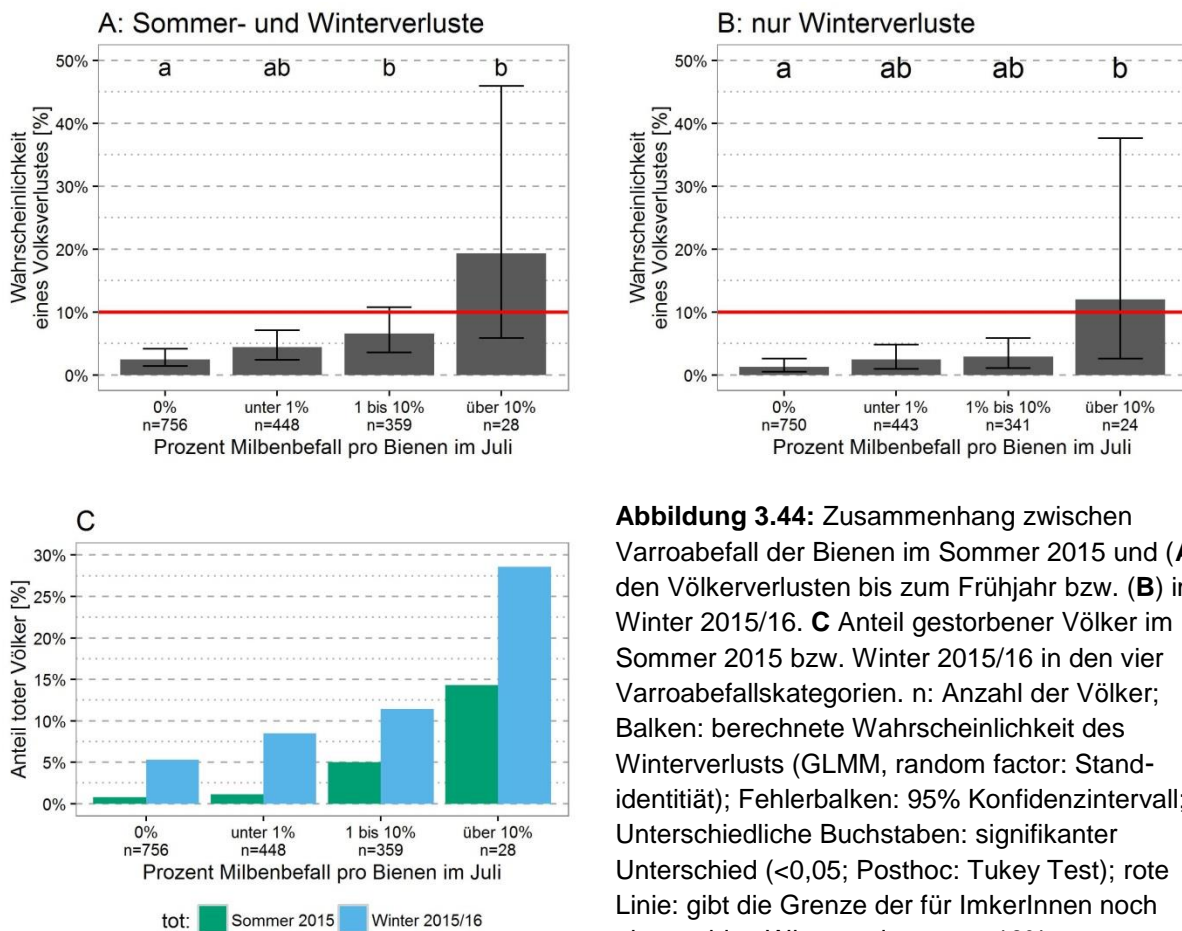


Abbildung 3.44: Zusammenhang zwischen Varroabefall der Bienen im Sommer 2015 und (A) den Völkerverlusten bis zum Frühjahr bzw. (B) im Winter 2015/16. C Anteil gestorbener Völker im Sommer 2015 bzw. Winter 2015/16 in den vier Varroabefallskategorien. n: Anzahl der Völker; Balken: berechnete Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes (GLMM, random factor: Stand-identität); Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall; Unterschiedliche Buchstaben: signifikanter Unterschied (<0,05; Posthoc: Tukey Test); rote Linie: gibt die Grenze der für ImkerInnen noch akzeptablen Winterverluste von 10% an.

Bei der Interpretation des Zusammenhangs zwischen Varroabefall im Sommer und den Verlusten in der darauffolgenden Wintersaison ist zu bedenken, dass schwer geschädigte Völker teilweise schon vor der Einwinterung gestorben sind oder vom Imker / von der Imkerin aufgelöst wurden. So starben in beiden Gruppen (Varroabefall 1-10%; Varroabefall über 10%) etwa ein Drittel der insgesamt abgestorbenen Völker schon im Sommer 2015 (Abbildung 3.44 C). Diese Völker flossen daher nicht in die Analyse der Winterverluste ein, waren jedoch für den Imker / die Imkerin genauso verloren. Daher sollte in der Praxis auch den Sommerverlusten im Hinblick auf eine Varroaproblematik mehr Augenmerk geschenkt werden.

3a.4.5.6.2 Zusammenhang des Varroabefalls beim zweiten Besuch (Herbst 2015) mit Winterverlusten

Bei Fokusvölkern, die über den Winter 2015/16 abgestorben waren, war der Varroabefall der Bienenproben im September 2016 signifikant höher als bei Völkern, die im Frühjahr 2016 lebend ausgewintert wurden (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 8,93$; $P < 0,001$; Abbildung 3.45 A). Der Varroabefall von abgestorbenen Völkern betrug im Median 3,3% (unteres Quartil: 0,8%; oberes Quartil: 10,3%), jener von lebenden Völkern 0,5% (unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 1,8%). Ebenso hatten Völker, die im Winter 2015/16 gestorben waren, im September 2015 dreimal so häufig Anzeichen von Varroose wie Völker, die lebend ausgewintert wurden ($\text{Chi}^2 = 21,38$; $\text{df} = 1$; $P < 0,001$; Abbildung 3.45 B).

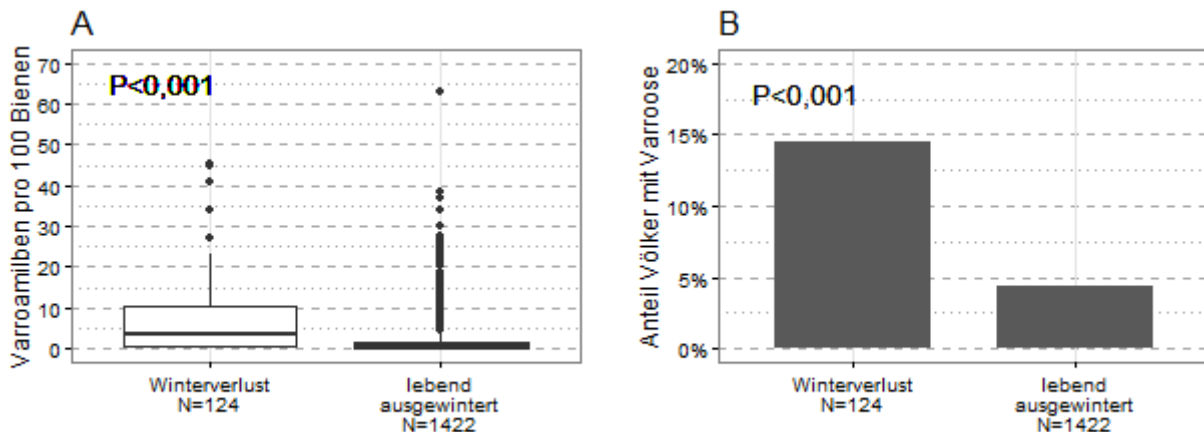


Abbildung 3.45: Zusammenhang zwischen dem Absterben von Bienenvölkern im Winter 2015/16 und dem Varroabefall dieser Völker beim zweiten Standbesuch (September 2015). **A** Der Varroabefall der Bienen unterscheidet sich signifikant zwischen den lebend ausgewinterten und den über den Winter abgestorbenen Völkern (Wilcoxon-Mann-Whitney--Test: $P < 0,001$). Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze der Box: unteres/oberes Quartil; Antennen: maximal 1,5-facher Interquartilsabstand. **B** Der Anteil an Völkern mit Varroose-Symptomen unterscheidet sich signifikant zwischen den Gruppen (Chi²-Test: Chi²=21,38; df = 1; $P < 0,001$).

Die Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes unter den Völkern der Beobachtungsstudie erhöhte sich signifikant mit steigendem Varroabefall auf Bienen im vorhergehenden Herbst ($P < 0,001$; Abbildung 3.46). Während bei 0% Varroamilben auf Bienen die Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes 1,1% (Konfidenzintervall: 0,5-2,5%) betrug, stieg sie bei 20% Milbenbefall auf 22,3% Verlustwahrscheinlichkeit (Konfidenzintervall: 10,6-40,9%). Ab 28% Milbenbefall auf Bienen konnte man von einer 50%-igen Verlustwahrscheinlichkeit für dieses Volk ausgehen (Konfidenzintervall: 26,8-77,4%).

Die bei der Beratung der ImkerInnen beim Herbsttermin verwendete Schadensschwelle von 3% Milbenbefall auf Bienen wurde bestätigt, wenn der Varroabefall in Befallsklassen zusammengefasst wurde (Abbildung 3.47). Nur bei Bienenvölkern mit einem Varroabefall unter 3% unterschied sich die Sterbewahrscheinlichkeit nicht signifikant von Bienenvölkern, in deren Bienenprobe keine Milben gefunden worden waren ($P = 0,390$). Bienenvölker, in deren Bienenproben zwischen 3% und 10% Milbenbefall gemessen wurden, und Völker, in deren Bienenproben über 10% Milbenbefall gemessen wurden, hatten eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit im Winter abzusterven als Bienenvölker mit 0% Befall (beide Gruppen: $P < 0,001$). Dabei war bei einem Milbenbefall von über 10% mit einer 27,3%-igen Wahrscheinlichkeit eines Winterverlusts zu rechnen (Konfidenzintervall: 12,8-46,2%).

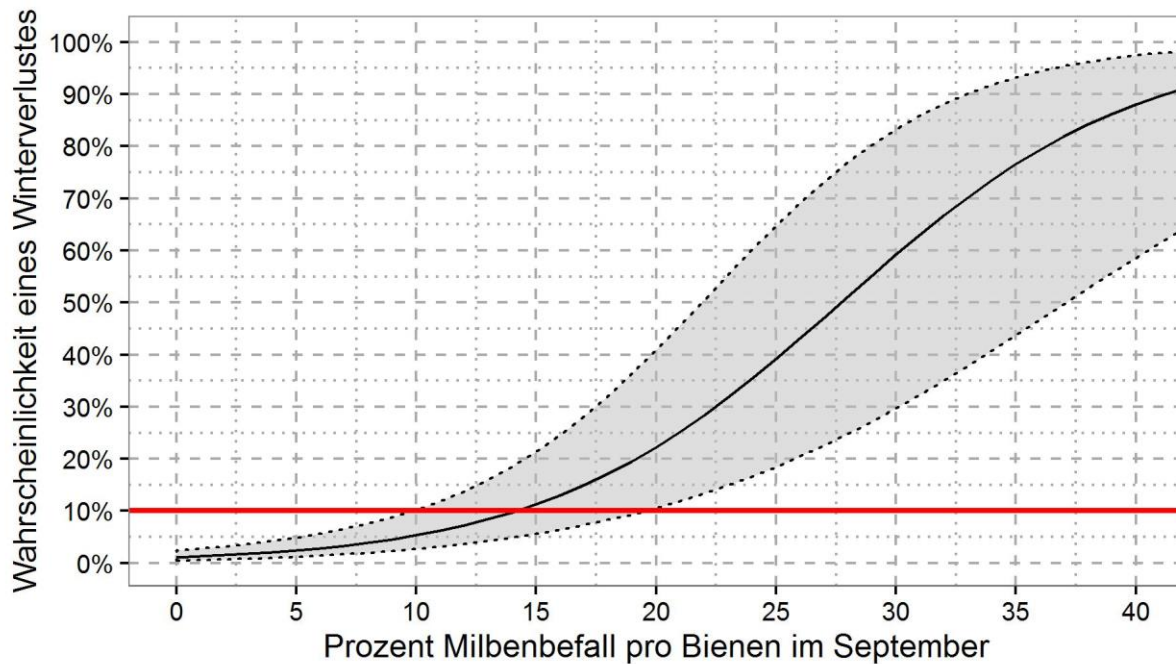


Abbildung 3.46: Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes 2015/16 in Abhängigkeit vom Milbenbefall der Bienen im Herbst 2015 (n = 1546 Völker, N = 188 Stände). schwarze Linie: berechnete Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes (GLMM : $\text{logit}(y) = -4,4977 + 0,1623 \times \text{Milbenbefall}$; random factor: Standidentität); grauer Bereich: 95% Konfidenzintervall; rote Linie: Grenze der für die ImkerInnen noch akzeptablen Winterverluste von 10%.

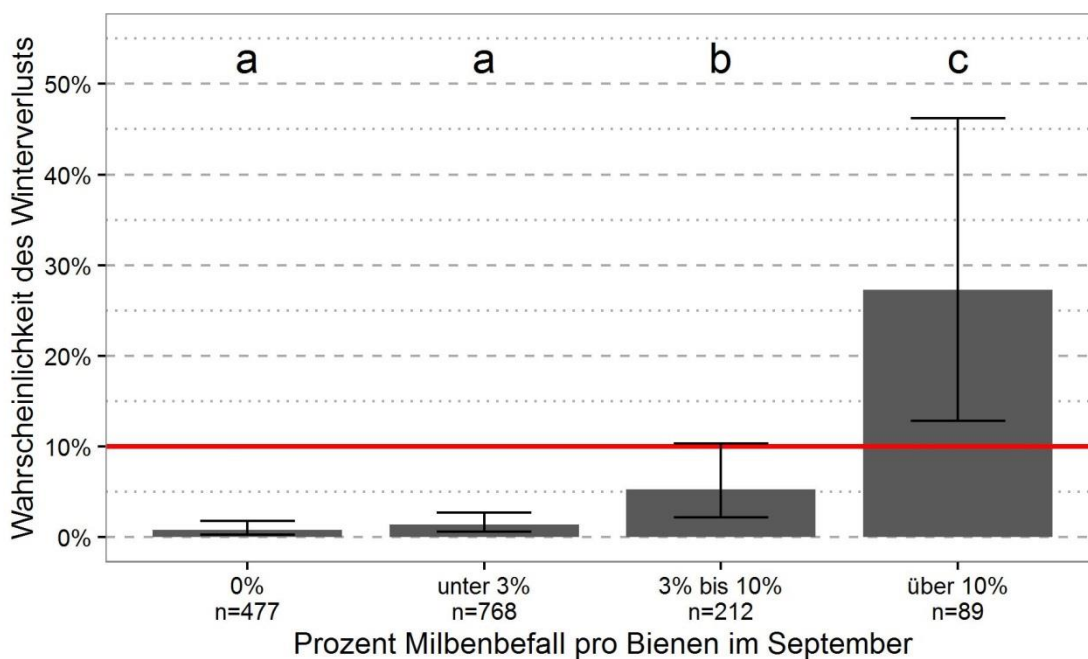


Abbildung 3.47: Zusammenhang zwischen der Höhe des Varroabefalls der Bienen im Herbst 2015 und der Wahrscheinlichkeit eines Verlustes im darauffolgenden Winter (n = 1546 Völker, N = 188

Stände). n: Anzahl der Völker; Säulen: berechnete Wahrscheinlichkeit des Winterverlusts (GLMM, random factor: Standidentität); Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall; unterschiedliche Buchstaben: signifikanter Unterschied ($<0,05$; Posthoc: Tukey-Test); rote Linie: Grenze der für die ImkerInnen noch akzeptablen Winterverluste von 10%.

3a.4.5.6.3 Zusammenhang Winterverluste, Varroabefall und Beprobungsdatum

Sowohl beim ersten als auch beim zweiten Standbesuch wurden die Standbesuche in einer Zeitspanne von knapp über 50 Tagen durchgeführt (Details siehe 3a.3.4.1). Der Zeitpunkt der Messung des Varroabefalls hat einen Effekt auf die Höhe des gemessenen Varroabefalls, da bei späteren Beprobungsdaten die Varroapopulation im Volk bis dahin mehr Zeit zur Vermehrung hatte. Die Varroabefallsdaten des ersten und des zweiten Besuchs korrelierten daher in geringem Maße positiv mit dem Zeitpunkt der Beprobung (erster Besuch: $r_s = 0,19$; zweiter Besuch: $r_s = 0,27$; Abbildung 3.48). Diese Korrelation hatte jedoch bei beiden Besuchen keine Auswirkungen auf den Zusammenhang zwischen Varroabefall und Überleben des Volkes. Das heißt, die Aussagekraft des Varroabefalls für das Überleben des Volkes, wurde nicht durch den Beprobungstermin verändert (Interaktion zwischen Varroabefall und Beprobungstermin: Sommer 2015: $\text{Chi}^2 = 0,07$; $\text{df} = 1$; $P = 0,799$; Herbst 2015: $\text{Chi}^2 = 2,52$; $\text{df} = 1$; $P = 0,113$).

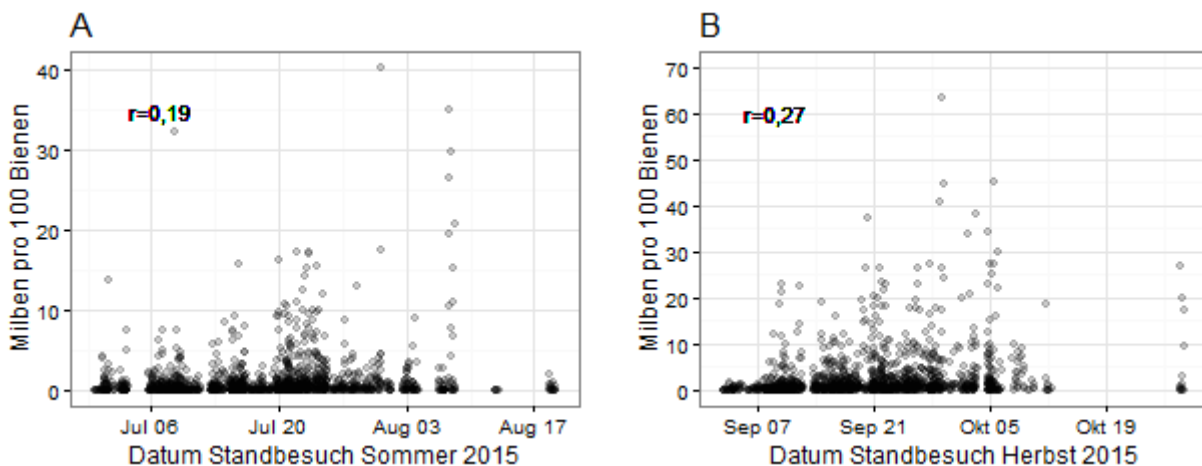


Abbildung 3.48: Zusammenhang zwischen dem Beprobungsdatum und der Höhe des Varroabefalls während des (A) ersten Standbesuchs im Sommer 2015 und (B) zweiten Standbesuchs im Herbst 2015. Je ein Datenpunkt stellt einen Messwert dar. Zur besseren Sichtbarkeit von überlappenden Werten sind die Datenpunkte transparent dargestellt (Deckungsgrad 20%). Ein Datenpunkt des zweiten Standbesuchs ist wegen seiner Höhe nicht dargestellt (137 Milben/100 Bienen am 2. Okt. 2015).

3a.4.5.6.4 Einfluss des Standeffektes auf das Überleben der Völker während der Überwinterung 2015/2016

Bei allen Berechnungen auf Volksebene wurde zusätzlich zu den getesteten Variablen ein Standeffekt (random factor: „Standidentität“) miteinberechnet. Der Standeffekt berücksichtigt, dass alle Völker auf einem Stand eine gemeinsame Geschichte haben, die sie gleich oder ähnlich beeinflusste (Wetter, imkerliche Behandlung, Pollen- und Honigversorgung, Pestizidbelastung, Krankheiten, Landnutzung im Umkreis, Herkunft der Geschlechtstiere, etc.). Diese gemeinsame Geschichte kann neben dem getesteten Faktor auch einen Einfluss auf die Sterblichkeit der Völker haben.

Der Standeffekt hatte einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Völker, wie am Beispiel der Berechnung des Einflusses des Varroabefalls auf die Sterbewahrscheinlichkeit im Winter demonstriert werden konnte ($\text{Chi}^2 = 125,01$, $\text{df} = 1$, $P < 0,001$; Abbildung 3.49). Die dargestellten Effekte des Varroabefalls unterschieden sich, je nachdem, ob ein Standeffekt miteinberechnet wurde (blaue Kurve) oder nicht (schwarze Kurve). Dabei zeigen die Werte der schwarzen Kurve den Effekt der Varroamilbe auf die Wintersterblichkeit der Völker, wenn bei der Berechnung ausschließlich die Varroamilbe als Grund für die Sterblichkeit der Völker angenommen wurde. Die blaue Kurve beschreibt hingegen den Einfluss der Varroamilbe auf die Wintersterblichkeit, wenn man zusätzlich zur Varroamilbe noch einen Einfluss der Standgeschichte auf die Wintersterblichkeit angenommen hatte.

Wenn zum Beispiel viele Völker eines Standes starben, aber nur eines davon einen hohen Varroabefall aufwies, dann kann man annehmen, dass noch andere Gründe – neben dem gemessenen Varroabefall des Volkes – Anteil an dem Absterben der Völker gehabt haben. In diesem Fall ist die Sterbewahrscheinlichkeit aufgrund der Varroa geringer als die gesamte gemessene Sterberate. Damit liegt in solchen Situationen die blaue Kurve unter der schwarzen Kurve.

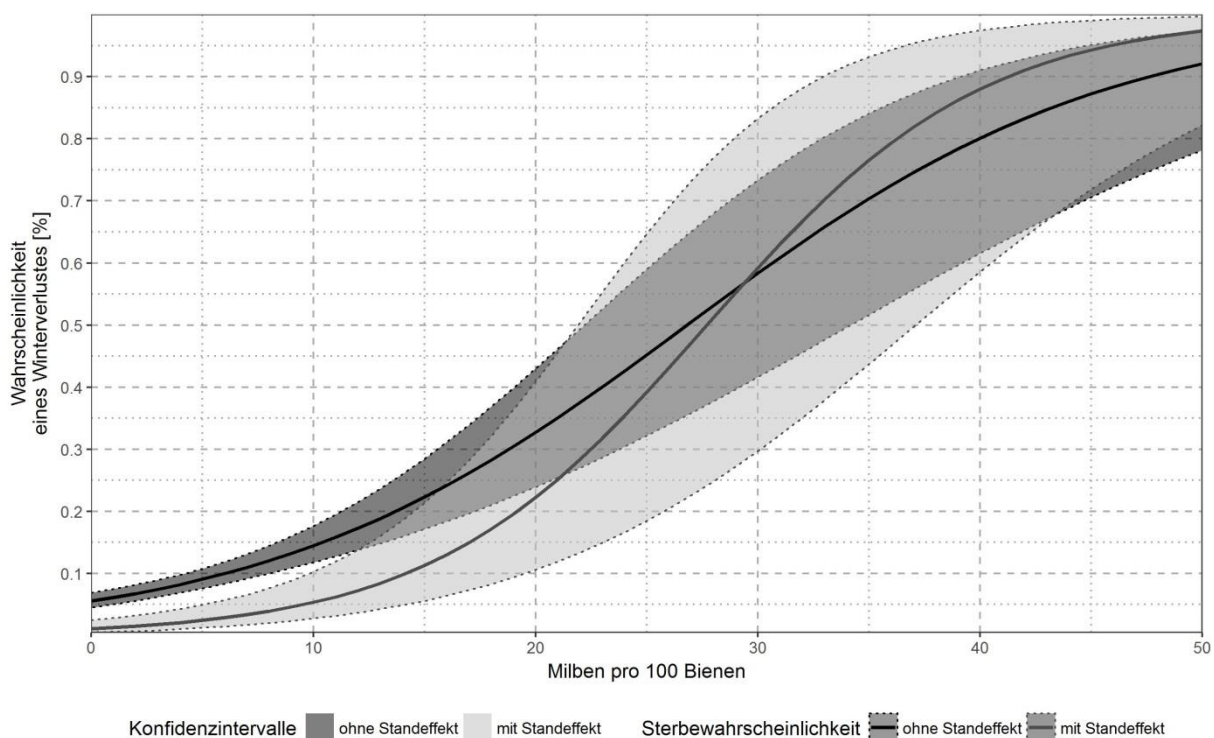


Abbildung 3.49: Zusammenhang zwischen Varroabefall im Herbst 2015 und der Wahrscheinlichkeit des Verlustes eines Volkes im Winter 2015/16 ($n = 1546$ Völker, $N = 188$ Stände). Es werden zwei Berechnungen dargestellt: schwarze Kurve (ohne Standeffekt): General linear model mit binomialer Verteilung; blaue Kurve (mit Standeffekt): General linear mixed model mit binomialer Verteilung und Standidentität als random factor.

Der Unterschied zwischen den Sterbekurven mit unterschiedlicher Berechnung ist nur im Bereich zwischen 0% und 10% Milbenbefall auf Bienen signifikant – hier überschneiden sich die Konfidenzintervalle der beiden Kurven nicht (Abbildung 3.49). Es ist daher zu vermuten, dass bei einem mäßigen Varroabefall bis 10%, neben der Varroamilbe noch andere Faktoren mitwirken

müssen, damit ein Volk stirbt. Ist der Varroabefall jedoch über 10%, reicht alleine der Befall durch Varroamilben aus, um den Ausfall des Volkes zu erklären. Hier ist zu beachten, dass bei hohem Varroabefall – mit dem Krankheitsbild der Varroose –, auch mit einem Befall durch das DWV-Virus zu rechnen ist (Bowen-Walker et al., 1999; Traynor et al., 2016). Diese zusätzlichen Effekte sind im dargestellten Effekt des Varroabefalls mit eingeschlossen, da sie stark mit der Höhe des Varroabefalls korrelieren (siehe Kapitel 3a.4.2.3.3).

3a.4.5.7 Winterverluste und Eigenschaften der Völker

3a.4.5.7.1 Alter der Königin

Völker mit jungen Königinnen überwinterten signifikant häufiger erfolgreich als Völker mit Königinnen, deren Schlüpfen zwei oder mehr Jahre zurücklag ($\text{Chi}^2 = 12,33$; $\text{df} = 2$; $P = 0,002$). Betrachtet man zusätzlich die Völker, bei denen im Herbst Königinnenprobleme beobachtet oder vermutet worden waren, hatte auch dies einen negativen Einfluss auf die Überwinterung der Völker ($\text{Chi}^2 = 20,06$; $\text{df} = 3$; $P < 0,001$; Abbildung 3.50 A). Dabei waren die Winterverluste der Problemfälle und der Völker mit Königinnen, deren Geburtsjahr zwei oder mehr Jahre zurücklag, signifikant höher als die Winterverluste der Völker, deren Königinnen maximal ein Jahr alt waren. Nur bei der Gruppe der Problemfälle bestand die signifikante Wahrscheinlichkeit, dass die 10% Grenze an Winterverlusten überschritten wurde.

Die 31 als Problemfälle zusammengefassten Völker waren beim zweiten Besuch entweder weiselos (9 Völker), drohnenbrütig (8 Völker) oder der Probenehmer / die Probenehmerin hatte die Vermutung, dass das Volk weiselos war (14 Völker). Die Königinnen der Gruppe „vor 2014“ schlüpften 2011 (1 Königin), 2012 (26 Königinnen) und 2013 (206 Königinnen).

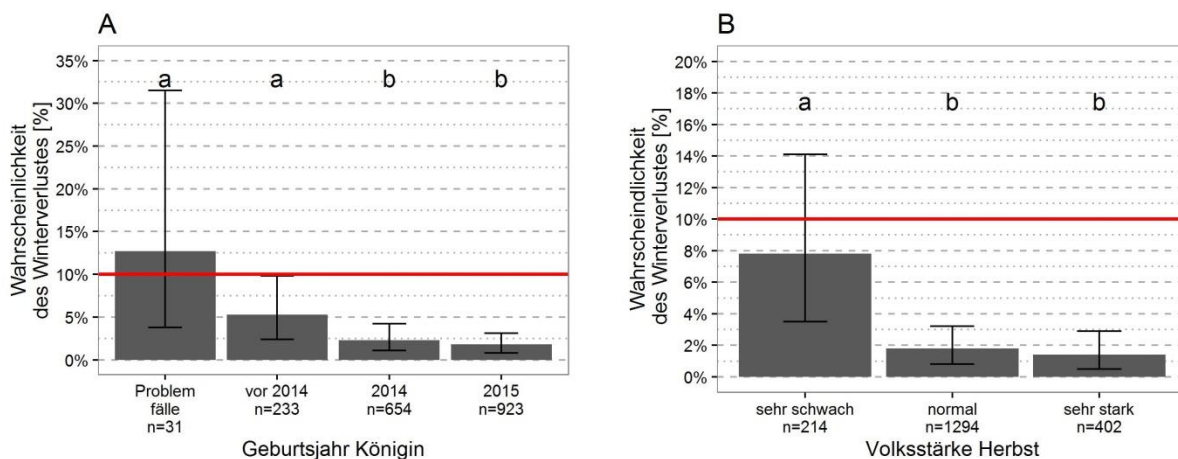


Abbildung 3.50: Zusammenhang zwischen Wintersterblichkeit 2015/2016 und (A) dem Alter der Königin und (B) der Volksstärke im Herbst 2015 auf den 188 Ständen der Beobachtungsstudie. Problemfälle: alle Völker, bei denen im Herbst 2015 Weiselosigkeit oder Drohnenbrütigkeit beobachtet oder von den ProbenehmerInnen stark vermutet worden war. n: Anzahl der Völker; Säulen: berechnete Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes (GLMM, random factor: Standidentität); Fehlerbalken: 95% Konfidenzintervall; unterschiedliche Buchstaben: signifikanter Unterschied ($<0,05$); rote Linie: gibt die Grenze der für die ImkerInnen noch akzeptablen Winterverluste von 10% an.

3a.4.5.7.2 Volksstärke

Wurde ein Volk beim zweiten Bienenstandbesuch im Herbst als „sehr schwach“ beurteilt, war die Wahrscheinlichkeit des Absterbens über den Winter signifikant höher als wenn es als „normal groß“ oder „sehr stark“ beurteilt worden war ($\text{Chi}^2 = 30,37$; $\text{df} = 2$; $P < 0,001$; Abbildung 3.50 B). Die Wahrscheinlichkeit des Absterbens war bei sehr schwachen Völkern etwa viermal so hoch wie bei Völkern der anderen Kategorien. Dabei lag die Wahrscheinlichkeit abzusterben bei als „normal“ und „sehr stark“ beurteilten Völkern signifikant unter der von ImkerInnen als noch akzeptabel betrachteten Verlustrate von 10% (Abbildung 3.50 B rote Linie). Nur bei als schwach beurteilten Völkern konnte der Ausfall auch über der 10%-Grenze liegen.

3a.4.5.7.3 Wanderungen

Wanderungen mit den Völkern im Frühjahr 2015 hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Sterblichkeit der Völker im Winter 2015/2016 ($\text{Chi}^2=0,13$; $\text{df} = 1$; $P=0,717$; Tabelle 3.29).

Tabelle 3.29: Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes bei Völkern, die im Frühjahr 2015 gewandert worden waren und Völkern, die im Frühjahr 2015 auf dem Stand verblieben waren.

Volkstyp	Völkerverluste im Winter 2015/16			
	Anzahl Völker insgesamt	Anzahl toter Völker	Modellierte Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes	Konfidenzintervall
Volk gewandert	285	12	1,9%	0,6-5,0%
Volk nicht gewandert	1615	125	2,3%	1,1-3,9%

3a.4.5.7.4 Jungvolk / Wirtschaftsvolk

Wirtschaftsvölker und Jungvölker unterschieden sich nicht signifikant in der Wahrscheinlichkeit der Wintersterblichkeit ($\text{Chi}^2=2,25$; $\text{df} = 1$; $P=0,134$; Tabelle 3.30).

Tabelle 3.30: Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes bei Wirtschaftsvölkern und Jungvölkern in der Beobachtungsstudie

Volkstyp	Völkerverluste im Winter 2015/16			
	Anzahl Völker	Anzahl toter Völker	Modellierte Wahrscheinlichkeit des Winterverlustes	Konfidenzintervall
Wirtschaftsvolk	1526	123	2,6%	1,3-4,3%
Jungvolk	394	20	1,7%	0,7-3,3%

3a.4.5.8 Multivariates Modell der Winterverluste

Insgesamt wurden 15 Variablen univariat auf ihren Einfluss auf die Wintersterblichkeit getestet (Tabelle 3.31). Acht davon zeigten einen signifikanten Zusammenhang mit der Wintersterblichkeit der Bienenvölker auf einem Signifikanzlevel von 0,05.

Tabelle 3.31: Zusammenfassung der univariaten Modelle zum Einfluss der jeweiligen Variablen auf die Winterverluste 2015/16 (Signifikanzlevel: $P < 0,05$). Grundsätzlich wurden alle Variablen entweder auf Standniveau (Kategorien: Standort, Imkereibetrieb, Imker) oder Volksniveau (Kategorie: Volk) getestet. Wenn zusätzlich noch auf Betriebsniveau getestet wurde, ist dies angeführt.

Kategorie	Variable	Signifikanter Effekt auf die Höhe des Winterverlusts
Standort	Bundesland	nein
	Hauptproduktionsgebiete	nein
	Landnutzungscluster	teilweise
Imkereibetrieb	Betriebsgröße	Betriebslevel: ja Standlevel: nein
	Standgröße	ja
	Bewirtschaftungsart (bio/konventionell)	Betriebsniveau: nein Standniveau: nein
Imker	Jahre Imkereierfahrung	Betriebsniveau: ja Standniveau: nein
	Höchste Imkerausbildung	Betriebsniveau: nein Standniveau: nein
	Anzahl Ausbildungen	Betriebsniveau: nein Standniveau: nein
Volk	Varroabefall Sommer 2015	ja
	Varroabefall Herbst 2015	ja
	Alter der Königin	ja
	Volksstärke Herbst 2015	ja
	Wanderungen	nein
	Jungvolk / Wirtschaftsvolk	nein

Die acht signifikanten Variablen wurden für die multivariate Modellierung ausgewählt (Tabelle 3.32). Bei einigen Variablen stand zur Auswahl, ob sie als metrische oder kategorische Variable in das Modell einfließen sollten. Beide Möglichkeiten wurden getestet und in allen Fällen die metrische Version der Variablen in das Modell übernommen (Tabelle 3.32).

Tabelle 3.32: Variablen für das multivariate Modell. Variablen, die in das endgültige Modell übernommen wurden, sind fett gedruckt und grau markiert.

Variable	Variablentyp	in das endgültige Modell übernommen (ja/nein)
Varroabefall 1. Besuch	metrisch	nein
	kategorisch (unter 5%; über 5% Befall)	nein
Varroabefall 2. Besuch	metrisch	ja
	kategorisch (unter 5%; über 5% Befall)	nein
Volksstärke 2. Besuch	kategorisch (schwach; normal; stark)	ja
Landnutzungscluster	kategorisch	nein
Betriebsgröße	metrisch	nein
	kategorisch (bis 50; bis 100; über 100 Völker)	nein
Standgröße	metrisch	nein
	kategorisch (bis 10; bis 20; über 20 Völker)	nein
Alter der Königin	kategorisch (vor 2014; 2015; 2016)	ja
Erfahrung des Imkers	metrisch	ja
	kategorisch (bis 10; bis 30; über 30 Jahre)	nein

Es wurden verschiedene Modellierungsversuche durchgeführt. Je nach fehlenden Werten in den Prädiktoren konnten nicht immer alle Beobachtungen miteinbezogen werden. In der Hauptmodellierung, die im Folgenden näher beschrieben wird, wurden 1394 Beobachtungen verwendet.

Explizit aus der multivariaten Analyse ausgeschlossen wurden jene Völker, in denen keine oder vermutlich keine gesunde Königin vorhanden war (Kategorie „Problemfälle“). Der verwendete Datensatz spiegelt die Winterverluste dieser Gruppe nicht wider: in der Gruppe der „Problemfälle“ gab es hohe Winterverluste (Abbildung 3.50). Im Datensatz für die Modellierung scheint es so, als ob Völker dieser Gruppe besonders gut überleben. Dieser Widerspruch entstand, weil in der Praxis Völker mit Königinnenproblemen so schwach waren, dass keine Bienenproben für eine *Varroa*-Untersuchung mehr entnommen werden konnten. Weil in den Datensatz für die multivariate Analyse nur Völker übernommen wurden, von denen alle Informationen vorhanden waren, fielen die besonders schwachen Völker der „Problemfälle“ aufgrund der fehlenden Werte des *Varroa*-befalls aus dem Datensatz. Jene Völker der Gruppe, die beprobt wurden und somit in den Daten aufscheinen, waren durchwegs stärkere Völker mit einer hohen Überlebensrate. Alle anderen Variablen und Teilgruppen waren repräsentativ für den gesamten Datensatz.

Als signifikante Einflussfaktoren auf das Absterben der Völker in der Überwinterungsperiode 2015/16 konnten der *Varroa*-befall beim 2. Besuch, die Erfahrung des Imkers/der Imkerin in Jahren, das Königinnenalter und die Volksstärke beim 2. Besuch identifiziert werden (Tabelle 3.33). Der *Varroa*-befall beim zweiten Besuch zeigte einen starken Zusammenhang mit der Wintersterblichkeit ($P < 0,001$). Mit steigender Erfahrung des Imkers/der Imkerin sank auch die Wintersterblichkeit der Völker. Völker mit Königinnen aus einem Jahr vor 2014 hatten eine statistisch signifikant geringere Wahrscheinlichkeit, den Winter zu überleben als Völker mit Königinnen aus den Jahren 2014 oder 2015. Starke oder normale Völker hatten eine signifikant bessere Überlebensrate als schwache Völker. Der random factor „Standidentität“ verbesserte das endgültige Modell signifikant ($\text{Chi}^2 = 72.837$; $\text{df} = 1$; $P < 0,001$).

Im multivariaten Modell wurden keine Effekte der Landnutzungscluster auf den Winterverlust der Bienenvölker gefunden. Der random factor „Standidentität“ könnte jedoch Aspekte der Landnutzungscluster enthalten und daher einen signifikanten Effekt der Cluster maskieren. Um eine Unterschätzung des Effekts der Landnutzungscluster zu vermeiden, wurde die Modellierung auch ohne random factor durchgeführt. Doch auch in dieser Modellierung schien der Prädiktor „Landnutzungscluster“ nie als signifikant auf.

Tabelle 3.33: Multivariates Modell (GLMM mit binomialer Verteilung; Random Factor: Standidentität): Einfluss auf die Wintersterblichkeit von Bienenvölkern.

Prädiktor	Schätzer	Standardfehler	P-Wert
Varroabefall 2. Besuch	0,1492	0,5742	<0,0001
Erfahrung des Imkers/der Imkerin	-0,0406	0,0142	0,0042
Königinnenalter – 2014	-0,8301	0,3800	0,0289
Königinnenalter – 2015	-1,3727	0,3958	0,0005
Volksstärke 2. Besuch – normal	-1,0465	0,3789	0,0057
Volksstärke 2. Besuch – stark	-1,1049	0,4789	0,0211

Infobox – Ergebnisse Beobachtungsstudie

Prävalenz

Die Stände der Beobachtungsstudie wurden auf das klinische Auftreten der anzeigepflichtigen Krankheiten Amerikanische Faulbrut und Varroose, den Befall mit dem kleinen Bienenstockkäfer und mit der Tropilaelapsmilbe sowie den nicht anzeigepflichtigen Krankheiten Europäische Faulbrut, Sackbrut und Kalkbrut überprüft. Die Prävalenz aller Krankheiten wurde bei drei Standbesuchen erhoben (Details in Tabellen 3.13 und 3.14).

Die mit Abstand häufigste Krankheit stellte die Varroose dar (Prävalenz 8,7-21,8% aller Stände). Kalkbrut war die zweithäufigste Krankheit und trat bei 4,2-14,0% aller Stände auf. Das Auftreten von Sackbrut hatte eine Prävalenz von 1,6-7,3% aller Stände. Amerikanische Faulbrut trat mit einer Prävalenz zwischen 0,0-1,0% aller Stände auf. Der Kleine Bienenstockkäfer und die Tropilaelaps-Milbe wurden bei keinem der drei Standbesuchen gefunden.

Gründe für Winterverluste

In der Beobachtungsstudie wurden Faktoren des Imkereibetriebs, der imkerlichen Praxis und der Bienengesundheit erhoben und diese in Zusammenhang mit den Völkerverlusten des Winters 2015/2016 gebracht. Die folgenden Aussagen lassen sich aus dem multivariaten Modell ableiten (Tabelle 3.33).

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Volk über den Winter 2015/2016 abstarb, stieg

- je höher der Befall der Bienen mit Varroamilben im Herbst war
- je älter die Königin des Volkes war
- wenn das Volk im Herbst als „sehr schwach“ beurteilt wurde
- je weniger Erfahrungsjahre ein Imker/eine Imkerin hatte.

Faktoren, die in der univariaten Analysen Zusammenhänge mit Winterverlusten erkennen ließen, deren Effekt im multivariaten Modell nicht mehr sichtbar war, waren Standgröße, Betriebsgröße und Landnutzungscluster (Tabelle 3.31). Die Winterverluste nahmen ab, je größer der Stand / der Betrieb war. Völker im Landnutzungscluster „C3 - Getreide / Mais, Ölfrüchte“ hatten eine höhere Wahrscheinlichkeit, über den Winter abzusterben als Völker des Landnutzungsclusters „C1 - Nadelwald“.

Die Faktoren Bundesland, Hauptproduktionsgebiet, Bewirtschaftungsart (bio / konventionell), Wanderung, Art des Volkes (Jungvolk / Wirtschaftsvolk) und Ausbildungsgrad des Imkers / der Imkerin zeigten keinen signifikanten Zusammenhang mit der Wintersterblichkeit der Völker (Tabelle 3.31).

3a.5 Diskussion

Der Auswahlmodus zur Festlegung der teilnehmenden ImkerInnen folgte Empfehlungen von EPILOBEE, wonach die TeilnehmerInnen aus der Gesamtheit der Imkerschaft des Landes und aufgrund der Verteilung der Imkerschaft über die administrativen Einheiten ausgewählt werden sollten (EU Reference Laboratory for Honeybee Health, 2011). Durch Inkludierung der Mitglieder des Österreichischen Imkerbundes (ÖIB) in der Basisauswahl und der Mitglieder des Österreichischen Erwerbsimkerbundes (OEIB) in der Schwerpunktgruppe erfolgte – trotz Fehlens eines Imkerregisters zum Zeitpunkt des Projektbeginnes – die Auswahl aus der Gesamtheit aller ImkerInnen Österreichs. Trotz der dabei so weit als möglich verwendeten Methoden zur Zufallsauswahl, war am Ende die Teilnahme der ausgewählten ImkerInnen von deren Zustimmung zu der

Untersuchung abhängig. Dies führte dazu, dass überproportional viele ImkerInnen mit großem Interesse an Fortbildungen und hohem Ausbildungsgrad (ImkerfacharbeiterIn, ImkermeisterIn, WanderlehrerIn) in der Studie vertreten waren. Die Erfahrung in der Bienenhaltung reichte bei den teilnehmenden ImkerInnen vom Jungimker bis zu 71 Jahren an Imkerpraxis.

Besonders hervorzuheben ist, dass es bei der Auswahl der Imkereibetriebe keine Untergrenze für die Völkerzahl gab. Dadurch waren auch Betriebe mit zehn und weniger Völkern vertreten (zum Beispiel zwei Imkereien mit lediglich zwei Völkern). Damit können auch Aussagen über eine Imkergruppe gemacht werden, die mit 70% aller ÖIB-Mitglieder einen Großteil der österreichischen Imkerschaft ausmacht und die bisher in vergleichbaren ausländischen Studien nicht inkludiert wurde (Lodesani et al., 2013; Genersch et al., 2010).

Die vorliegende Auswahl der Bienenstände und -völker ermöglichte es, für Österreich einen Überblick zur Prävalenz der gemäß Bienensteuergesetz 1988 i.d.g.F. anzeigepflichtigen Bienenkrankheiten und ausgewählter nicht anzeigepflichtiger Bienenkrankheiten zu gewinnen. Weiters konnten dadurch differenzierte Aussagen zu den Winterverlusten 2015/2016 von Hobby- und BerufsimkerInnen in den einzelnen Bundesländern Österreichs, sowie bezüglich Zusammenhängen zwischen Winterverlusten und Betriebsfaktoren (Betriebsgröße, Betriebsart), imkerlicher Erfahrung, Ausbildung, Standeffekten und Maßnahmen der Varroabekämpfung gemacht werden.

3a.5.1 Prävalenz von Bienenkrankheiten

Aussagen zur Prävalenz der Bienenkrankheiten konnten aus den Ergebnissen dieser Studie ausschließlich österreichweit, aber nicht bundesländerbezogen, getroffen werden. Der Grund liegt darin, dass die erforderliche Anzahl von beobachteten Bienenständen für aussagekräftige Ergebnisse zum Auftreten von Krankheitssymptomen in einer geografischen Einheit zwar für Gesamtösterreich erreicht wurde, aber nicht auf der Ebene der einzelnen Bundesländer. Je weniger Bienenstände pro geografischer Einheit vertreten sind, desto unsicherer wird es, dass selten auftretende Krankheiten wirklich entdeckt werden. Die Beobachtungsstudie richtete sich hier nach der Vorgabe von EPILOBEE, die 193 Bienenstände pro geografischer Einheit vorsah, um das Auftreten von Krankheiten mit einer erwarteten Prävalenz von 15% (Konfidenzintervall: 10%-20%) zu erkennen (EU Reference Laboratory for Honeybee Health, 2011).

Hinsichtlich der gefundenen Prävalenz jener Krankheiten, die sich im Feld anhand der Symptome nicht immer klar von anderen Krankheiten mit ähnlichen Symptomen abgrenzen lassen, ergibt sich eine gewisse Unschärfe, da in derartigen Fällen nicht immer Verdachtsproben zur Untersuchung im Labor gezogen worden waren, sondern die Zuordnung ausschließlich anhand der Angaben der ProbenehmerInnen erfolgte.

3a.5.1.1 Prävalenz anzeigepflichtiger Krankheiten

3a.5.1.1.1 Amerikanische Faulbrut

Amerikanische Faulbrut wurde in der Beobachtungsstudie in den Sommermonaten (erster Besuch, 193 Stände) auf 1,0% der besuchten Bienenstände, im Herbst (zweiter Besuch, 190 Stände) auf keinem Stand und im Frühjahr 2016 (dritter Besuch, 188 Stände) auf 0,5% der Stände gefunden. Vergleicht man dies mit den EPILOBEE Daten der Nachbarländer (Chauzat et al., 2015; Laurent et al., 2016), trat Amerikanische Faulbrut in Österreich etwa gleich häufig wie in den Nachbarländern Ungarn (minimal - maximal gemessene Prävalenz: 0,0 - 1,5%) und Italien (minimal - maximal gemessene Prävalenz: 0,0-2,7%) auf. Sie trat etwas häufiger auf als in Deutschland, wo während

des gesamten EPILOBEE-Projekts in untersuchten Völkern kein Faulbrutfall gefunden worden war (minimal - maximal gemessene Prävalenz: 0,0-0,0%). Im Tiergesundheitsjahresbericht 2013 des Friedrich-Loeffler-Instituts wird für Deutschland ein Wert von < 0,6% angegeben (Schäfer, 2014).

3a.5.1.1.2 Tropilaelapsmilben und Kleiner Bienenstockkäfer

Tropilaelapsmilben (*Tropilaelaps* spp.) und der Kleine Bienenstockkäfer (*Aethina tumida*) wurden bei den drei Standbesuchen nicht gefunden, auch keine Anzeichen dafür.

3a.5.1.1.3 Varroose

Das Krankheitsbild der Varroose beschreibt einen Symptomkomplex, der durch den Befall mit der Varroamilbe und eine Infektion mit dem Bienenvirus DWV ausgelöst wird (Aupperle & Genersch, 2016). In der Beobachtungsstudie wurden die Symptome „Bienen mit deformierten Flügeln“, „Varroamilbe auf Biene“ und „Varroamilbe in Zelldeckel“ als Indikatoren für das Vorliegen von Varroose herangezogen. Verkrüppelte Flügel sind ein klinisches Symptom für den Befall mit DWV (Lamp et al., 2016). Die anderen beiden Symptome sind mit einer guten Sichtbarkeit der Varroa im Volk gleichzusetzen – in eine solchen Situation kann von einem hohen Varroabefall ausgegangen werden (Ritter, 1999).

Varroose wurde beim ersten und zweiten Standbesuch 2015 auf jeweils 21% der Bienenstände diagnostiziert. Beim dritten Standbesuch im Frühjahr 2016 war dieser Wert auf rund 9% gesunken. Ein solcher Rückgang war zu erwarten, da einerseits ein Teil der betroffenen Völker an der Varroose zugrunde gegangen war, und andererseits mit der Haupt- und Restentmilbung befalls-senkende Maßnahmen gesetzt worden waren, die präventiv den Ausbruch von Varroose verhinderten.

Die Daten des Varroabefalls auf Bienen zeigten, dass die Varroamilbe in ganz Österreich verbreitet und bei den Standbesuchen auf fast jedem Bienenstand zu finden war. Nur auf wenigen Ständen war kein Varroabefall in den Bienenproben der beprobten Völker nachweisbar (erster Besuch: 8% der Stände; zweiter Besuch: 3% der Stände). Für den dritten Besuch liegen keine Daten vor, da gemäß Projektplan keine Bienenproben für eine Varroauntersuchung entnommen worden waren. Da keine Brutproben untersucht wurden, die Varroa sich aber vorzugsweise in der verdeckelten Brut aufhält – sofern diese vorhanden ist –, kann mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass auch jene Stände, bei denen keine Varroamilben in den untersuchten Bienenproben gefunden wurden, mit Varroa befallen waren. Diese Annahme wird durch den Befund gestützt, dass sich in der Beobachtungsstudie die Zahl von Bienenständen mit 0% Varroabefall der Bienenprobe vom ersten auf den zweiten Besuch deutlich reduziert hat (von 48% auf 31%). Die naheliegende Erklärung ist, dass beim ersten Besuch im Sommer die Stockbienen allgemein geringer befallen waren, da sich die Varroamilben großteils in der Brut befunden haben. Dadurch sinkt bei niedrigem Varroabefall auch die Wahrscheinlichkeit, dass sich eine Varroamilbe in der entnommenen Bienenprobe befindet. In der Folge reduziert sich auch die Zahl positiver Varroanachweise in den entnommenen Bienenproben. Ein weiteres Indiz ist der Umstand, dass zwar die Proben einiger Bienenstände bei den Einzelbesuchen varroafrei waren, es aber unter den 190 beprobten Bienenständen in Österreich nur einen einzigen gab (= 0,5%; Salzburg), der bei beiden Besuchen in den Bienenproben keine Varroamilben hatte.

Die Varroosegefahr war zwischen Bienenständen in einer Region verschieden stark ausgeprägt, wie die breite Streuung des Varroabefalls zeigte. Auf 45% der Bienenstände, die beim zweiten

Standbesuch aufgesucht worden waren, war der Varroabefall bei allen Völkern im vertraglichen Rahmen geblieben oder durch die Hauptbehandlung auf ein vertragliches Maß gesenkt worden (Stände mit keiner Varroa oder niedrigem Varroadruck). Auf anderen Ständen war eine Mehrzahl der Völker einem durchgehend hohen Varroabefall ausgesetzt, wie die Detailanalysen im Kapitel 3a.4.4.4 zeigten. Mögliche Gründe für solch extreme Unterschiede können in der Art und Häufigkeit der Varroabehandlungen oder in Unterschieden der Betriebsweise oder des Betriebszwecks (Honig-, Jungvolkproduktion, Zuchtbetrieb) liegen. Die genannten Faktoren sind durch den Imker und die Imkerin steuer- bzw. beeinflussbar. Regionale und lokale Unterschiede der Umwelteinflüsse und des Kleinklimas sind weitere Faktoren, die über den Beginn oder das Ende der Brut-tätigkeit und die Dauer der brutfreien Periode, die Varroabefallsentwicklung beeinflussen können. Am Ende führt der Einfluss der genannten Faktoren dazu, dass es Gruppen von ImkerInnen mit unterschiedlich hohen Gesamtverlusten gibt.

Auf vielen Bienenständen befanden sich nur ein oder zwei Völker mit deutlich über der Schadensschwelle liegendem Varroabefall neben Völkern mit geringem Varroabefall. Hier können klimatische Bedingungen als Gründe für die hohen Befallsunterschiede ausgeschlossen werden, da die Standortbedingungen für alle Völker vergleichbar waren. In diesen Fällen können die Gründe dafür entweder in der individuellen Völkerführung und Varroabekämpfung oder in den speziellen Eigenschaften des befallenen Volkes (zum Beispiel Volk mit / ohne Schwarmabgang bzw. Brutpause) zu suchen sein. Auch starke Völker mit hoher Brut-tätigkeit weisen oft einen hohen Varroabefall auf.

Loftus et al. (2016) prüften experimentell, ob es Unterschiede im Überleben zwischen Bienenvölkern in kleinen Beuten ohne Schwarmkontrolle und solchen in großen Beuten mit Schwarmkontrolle (Durchsicht und Entfernen der Weiselzellen) gibt. Das Ergebnis zeigte, dass die Völker in kleinen Beuten öfter schwärmten, einen geringeren Varroabefall und weniger Krankheiten hatten und häufiger überlebten als die Völker in den großen Beuten.

Da sich bei stark varroabefallenen Völkern die Varroamilben verstärkt auf den Flugbienen aufhalten (Cervo et al., 2014), können durch Verflug solcher Bienen Varroamilben in andere Völker eingetragen werden. Eckvölker werden überproportional häufig von verfliegenen Sammlerinnen angefliegen, daher können diese auch einen stärkeren Varroaeintrag zeigen (Hüsing & Nitschmann, 1987). Eine ungewöhnlich hohe Varroazahl kann auch durch eine unvollständige Restentmilbung im vorhergehenden Winter bedingt sein, wenn in dem betreffenden Volk während der Behandlung noch Brut vorhanden war. Die Befallsunterschiede könnten aber auch durch genetische Unterschiede zwischen den Bienenvölkern bedingt sein. Diese Unterschiede zu erforschen und die erwünschten Eigenschaften durch Zucht zu selektieren, ist derzeitiger Fokus von zahlreichen Forschungs- und Zuchtprogrammen (Jungels, 2015; Spötter et al., 2016). Die von uns gefundenen Unterschiede bei Einzelvölkern könnten künftig als Ansätze für markergestützte Selektions- und Zuchtprogramme auf Varroaresistenz dienen.

3a.5.1.2 Prävalenz nicht anzeigepflichtiger Krankheiten

3a.5.1.2.1 Europäische Faulbrut (EFB)

Bei keinem der drei Standbesuche wurden Symptome gefunden. Damit ergibt sich auf Volks- und Standniveau eine klinische Prävalenz von 0%. Auch in den Berichten von EPILOBEE (Chauzat et al., 2015; Laurent et al., 2016) war die beobachtete klinische Prävalenz von EFB niedrig und bei keiner Visite höher als 8%. In nur 5 der 15 Länder mit vergleichbaren Daten war EFB in den beobachteten Völkern klinisch aufgetreten.

3a.5.1.2.2 Sackbrut

Sackbrutsymptome an der Bienenbrut waren beim ersten, zweiten und dritten Standbesuch bei 1,3%, 0,2% und 0,2% der Völker nachweisbar. Die entsprechenden Werte auf Standebene waren für die drei Standbesuche 7,3%, 1,6% und 1,6%. Das verstärkte Auftreten beim ersten Besuch steht mit der zu dieser Zeit größeren Brutmenge – verglichen mit den anderen beiden Besuchen –, in Einklang. Ein vermehrtes Auftreten des Sackbrut-Virus im Sommer wurde auch auf französischen Bienenständen beschrieben (Tentcheva et al., 2004). Für den Einfluss von Standeffekten auf das Auftreten von Sackbrut spricht, dass nur auf insgesamt 17 Ständen klinische Symptome diagnostiziert wurden, davon auf drei Ständen bei zwei Besuchen. Dieser Wert der klinischen Prävalenz von Sackbrut ist verhältnismäßig gering, verglichen mit Angaben aus anderen europäischen Ländern, bei denen jedoch nicht die Symptomatik der Völker erhoben worden war, sondern mit molekularbiologischen Methoden auf das Vorhandensein des Virus getestet wurde. Die dabei ermittelte Prävalenz des Sackbrutvirus lag in Deutschland bei 5,4% bis 15,4% der Völker (Genersch et al., 2010), in Italien bei etwa 33% der Völker (Porrini et al., 2016), in Frankreich zwischen 26% und 64% der Völker (Tentcheva et al., 2004) und in Belgien bei 19% der Völker (Ravoet et al., 2013).

3a.5.1.2.3 Kalkbrut

Kalkbrutsymptome waren beim ersten, zweiten und dritten Standbesuch bei 3,5%, 0,7% und 2,0% der Völker nachweisbar. Die entsprechenden Werte auf Standebene waren für die drei Standbesuche 14,0%, 4,2% und 10,4%. Das verstärkte Auftreten beim ersten Besuch steht mit der zu dieser Zeit größeren Brutmenge – verglichen mit den anderen beiden Besuchen –, in Einklang. Für den Einfluss von Standeffekten auf das Auftreten von Kalkbrut spricht, dass auf 15 Ständen entweder bei zwei oder allen drei Standbesuchen klinische Symptome diagnostiziert wurden. Bei den Standbesuchen 1, 2 und 3 hatte die Zahl der Stände mit Symptomen 27, 8 und 19 Stände betragen. Neben kleinklimatischen Standeffekten spielen für das Auftreten von Kalkbrut auch genetische Merkmale, die das Hygieneverhalten der Bienen beeinflussen, eine Rolle (Stanimirovic et al., 2008; Boecking et al., 2000).

3a.5.1.3 Übereinstimmung zwischen Krankheitssymptomen im Feld und Erregernachweis im Labor

Für eine sichere Krankheitsdiagnose im Feld ist entscheidend, dass die Symptome klar erkennbar und spezifisch für die jeweilige Krankheit sind. Dies trifft für Amerikanische Faulbrut, Sackbrut und Kalkbrut zu. Bei eindeutigem Sackbrut- und Kalkbrutbefall war daher auch keine Einsendung von Verdachtsproben für die Laboruntersuchung vorgesehen. Bei Amerikanischer Faulbrut (AFB) war die Ausgangslage anders. Da es sich dabei um eine anzeigepflichtige Krankheit handelt, die im Falle eines Ausbruches weitreichende Folgen für den betroffenen Betrieb und die Betriebe in der Umgebung hat (amtlich angeordnete Standsperrung, Sanierungs- und Desinfektionsmaßnahmen, Kontrolle aller Völker im 3 km Radius, Abschlussrevision), hatten die ProbenehmerInnen den Auftrag, auch Proben mit eindeutigen Symptomen der Amerikanischen Faulbrut zur Bestätigung der Felddiagnose in das AGES-Labor einzusenden. Bei den drei dazu eingesandten Brutproben konnte der Faulbruterreger im Labor nachgewiesen und das Ergebnis der Felddiagnose somit bestätigt werden.

Bei Verdacht auf andere Brutkrankheiten als AFB oder unklarer Symptomatik, war zur Durchführung einer Ausschlussuntersuchung analog vorzugehen. AFB oder EFB waren in keiner dieser

Proben nachweisbar. In zwei von drei Fällen, in denen die ProbenehmerInnen Angaben mit Kalkbrut- bzw. Sackbrutverdacht gemacht hatten, bestätigten die Laboruntersuchungen diese beiden Krankheiten. In einer weiteren Probe ohne spezifische Verdachtsäußerung konnte im Labor Kalkbrut festgestellt werden. In 14 Proben wurde Wachsmottenbefall festgestellt.

Dieses Ergebnis zeigt, dass im Feld bei den Brutproben eine klare Abgrenzung zwischen AFB und anderen Brutkrankheiten anhand der Symptome möglich war. Eine eindeutige Zuordnung zu den anderen Brutkrankheiten, bzw. zu Brutsymptomen als Folge von Wachsmottenbefall, war durch die ProbenehmerInnen aber nicht in jedem Fall möglich.

Bei den Bienenproben bestand nur ein schwacher Zusammenhang zwischen der im Feld aufgrund der Symptome erstellten Verdachtsdiagnose und dem Erregernachweis im Labor. Der Grund dafür liegt in unspezifischen Symptomen, die bei unterschiedlichem Erregerbefall auftreten können, wie zum Beispiel „Flügel deformiert“, „Bienen flugunfähig“, „Bienen tot vor dem Stock“, „Bienen mit *Varroa*“, „schwarzglänzende Bienen“. Für letzteres Merkmal kann es verschiedene Ursachen geben: Befall mit dem Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV; Ribière et al., 2010), Räuberei, erbliche oder ernährungsbedingte Schwarzsucht („Waldtrachtkrankheit“; Ritter, 1999). Auch bei Varroose können – neben dem Befall durch die Varroamilbe – noch andere Krankheitserreger (DWV) maßgeblich an den Begleitsymptomen beteiligt sein (Bowen-Walker et al., 1999; Traynor et al., 2016). Daher fielen auch die Laborergebnisse entsprechend unterschiedlich aus. Bei den drei Symptomen „Bienen tot vor dem Stock“, „Bienen flugunfähig“ und „Bienen verkotet“ konnte immer mindestens ein Erreger nachgewiesen werden. In unseren Ergebnissen wurden diese Symptome stets mit unterschiedlichen Erregern in Verbindung gebracht. Sie können daher als unspezifisches Signal dafür angesehen werden, dass das entsprechende Volk von einem oder mehreren Krankheitserregern befallen war. Beispielsweise lieferte bei etwa zwei Drittel der Proben mit dem Symptom „Bienen tot vor dem Stock“ die Untersuchung einen positiven Nachweis für *Nosema* spp. Anders war die Lage bei den Symptomen „Bienen schwarz-glänzend“, „Brut lückig“, „Flügel deformiert“ oder „Bienen mit *Varroa*“. Hier brachte die Laboruntersuchung für das jeweils genannte Symptom bei etwa je einem Drittel der Proben einen positiven Nachweis für ein Virus oder für *Nosema* spp. Bei zwei Drittel der Proben war der Laborbefund in Bezug auf die in der vorliegenden Studie untersuchten Erreger negativ.

Diese Ergebnisse zeigen, dass bei einem beträchtlichen Teil der mit Krankheitsverdacht eingesandten Bienenproben von Völkern mit auffälligen Symptomen, einer oder mehrere der untersuchten Erreger im Labor nachweisbar waren. Selbst bei den Proben mit negativem Laborbefund kann nicht ausgeschlossen werden, dass andere Krankheitserreger, die nicht im Untersuchungsumfang des vorliegenden Projektes enthalten waren, die beobachteten Symptome verursacht hatten. Für die Klärung möglicher Zusammenhänge von Krankheitssymptomen und Erregern ist es erforderlich, einerseits bereits bei der Probenahme darauf zu achten, dass die für spätere Laboruntersuchungen erforderliche Zahl symptomatischer Bienen gesammelt und eingeschickt wird. Andererseits sind im Anschluss daran umfassende Laboruntersuchungen nötig, um alle möglichen Krankheitserreger und Parasiten erfassen und eine sichere Aussage machen zu können. Dies ist aber auch eine Frage des zu leistenden Arbeitsaufwandes, der Untersuchungskosten und wer dafür aufzukommen hat. Während für die anzeigepflichtigen Bienenkrankheiten bei Einsendung über den zuständigen Amtstierarzt die Diagnosekosten im nationalen Referenzlabor gemäß Bienensteuergesetz vom Bund getragen werden, muss bei den nicht anzeigepflichtigen Krankheiten der Imker / die Imkerin selbst dafür aufkommen. Eine Ausnahme besteht nur dann, wenn ein finanziertes Projekt derartige Untersuchungen und die dafür anfallenden Kosten abdeckt.

3a.5.2 Völkerverluste

Ein Hauptaugenmerk der Beobachtungsstudie (Modul 3a) und der damit einhergehenden Posthoc-Analyse (Modul 3b) wurde auf die Erhebung der Winterverluste und die Identifizierung der Ursachen gelegt. Im Modul 3a wurde dabei der Einfluss verschiedener Betriebs-, Volks- und Standortfaktoren auf die Überwinterung untersucht. Für alle Fokusvölker lagen dazu Daten vor (zum Beispiel: Betriebsgröße, Standgröße, Standort, Standumgebung, Alter der Königinnen, imkerliche Ausbildung und Erfahrung, Varroabefall der Völker, etc.). Im Folgenden werden verschiedene Faktoren für Völkerverluste im Detail diskutiert.

3a.5.2.1 Sommerverluste

Die Verluste der Fokusvölker zwischen erstem und zweitem Standbesuch (Sommerverluste) waren mit 2,5% niedrig. Da die ProbennehmerInnen bei 9 (= 27%) der 33 in dieser Periode abgestorbenen Völkern Symptome von Varroose beobachtet hatten, ist zumindest bei den davon betroffenen Völkern die Ursache des Absterbens in einem zu hohen Varroabefall zu sehen.

3a.5.2.2 Winterverluste

Die Winterverluste 2015/2016 betragen – ohne Einrechnung weiseloser Völker – 7,5% auf Ebene des Beobachtungsstandes (95% Konfidenzintervall: 5,8 - 9,7%) und 7,6% auf Ebene der Fokusvölker (95% Konfidenzintervall: 5,7-10,0%). Unter Einrechnung der weiselosen Völker – um eine Vergleichbarkeit mit den Erhebungen im Rahmen der COLOSS-Studie zu erreichen (siehe Modul 1, „Wintersterblichkeit“: Kapitel 1.3.1) –, erhöhten sich die Winterverluste auf Ebene des Beobachtungsstandes auf 10,1% (95% Konfidenzintervall: 8,3 - 12,4%). Damit unterschieden sich die Völkerverluste nicht signifikant von den Werten der COLOSS-Studie, die auf der Basis einer anonymen Befragung erhoben wurden (8,1% Winterverlust; 95% Konfidenzintervall: 7,4-8,8%; Brodschneider et al., 2017).

Allgemein hatte ein Großteil aller ImkerInnen keine bis sehr geringe Verluste und wenige ImkerInnen hohe Winterverluste. Dabei hatten 72% aller Stände und 76% aller Betriebe einen Winterverlust zwischen 0% und 10%. In der COLOSS-Studie war eine ähnliche Verteilung der Verluste beobachtet worden: es hatten 68% aller teilnehmenden Betriebe Verluste unter 11% gemeldet (Abbildung 1.9).

In einer Befragung nach den vermuteten Ursachen der Winterverluste bei den Fokusvölkern hatten die an der Studie teilnehmenden Imker in 45% der Nennungen Varroa angegeben und in 25% Königinnenverlust. 23% nannten keinen Grund und 11% Hunger (= Futtermangel).

3a.5.2.2.1 Winterverluste und Standort des Bienenstandes

Global über alle Datensätze betrachtet, unterschieden sich zwischen den neun Bundesländern die Winterverluste der Beobachtungsstände nicht signifikant. Auch in der Winterverlustererhebung der COLOSS-Studie waren die Unterschiede zwischen den Bundesländern gering und lagen zwischen 5,1% (Tirol) und 11,5% (Niederösterreich, Wien; Brodschneider et al., 2017). In der COLOSS-Studie waren jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Bundesländern erkennbar, dies lag mit hoher Wahrscheinlichkeit an der größeren Stichprobe.

Ebenso war kein signifikanter Unterschied in der Überwinterung der Bienenvölker zwischen den Bienenständen der acht landwirtschaftlichen Hauptproduktionsgebiete in Österreich, bzw. der fünf für dieses Modul definierten Landnutzungscluster zu erkennen.

Da die Winterverluste in Cluster 3 mit der intensivsten ackerbaulichen Nutzung (medianer Anteil der ackerbaulichen Kulturarten im Flugkreis: Getreide 30%, Mais 15%, andere Ackerkulturen 7%, Ölfrüchte und Ölsaaten 7%, Eiweißpflanzen 1%; zusammen 60%) deutlich über den anderen Landnutzungsclustern lagen, erfolgte ein Vergleich der Verluste zwischen Cluster 3 und den anderen Clustern (Cluster 3 als Referenzkategorie) in einem neuen univariaten Modell. Dabei zeigte sich, dass in dem von Ackerbaukulturen dominierten Cluster 3 signifikant höhere Winterverluste aufgetreten waren als im Nadelwald dominierten Cluster 1 (mediane Anteile Nadelwald: 38%; Grünland: 19%). Zu den anderen Clustern zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Der Laubwald dominierte Cluster 2 (Medianer Gesamtanteil Laub-, Nadel-, Mischwald: 36%; Mais: 13%, Ölfrüchte: 3%), zeigte etwas niedrigere Winterverlusten als Cluster 3. Cluster 4 (medianer Anteil Grünland: 41%, Nadelwald: 16%) und Cluster 5 (medianer Anteil: 48% bebaute Fläche), in denen der Anteil an Ackerflächen deutlich geringer war, hatten tendenziell niedrigere Winterverluste als Cluster 3.

Auch im Modul 2b des Projekts „Zukunft Biene“ wurde eine Clusteranalyse zur Kategorisierung der Landnutzungstypen durchgeführt und mit der Wintersterblichkeit der COLOSS-Völker in Zusammenhang gebracht. Die Clusteranalyse aus Modul 2b ist nicht ident mit der vorliegenden Analyse (sechs statt fünf Cluster-Kategorien, anderer Einzugsbereich rund um den Bienenstand). Die einzelnen Cluster lassen sich einander jedoch ungefähr zuordnen (Vergleich: Tabelle 2.2 und Tabelle 3.12). So gibt es in beiden Clusteranalysen einen Landnutzungscluster mit hohem Anteil an Getreideanbau (zirka 30% Anteil an der Gesamtfläche; Modul 2b: Cluster 2; Modul 3a: Cluster 3). In diesem landwirtschaftlich stark genutzten Cluster wurde in beiden Auswertungen eine erhöhte Wintersterblichkeit der Völker verzeichnet (Tabellen 2.3 und 3.24). Ebenso wurde in beiden Analysen ein Zusammenhang zwischen naturnahen Landnutzungsclustern und einer verbesserten Überwinterung festgestellt (Modul 2b: Cluster 4 und Cluster 6; Modul 3b: Cluster 1 und Cluster 4). In der Analyse des Moduls 2b wurde auch ein Zusammenhang zwischen städtischen Gebieten und erhöhter Wintersterblichkeit gefunden, dieser Zusammenhang ist in der Beobachtungsstudie nicht zu finden.

3a.5.2.2.2 Winterverluste und Eigenschaften des Standes und des Betriebes

Bezogen auf die Beobachtungsstände, hatte die Betriebsgröße keinen signifikanten Effekt auf die Höhe der Winterverluste. Bezogen auf die Völker des Gesamtbetriebes, waren die Winterverluste in kleineren Betrieben signifikant höher als in größeren Betrieben. Auf Standebene war der gleiche Trend erkennbar, der Effekt der Betriebsgröße war jedoch nicht signifikant. Der Unterschied im Signifikanzlevel zwischen Betriebsebene und Standebene ist durch die unterschiedlich große Stichprobe zu erklären. Auf Betriebsebene waren Daten von vier Mal so vielen Völkern vorhanden als auf Standebene.

Der Zusammenhang zwischen Betriebsgröße und Überwinterungserfolg wird in dem Datensatz der österreichischen COLOSS-Studie bestätigt, auch hier hatten größere Betriebe geringere Verluste als ImkerInnen mit wenigen Völkern (Tabellen 1.13 und 2.4). In der europaweiten Studie EPILOBEE, den jährlichen europäischen Winterverlustenerhebungen von COLOSS sowie einer amerikanischen Studie wurden in den großen Betrieben ebenfalls signifikant weniger Winterverluste verzeichnet als bei kleinen Imkereibetrieben (Brodschneider et al., 2016, Chauzat et al.,

2016; Lee et al., 2015, van der Zee et al., 2010, 2014). Eine Erklärung hierfür könnte in Unterschieden in der Völkerführung liegen. Große Imkereien sind – im Gegensatz zu Kleinimkereien mit wenigen Dutzenden Völkern – als gewinnorientierte Betriebe aufgebaut. Diese besitzen daher zwangsläufig einen hohen Grad an Professionalität und Erfahrung. Diese zwei Faktoren sollten sich positiv auf die Überwinterung der Völker auswirken. Diese Hypothese wird auch durch den positiven Effekt der Dauer der imkerlichen Erfahrung auf die Überwinterung der Völker bestätigt.

Auch die Standgröße hatte einen signifikanten Einfluss auf die Überwinterung der Völker. Größere Stände hatten einen halb so großen Anteil an toten Völkern während der Überwinterung wie kleine Stände. Dieser Zusammenhang wurde auch in der EPILOBEE-Studie festgestellt (Chauzat et al., 2016), Wieder könnte die Professionalität eine Erklärung für dieses Ergebnis darstellen, wenn man davon ausgeht, dass große Imkereibetriebe auch große Stände besitzen.

Hinsichtlich der Bewirtschaftungsart der Bienenvölker wurde weder auf Stand- noch auf Betriebsebene ein Unterschied im Überwinterungserfolg zwischen konventioneller und biologischer Betriebsweise gefunden. Da für die Varroabekämpfung sowohl in den konventionellen als auch den Biobetrieben auf den meisten Ständen Ameisen- bzw. Oxalsäure eingesetzt werden, ist dieses Ergebnis nicht sehr überraschend.

In der Beobachtungsstudie zeigte sich zwischen den im Frühjahr 2015 gewanderten und den nicht gewanderten Völkern kein signifikanter Unterschied in der Wintersterblichkeit 2015/16. Hauptziele der Wanderungen waren Blütentrachten aus Robinie (fünf Stände), Alpenrose (fünf Stände), Raps (drei Stände) und Sonnenblume (zwei Stände) oder Waldtrachten (12 Stände). In einigen Fällen wurden zwei aufeinanderfolgende Wanderungen durchgeführt. In einigen Studien wurde festgestellt, dass Völker, mit denen gewandert wurde, besser überwintern, als Völker, die das ganze Jahr auf dem gleichen Stand verbracht haben (Österreich: COLOSS-Studie; Tabellen 1.13 und 2.4; Europa: Chauzat et al., 2016; USA: Lee et al., 2015). Dabei wurden die geringeren Verluste bei den Wandervölkern in der USA auf den signifikant geringeren Varroabefall im Vergleich zu den stationären Völkern zurückgeführt (Traynor et al. 2016).

Die Höhe der Winterverluste reduzierte sich mit der imkerlichen Erfahrung, das heißt mit der Dauer der Ausübung der imkerlichen Tätigkeiten. Auf Betriebsebene war dieser Effekt zwischen Imkerinnen und Imkern mit bis zu 10 Jahren und mehr als 30 Jahren an imkerlicher Erfahrung statistisch gesichert. Auf Ebene der Beobachtungsstände war ein gleich laufender Trend erkennbar, aber statistisch nicht gesichert. Ein ähnliches Ergebnis wurde in der europaweiten Studie EPILOBEE ermittelt, in der das Alter der ImkerInnen abgefragt wurde. In EPILOBEE hatten ImkerInnen zwischen 45 und 65 Jahren die geringsten Winterverluste (Chauzat et al., 2016). Nun kann man annehmen, dass ImkerInnen dieser Altersklasse erfahrene ImkerInnen darstellen, die in ihrer Jugend mit dem Imkern begonnen haben und die geringen Winterverluste im Zusammenhang mit den vielen Jahren an Erfahrung stehen.

Unerwarteterweise hatte unter den Studienteilnehmern die Art und die Anzahl der durchlaufenen Ausbildungsschritte keinen Einfluss auf die Höhe der Winterverluste. Der Anteil an toten Völkern auf dem Beobachtungsstand unterschied sich nicht signifikant zwischen ImkerInnen ohne Ausbildung, mit nur einem absolvierten Grundkurs oder mit absolvierten Aufbaukursen von jenen mit Berufsausbildung bzw. Wanderlehrausbildung. Gleiches war auf Betriebsebene zu beobachten.

Die teilnehmenden ImkerInnen zeichneten sich durchwegs durch einen hohen Ausbildungsgrad aus. Nur 11% der TeilnehmerInnen hatten gar keine Kurse belegt, während 37% der TeilnehmerInnen eine imkerliche Berufsausbildung vorweisen konnten (Abbildung 3.7). Zusätzlich gab ein

Großteil der ImkerInnen an, regelmäßig Vorträge und Vereinsabende zu besuchen bzw. an Schulungen teilzunehmen (Abbildung 3.8). Wahrscheinlich war daher der Anteil der unerfahrenen und uninformatierten ImkerInnen in der Stichprobe zu klein um Unterschiede im Überwinterungserfolg auf den Grad der Ausbildung erfassen zu können. Es ist anzunehmen, dass das hohe Grundinteresse der StudienteilnehmerInnen durch die Freiwilligkeit der Studienteilnahme bedingt ist.

Eine weitere Erklärung für den nicht vorhandenen Effekt der Ausbildung könnte darin liegen, dass im Winter 2015/16 ausgezeichnete Bedingungen für die Überwinterung der Bienenvölker gegeben waren. Immerhin wurden im Winter 2015/16 die bisher niedrigsten Winterverluste seit Beginn der COLOSS-Studie im Jahr 2007 beobachtet (Brodtschneider et al., 2017). Damit ist anzunehmen, dass ein geringer Varroabefall in den österreichischen Bienenvölkern geherrscht hat bzw. die Bedingungen für eine hohe Wirksamkeit der Varroabehandlungen gegeben waren. In so einer Situation hätten die Stärken einer guten Ausbildung nicht ausgespielt werden können.

Bei normaler Varroapopulationsentwicklung und erwartungsgemäßer Wirkung der Bekämpfungsmaßnahmen sollten gut ausgebildete ImkerInnen aufgrund korrekt gesetzter Varroabekämpfungsmaßnahmen im Vorteil sein und weniger Winterverluste erleiden. In Jahren mit starker Befallsentwicklung (langes Brüten im Herbst des Vorjahres, früher Brutbeginn im laufenden Jahr) und unzureichender Wirkung der Bekämpfungsmaßnahmen durch zu kühles Wetter bei Verwendung von Ameisensäure- oder Thymolpräparaten, wären die Möglichkeiten wirksamer befallssenkender Maßnahmen selbst für gut ausgebildete ImkerInnen sehr beschränkt, sodass stärker belastete Völker bereits im Herbst oder über den Winter absterben. Letzterer Fall würde bedeuten – und ist in der Praxis immer wieder zu beobachten – dass durch *Varroa* bedingte Verluste jeden Imker / jede Imkerin treffen können, unabhängig von seinem Ausbildungsstand.

Die Studie kann keine Aussagen über die Auswirkungen der in den letzten Jahren gesetzten Ausbildungsinitiativen zur Förderung der Bienengesundheit und Verbesserung der Wirksamkeit der Varroabekämpfung treffen. Im Fragebogen wurden generelle Ausbildungsschritte, jedoch nicht der Zeitpunkt der letzten Kursteilnahme oder der Besuch einer Varroa-Schulung mit dem Inhalt „Biologie und Bekämpfung der Varroamilbe“, abgefragt. An und für sich sind Biologie und Bekämpfung der Varroamilbe fixe Bestandteile der imkerlichen Berufsausbildung (Facharbeiter-, Meisterkurse), aber auch der Grund- und Aufbaukurse und der Wanderlehrerfortbildung. Allerdings ist eine regelmäßige Auffrischung des Wissens unbedingt erforderlich um erfolgreich imkern zu können.

3a.5.2.2.3 Winterverluste und Varroabefall der Völker

Zwischen dem Varroabefall der Bienen beim ersten und zweiten Standbesuch im Jahr 2015 und den beobachteten Winterverlusten bestand ein eindeutiger Zusammenhang.

Völker mit erhöhtem Varroabefall auf Bienen im Juli 2015 hatten eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit bis zum Frühjahr 2016 abzusterben als Völker mit geringem Varroabefall. Wurden im Juli erhöhte bis stark erhöhte Varroabefallswerte (1 bis 10% Milbenbefall, bzw. über 10% Milbenbefall) gemessen, stieg die Wahrscheinlichkeit eines Volksverlustes bis zum Frühjahr 2016 um das Drei- bis Fünffache im Vergleich zu Völkern, in deren Bienenproben keine Varroamilben vorhanden waren.

Ebenso waren Symptome der Varroose signifikant öfter bei abgestorbenen Völkern als bei überlebenden Völkern zu finden. Die ProbenehmerInnen gaben bei 9 der 33 Sommergeverluste (27% der Völker) an, Varroose-Symptome beobachtet zu haben. Varroose-Symptome waren in 12% der im Winter abgestorbenen Völker zu finden (15 von 127 Völkern). Im Gegensatz dazu war bei den

überlebenden Völkern nur bei 4% (58 von 1431 Völkern) im Zuge der Völkerinspektion im Juli 2015 Varroose diagnostiziert worden.

Bei der Interpretation des Zusammenhangs zwischen dem Varroabefall im Sommer und den Verlusten in der darauffolgenden Wintersaison ist zu bedenken, dass schwer geschädigte Völker teilweise schon vor der Einwinterung gestorben oder vom Imker / von der Imkerin aufgelöst worden waren. So starben in beiden Gruppen mit einem Varroabefall über 1% etwa ein Drittel der insgesamt abgestorbenen Völker schon im Sommer 2015. Diese Völker flossen daher nicht in die Analyse der Winterverluste ein, waren jedoch für den Imker / die Imkerin genauso verloren. Daher sollte in der Praxis auch den Sommerverlusten im Hinblick auf eine Varroaproblematik mehr Augenmerk geschenkt werden.

Die Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes unter den Völkern der Beobachtungsstudie erhöhte sich signifikant mit steigendem Varroabefall der Bienen im vorangegangenen Herbst. Während bei 0% Varroamilben auf Bienen die Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes 1,1% betrug, stieg sie bei 20% Milbenbefall auf 22,3%. Ab 28% Milbenbefall auf Bienen konnte man von einer 50%-igen Verlustwahrscheinlichkeit für dieses Volk ausgehen. Ebenso hatten Völker, die im Winter 2015/16 gestorben waren, im September 2015 dreimal so häufig Anzeichen von Varroose wie überlebende Völker.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Varroamilbe in Österreich einen ähnlich schädlichen Einfluss auf die Überwinterungsfähigkeit der Bienenvölker hat wie in anderen Ländern Europas und den USA (Deutschland: Genersch et al., 2010; Schweiz: Dainat et al., 2012; Belgien: Ravoet et al., 2013; USA: Traynor et al., 2016). Auch in der EPILOBEE-Studie sind Anzeichen von Varroose im Volk mit einer hohen Wahrscheinlichkeit von Winterverlusten gekoppelt (Chauzat et al., 2016).

Die bei der Beratung der ImkerInnen verwendete Schadensschwelle von 1% Milbenbefall auf Bienen beim Sommertermin und 3% Milbenbefall auf Bienen beim Herbsttermin wurde bestätigt (Büchler et al., 2006; Büchler, 2008; Lodesani et al., 2014). War der Milbenbefall der Bienen im Juli über 1%, dann war die Wahrscheinlichkeit signifikant höher als bei 0% Milbenbefall, dass das Volk entweder schon im Sommer oder bei der Überwinterung abstarb. Betrug der Milbenbefall der Bienen im Herbst über 3%, war die Wahrscheinlichkeit über den Winter abzusterben signifikant höher als bei einem Milbenbefall unter 3%.

3a.5.2.2.4 Winterverluste und Eigenschaften der Völker

Einen entscheidenden und signifikanten Einfluss auf die Höhe der Winterverluste hatte das Alter bzw. die Qualität der Königin. Völker mit jungen Königinnen überwinterten signifikant häufiger erfolgreich als Völker mit Königinnen, deren Alter zwei oder mehr Jahre betrug, oder bei denen vor der Einwinterung Königinnenprobleme beobachtet oder vermutet worden waren. Nur in der Gruppe der Problemfälle bestand in der vorliegenden Studie die signifikante Wahrscheinlichkeit, dass die 10% Grenze der für die ImkerInnen noch tolerablen Winterverluste überschritten wurde.

Dass Bienenvölker mit jungen Königinnen signifikant bessere Überwinterungschancen hatten als solche mit älteren Königinnen, war auch ein klares Ergebnis im Deutschen Bienenmonitoring (Genersch et al., 2010) und der COLOSS-Studie über die Winterverluste im Winter 2012/13 (van der Zee et al., 2014). Ebenso zeigte sich sowohl in der österreichischen als in einer internationalen COLOSS-Studie, dass es in Imkereibetrieben mit häufigen Königinnenproblemen zu höheren Winterverlusten kommen kann (Modul 1; Abschnitt 1.4.6.6.11 Königinnen-Probleme; van der Zee et al., 2014).

Zwischen der Volksstärke im Herbst und dem Absterben eines Volkes bestand ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang. War ein Volk beim zweiten Bienenstandbesuch im Herbst als „sehr schwach“ beurteilt worden, war dessen Wahrscheinlichkeit für ein Absterben über den Winter mit 7,8% etwa viermal so hoch, wie bei einer Bewertung als „normal groß“ (1,8%) oder „sehr stark“ (1,4%). Bei als „normal“ und „sehr stark“ beurteilten Völkern lag die Wahrscheinlichkeit abzusterven signifikant unter der von Imkern als noch akzeptabel betrachteten Verlustrate von 10% (Abbildung 3.50 B rote Linie). Nur bei als schwach beurteilten Völkern konnte der Ausfall auch über der 10%-Grenze liegen. Aus dem Deutschen Bienenmonitoring wird ebenfalls berichtet, dass im Herbst starke Völker besser überwintern als schwache (Genersch et al., 2010).

Wirtschafts- und Jungvölker unterschieden sich in der vorliegenden Studie in der Wahrscheinlichkeit der Wintersterblichkeit nicht signifikant. Dieses Ergebnis ist etwas überraschend, da Jungvölker in der Regel eine junge Königin und meist auch weniger Varroamilben haben als Altvölker.

3a.5.2.2.5 Multivariates Modell

Um aus der Fülle von erhobenen Daten die für Winterverluste wichtigsten Parameter zu identifizieren, wurde – auf Basis der Ergebnisse univariater Voranalysen für einzelne Faktoren – ein multivariates Modell der Winterverluste erstellt und statistisch getestet.

Als signifikante Einflussfaktoren auf das Absterben der Völker in der Überwinterungsperiode 2015/16 konnten der Varroabefall beim zweiten Besuch, die Erfahrung des Imkers/der Imkerin in Jahren, das Königinnenalter und die Volksstärke beim zweiten Besuch identifiziert werden. Der Varroabefall beim zweiten Besuch zeigte einen starken Zusammenhang mit der Wintersterblichkeit. Mit steigender Erfahrung des Imkers/der Imkerin sank auch die Wintersterblichkeit der Völker. Völker mit Königinnen aus einem Jahr vor 2014 hatten eine statistisch signifikant geringere Wahrscheinlichkeit den Winter zu überleben als Völker mit Königinnen aus den Jahren 2014 oder 2015. Starke oder normale Völker hatten eine signifikant bessere Überlebensrate als schwache Völker.

Diese Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen anderer großangelegter europäischer Studien. Dies ist insofern von Bedeutung, da die Beobachtungsstudie den Datensatz eines Jahres darstellt und die Ergebnisse daher nicht automatisch generalisiert werden können. Der negative Einfluss von hohem Varroabefall auf die erfolgreiche Überwinterung wurde sowohl in EPILOBEE, dem Deutschen Bienenmonitoring (DEBIMO), dem niederländischen und dem belgischen Monitoring demonstriert (Chauzat et al., 2016; Genersch et al., 2010; van der Zee et al., 2015). Im DEBIMO sowie der COLOSS-Studie wurde ebenfalls gezeigt, dass starke Völker im Herbst und Völker mit einer jungen Königin eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit hatten (Genersch et al., 2010, van der Zee et al., 2014).

3a.5.2.2.6 Einfluss des Bienenstandes

Bei allen Berechnungen auf Volksebene wurde zusätzlich zu den getesteten Variablen ein Standeffekt (random factor: „Standidentität“) miteinberechnet. Der Standeffekt berücksichtigt, dass alle Völker auf einem Stand eine gemeinsame Geschichte haben, die sie gleich oder ähnlich beeinflusste (Wetter, imkerliche Behandlung, Pollen- und Honigversorgung, Pestizidbelastung, Krankheiten, Landnutzung im Umkreis, Herkunft der Geschlechtstiere, etc.). Diese gemeinsame Geschichte kann neben dem getesteten Faktor auch einen Einfluss auf die Sterblichkeit der Völker haben.

Der random factor „Standidentität“ ist sowohl in den univariaten Modellen als auch im multivariaten Modell eingebaut und verbessert die einzelnen Modelle signifikant. Das zeigt, dass keines der dargestellten Modelle die Variation in der Wintersterblichkeit zwischen den einzelnen Ständen vollständig erklärt. Dies ist in zweierlei Hinsicht bedeutsam: Einerseits bedeutet es, dass das multivariate Modell nicht alle Auslöser der Wintersterblichkeit im Winter 2015/16 enthält. Andere, in der Beobachtungsstudie nicht aufgenommene Faktoren wie Wetter, Pollenversorgung oder Pestizidbelastung könnten zusätzliche erklärende Faktoren für die Wintersterblichkeit der Völker sein.

Andererseits wird klar ersichtlich, dass gerade bei geringem Varroabefall weitere erklärende Faktoren hinzukommen müssen, um das Absterben des Volkes zu erklären. Ein Beispiel dafür ist die Verbesserung des univariaten Modells, das den Zusammenhang zwischen Varroabefall im September und Wintersterblichkeit beschreibt, durch den random factor „Standidentität“.

Steigt der Varroabefall jedoch über 10%, reicht alleine der Befall durch Varroamilben aus, um den Ausfall des Volkes zu erklären. Hier ist zu beachten, dass bei hohem Varroabefall – mit dem Krankheitsbild der Varroose –, auch mit einem Befall durch das DWV-Virus zu rechnen ist. Diese zusätzlichen Effekte sind im dargestellten Effekt des Varroabefalls mit eingeschlossen, da sie stark mit der Höhe des Varroabefalls korrelieren.

Neben Wechselwirkungen zwischen Varroa und Viren, wie sie für zusammenbrechende Völker von Francis et al. (2013) beschrieben wurden, können solche auch durch Akarizidbehandlungen ausgelöst werden. Locke et al. (2012) konnten zeigen, dass der Einsatz von Apistan (Wirkstoff: tau-Fluvalinat) sowohl den Varroabefall als auch die Physiologie der Bienen beeinflusste. Nach Behandlungsbeginn stieg der DWV-Titer an, um dann mit der Abnahme der Varroapopulation leicht abzusinken. Dieser anfängliche Anstieg des DWV-Titers könnte ein Hinweis darauf sein, dass Fluvalinat einen Einfluss auf die Virusempfindlichkeit der Bienen hat. In den behandelten Völkern blieb bei Bienen oder Puppen ohne Varroabefall der DWV-Titer weiterhin höher als in den nicht mit Apistan behandelten Völkern. Francis et al. (2013) kamen nach ihren Untersuchungen in Dänemark zum Schluss, dass Infektionen mit DWV, ABPV, KBV und IABPV in Dänemark eine wichtige Rolle bei Völkerverlusten spielen. In vielen Fällen halfen Akarizidanwendungen nur, die Varroabelastung und den Virustiter in begrenztem Umfang zu senken, aber sie bewirkten keine signifikante Reduktion in der Prävalenz viruskranker Bienen. Das bedeutet, die Völker können auch ohne hohen Varroabefall absterben.

3a.5.3 Maßnahmen zur Reduktion des Varroabefalles

Die Ergebnisse der Erhebungen zur Art und Durchführung der getroffenen Maßnahmen zur Varroabekämpfung zeigten einerseits den hohen Aufwand und die großen Anstrengungen der ImkerInnen, um Völkerverluste, zu vermeiden. Andererseits bestand eine große Diversität zwischen den Imkereibetrieben. Dies gilt sowohl für biotechnische und medikamentöse Maßnahmen (eingesetzte Wirkstoffe oder Tierarzneimittel) als auch den Anwendungszeitpunkt, die Jahreszeit der Durchführung und den Volkszustand (Anwendung in Völkern mit bzw. ohne verdeckelte Brut). Dadurch ergaben sich viele verschiedene Behandlungsgruppen mit jeweils nur einer geringen Zahl an Fällen, was in der Folge die Möglichkeit der statistischen Auswertung und Aussagekraft der Ergebnisse einschränkte.

Ein klares Ergebnis war, dass die überwiegende Mehrheit der ImkerInnen mehrere kombinierte Maßnahmen zur Varroabekämpfung einsetzte. Bei den biotechnischen Maßnahmen waren dies die Entnahme verdeckelter Drohnenbrut (knapp 70% der Betriebe), die totale oder teilweise

Brutentnahme (37% der Betriebe) – zum Teil in Kombination mit einer Oxalsäureanwendung –, und in geringer Anzahl die Wärmebehandlung. Bei den medikamentösen Maßnahmen war Oxalsäure der am häufigsten eingesetzte Wirkstoff (98% der Betriebe), gefolgt von Ameisensäure (85% der Betriebe) und Thymol (23% der Betriebe). Andere Wirkstoffe wurden nur in Einzelfällen genannt.

Auch die österreichischen ImkerInnen der COLOSS-Studie verwendeten in erster Linie Oxalsäure und Ameisensäure zur Varroabehandlung (Modul 1). Dabei wurde am häufigsten im Laufe des Jahres eine Kombination aus Ameisensäure und Oxalsäure angewandt (75% aller ImkerInnen). Nur 18% der ImkerInnen der COLOSS-Studie gaben an, Thymolpräparate zur Varroabekämpfung einzusetzen. Drohnenbrutschneiden wurde von 63% der ImkerInnen der COLOSS-Studie durchgeführt. Der Vergleich zwischen Beobachtungsstudie und COLOSS-Studie zeigt, dass die Muster der Varroabekämpfungskonzepte in beiden Befragungen sehr ähnlich sind. Da die Daten in beiden Projekten unterschiedlich und unabhängig voneinander erhoben wurden, ist die Ähnlichkeit ein Indiz dafür, dass beide Datenaufnahmen die typischen Behandlungskonzepte der österreichischen ImkerInnen abbilden.

Bei den Einsatzzeiten gab es – entsprechend den Eigenschaften des Wirkstoffes und den Anforderungen für eine hohe Wirksamkeit (erforderliche Außentemperatur für eine gute Wirkung, Volk brutfrei oder mit vorhandener Brut) – unterschiedliche Schwerpunkte. Ameisensäure und Thymol kamen am häufigsten im Sommer zur Anwendung, Oxalsäure wurde überwiegend im Winter und in geringerem Umfang auch im Sommer eingesetzt. Auf 82% der Stände wurde die Oxalsäure durch Träufeln appliziert, auf 36% der Stände durch Verdampfung und nur selten durch Versprühen oder Vernebeln (7%). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der österreichischen COLOSS-Studie (Modul 1; Tabelle 1.4). Hier wurde am häufigsten geträufelt (Bienenwohl: 43% der Betriebe; anderes Präparat 28% der Betriebe). Bei 36% der Betriebe wurde Oxalsäure durch Verdampfen in das Volk eingebracht.

Der Einsatz der Ameisensäure erfolgte entweder als Kurzzeit- oder Langzeitanwendung mit verschiedenen Verdunstungssystemen. Bei der Kurzzeitanwendung dominierte das Schwamm-tuch, bei der Langzeitanwendung der Liebig-Dispenser, gefolgt vom Universal- und Nassenheider-Verdunster. Für die Wahl des Verdunstungssystems spielen bestimmte betriebliche Gegebenheiten (Beutentyp, verfügbare Gerätschaften, etc.), die Bienen- und Brutverträglichkeit und persönliche Präferenzen eine Rolle. Rechtlich gibt es nur die Vorgabe, dass ein zugelassenes Ameisensäurepräparat eingesetzt werden muss.

Im Hinblick auf den Varroabefall der Bienen beim ersten Standbesuch zeigte sich, dass durch die Entnahme gedeckelter Drohnenbrut das Auftreten besonders stark befallener Völker im Juli verhindert werden kann. Drohnenbrutentnahme hatte jedoch in der COLOSS-Studie keinen Einfluß auf die Überwinterung der Völker (Tabelle 1.13).

Nach Durchführung der Hauptentmilbung mit Ameisensäure-, Oxalsäure- oder Thymolpräparaten gab es beim zweiten Standbesuch im September 2015 keine signifikanten Unterschiede in den Medianwerten des Bienenbefalls mit Varroamilben zwischen den Ständen (Ameisensäure: 0,5%; Oxalsäure: 1,0%; Thymol: 0,6%). Dieses Ergebnis kann so interpretiert werden, dass mit diesen drei eingesetzten Wirkstoffen und den zur Hauptentmilbung durchgeführten medikamentösen Bekämpfungsmaßnahmen das Ziel einer Absenkung des Varroabefalles erreicht worden war. Beim Einsatz von Oxalsäure, die laut Gebrauchsinformation nur in brutfreien Völkern eingesetzt werden sollte, halfen zusätzliche biotechnische Maßnahmen (zum Beispiel Brutentnahme, Sperren der Königin) um Brutfreiheit zu erreichen und eine hohe Wirksamkeit zu erzielen.

Entgegen den Erwartungen zeigte sich kein signifikanter Effekt des Beginns der Hauptentmilbung (Juli, August oder September) auf die Höhe der Medianwerte des Varroabefalles im Herbst beim zweiten Standbesuch.

Auf Ständen mit einer Langzeitanwendung von Ameisensäure hatten die Bienenvölker nach der Hauptentmilbung mit 0,3% einen signifikant niedrigeren Medianwert des Bienenbefalls als Völker mit Kurzzeitanwendungen (0,8%). Die in beiden Gruppen niedrigen Befallswerte nach der Hauptentmilbung sind als Indiz für eine gute Wirksamkeit der Anwendungen im untersuchten Projektzeitraum zu werten. Unter Berücksichtigung einer erneuten Varroavermehrung bis zum Eintritt der Brutfreiheit im Spätherbst-Winter, der zu erwartenden Wirksamkeit einer Restentmilbung und der daraus resultierenden Varroa-Startpopulation zu Beginn der nächsten Brutperiode, können aber auch solche geringen Befallsunterschiede für das Varroose-Risiko – und damit für die Volksentwicklung und Trachtnutzung im Folgejahr – bereits eine Rolle spielen.

Interessanterweise zeigte sich in der COLOSS-Studie in zwei von drei Projektwintern (2013/14; 2014/15), dass bei Einsatz von Langzeitbehandlungen von Ameisensäure signifikant geringere Winterverluste aufgetreten sind als bei Kurzzeitbehandlungen (Tabelle 1.13 und Abschnitt 1.4.6.6.4 Ameisensäure-Behandlung). Im Winter der Beobachtungsstudie (2015/16) wurde in der COLOSS-Studie kein signifikanter Unterschied festgestellt, eventuell aufgrund der geringen Verluste in dem betreffenden Winter. Es stellt sich daher die Frage, ob in einem Winter mit höheren Winterverlusten und damit eventuell höherer Varroabelastung im Sommer davor die in der Beobachtungsstudie beschriebenen Unterschiede im Effekt der Lang- bzw. Kurzzeitbehandlung nicht ausgeprägter gewesen wären als in den vorliegenden Ergebnissen.

Bei einer Langzeitwendung der Ameisensäure zur Hauptentmilbung hatte die verabreichte Menge einen Einfluss auf den Varroabefall der Bienen zum Zeitpunkt des zweiten Standbesuches im Herbst 2015. Der Medianwert des Bienenbefalls war signifikant niedriger, wenn im Mittel über 100 mL pro Volk eingebracht worden waren, verglichen mit einer Menge von unter 100 mL pro Volk. Bei der Kurzzeitanwendung bestand dieser mengenbezogene Unterschied nicht. Zwischen den Gruppen bis zu 100 mL Gesamtmenge/Volk und über 100 mL/Volk gab es keine signifikanten Unterschiede im Varroabefall der Bienen beim zweiten Standbesuch. Weder die Gesamtmenge der mit Kurzzeitbehandlungen eingebrachten Ameisensäuremenge, noch die Häufigkeit derartiger Anwendungen, hatten einen signifikanten Einfluss.

Bei der Kurzzeitbehandlung war die Menge an eingebrachter Ameisensäure pro Woche entscheidend für eine effektive Behandlung. Der Zusammenhang zwischen Menge an Ameisensäure pro Woche und Milbenbefall auf Bienen im Herbst war signifikant. D.h., um eine entsprechende Wirkung zu erzielen, ist eine Mindestmenge zwischen 25 und 50 mL pro Volk und Woche erforderlich. Da es sich ja um eine Kurzzeitbehandlung handelt, sollte die Aufwandmenge pro Behandlung und Volk zumindest dieses Volumen erreichen. Die Menge hängt auch von der Volksstärke und vom Beutentyp ab, wie in den Gebrauchsanweisungen der verschiedenen Ameisensäureverdunster angegeben ist.

3a.5.4 Bisheriger Nutzen der Beobachtungsstudie für die Imker

Aus den Ergebnissen der Studie lassen sich klare Prioritäten ableiten, wo anzusetzen ist, um in Zukunft Winterverluste von Bienenvölkern zu reduzieren bzw. so weit als möglich zu vermeiden. Der erste Ansatzpunkt dazu ergibt sich aus den ermittelten Prävalenzen der untersuchten anzeigepflichtigen und nicht anzeigepflichtigen Krankheiten. Diese zeigten klar, dass Varroose das auf den

Bienenständen am häufigsten beobachtete Krankheitsbild darstellte, das in einem Teil der Völker bereits bei der Frühjahrsinspektion beobachtet wurde. Verglichen damit, spielten andere Bienenkrankheiten (Kalkbrut, Sackbrut, Nosemose) und auch die Amerikanische Faulbrut, nur eine untergeordnete Rolle. Europäische Faulbrut, Kleiner Bienenstockkäfer und Tropilaelapsmilben wurden auf keinem Bienenstand nachgewiesen. Weitere Ansatzpunkte lieferte das multivariate Modell, das den Varroabefall im Herbst, junge Königinnen in den Völkern und eine gute Volksstärke als die Faktoren mit dem stärksten Einfluss auf die erfolgreiche Überwinterung identifizierte.

Für die Imkerpraxis heißt das, dass die jährlich erforderliche wirksame Reduktion des Varroabefalles, die planmäßige Erneuerung der Königinnen und die Einwinterung starker Völker die Schlüsselfaktoren für eine erfolgreiche Überwinterung und die Vermeidung von Winterverlusten darstellen. Dem entsprechend ist es nötig, die Faktoren mit dem stärksten Einfluss (Varroabefall und Volksstärke im Herbst, junge Königinnen) in der Schulungs-, Vortrags- und Publikationsfähigkeit in den Vordergrund zu rücken, um eine breite Umsetzung in die imkerliche Praxis zu erreichen. Da diese Faktoren auch im Einflussbereich des Imkers / der Imkerin liegen, ist die Erfolgswahrscheinlichkeit bei konsequenter Umsetzung dieser Maßnahmen auch als hoch einzuschätzen.

Bei der Interpretation der Ergebnisse muss beachtet werden, dass eine Studie nur Aussagen über die Faktoren treffen kann, die tatsächlich gemessen wurden. Die Beobachtungsstudie hat bewusst den Fokus auf Faktoren der Bienengesundheit und der imkerlichen Praxis gesetzt. Der Einfluss anderer Faktoren wie Klima, Ernährung oder auch Agrarchemikalien auf die Wintersterblichkeit der Bienen wurde nicht untersucht und kann daher den Ergebnissen dieses Moduls nicht entnommen werden.

Für die TeilnehmerInnen der Beobachtungsstudie lag der Nutzen darin, dass sie einerseits im Zuge der drei Standbesuche und der durchgeführten Völkerinspektionen genaue Kenntnis über den Gesundheitszustand ihrer Völker erhielten. Andererseits standen ihnen frühzeitig Daten zum Varroabefall ihrer Bienenvölker zur Verfügung. Die beim ersten und zweiten Standbesuch gezogenen Bienenproben zur Bestimmung des Varroabefalles wurden in der AGES zügig untersucht und die Ergebnisse an die ImkerInnen umgehend rückgemeldet. Die rasche Übermittlung der Untersuchungsergebnisse – speziell bei hohem Varroadruck zum Zeitpunkt des ersten Standbesuches – wurde von den ImkerInnen sehr positiv aufgenommen, da ihnen dadurch Entscheidungsgrundlagen für die Dringlichkeit von Maßnahmen zur Befallsreduktion auf Basis konkreter Daten zur Verfügung gestellt wurden. Die Mehrzahl der ImkerInnen mit Handlungsbedarf setzte diese Angaben auch in praktische Aktivitäten zur Verhinderung oder Reduktion von Völkerausfällen um. Dies könnte dazu geführt haben, dass die Winterverluste der betroffenen, an der Studie teilnehmenden Imker, etwas niedriger waren, als es in einer nicht über die Ergebnisse informierten Teilnehmergruppe der Fall gewesen wäre. Da ein Ziel des Gesamtprojektes „Zukunft Biene“ in der Reduktion von Völkerverlusten in Österreich liegt, wurde diese Vorgangsweise bereits bei der Projektplanung für vertretbar und als im Interesse der ImkerInnen gelegen, erachtet.

Wir danken allen teilnehmenden Imkerinnen und Imkern für ihre Zeit und die Bereitstellung ihrer Bienenvölker, sowie den Probenehmern und Probenehmerinnen für ihren Einsatz und die geleistete Arbeit. Ohne das Entgegenkommen der ImkerInnen und die Hilfe der ProbenehmerInnen wäre die Beobachtungsstudie nicht durchführbar gewesen.

3a.6 Zusammenfassung

Jahr für Jahr treten in Österreich Völkerverluste in mehr oder weniger großem Umfang auf. Die Erforschung der Ursachen dieser Verluste ist für die nachhaltige Sicherung des Bestandes an Honigbienen unbedingt erforderlich. Nur die Kenntnis der Häufigkeit des Auftretens der zugrundeliegenden Parasiten und Krankheitserreger und anderer Schadfaktoren ermöglicht die Entwicklung von Gegenstrategien und Maßnahmen zur Verbesserung der Lage.

Ziel des Moduls 3a war es, an einer Stichprobe von rund 190 über Österreich verteilten Bienenständen Informationen zur klinischen Prävalenz der wichtigsten Bienenkrankheiten zu gewinnen und die Völkerverluste während der Überwinterung 2015/16 zu erfassen. Die Auswahl der ImkerInnen und Bienenstände erfolgte an Hand der Mitgliederzahlen des Österreichischen Imkerbundes in den Bundesländern, sowie unter Berücksichtigung von Problemgebieten und Schwerpunktgruppen. Die Teilnahme an den Untersuchungen war freiwillig.

Datenerfassung (Betriebs-, Stand-, Völkerdaten) und die Untersuchung auf klinische Symptome an den Bienenvölkern erfolgten bei drei Standbesuchen (Sommer und Herbst 2015, Frühjahr 2016) durch speziell geschulte Fachkräfte. Die Laboruntersuchungen erfolgten an der AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz, die Zuordnung der Stände zu Landnutzungsclustern und die statistische Modellierung erfolgten im Fachbereich Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik.

Amerikanische Faulbrut wurde im Sommer 2015 auf 1,0%, im Herbst 2015 auf keinem Stand und im Frühjahr 2016 auf 0,5% der besuchten Stände gefunden. Die entsprechenden Werte auf Volksebene waren 0,2%, 0,0% und 0,1%.

Tropilaelapsmilben (*Tropilaelaps* spp.) und der Kleine Bienenstockkäfer (*Aethina tumida*) wurden auf keinem Bienenstand gefunden.

Die Varroamilbe (*Varroa destructor*) war praktisch auf jedem Bienenstand anzutreffen, lediglich auf einem Bienenstand in Salzburg wurden in keiner der genommenen Bienenproben Varroamilben nachgewiesen. Die Stärke des Varroabefalles auf Bienen war von Stand zu Stand bzw. von Volk zu Volk unterschiedlich. Varroose wurde beim ersten und zweiten Standbesuch 2015 auf jeweils rund 22% der Bienenstände angetroffen, beim dritten Standbesuch im Frühjahr 2016 auf 8,7% der Stände.

Europäische Faulbrut wurde bei keinem der drei Standbesuche gefunden.

Sackbrutsymptome an der Bienenbrut waren beim ersten, zweiten und dritten Standbesuch bei 1,3%, 0,2% und 0,2% der Völker nachweisbar. Die entsprechenden Werte auf Standebene waren für die drei Standbesuche 7,3%, 1,6% und 1,6%.

Kalkbrutsymptome waren beim ersten, zweiten und dritten Standbesuch bei 3,5%, 0,7% und 2,0% der Völker nachweisbar. Die entsprechenden Werte auf Standebene waren für die drei Standbesuche 14,0%, 4,2% und 10,4%.

Die Höhe der Völkerverluste im Sommer (= Verluste zwischen erstem und zweitem Standbesuch) auf den beobachteten Ständen betrug 2,5% (95% Konfidenzintervall: 1,4-4,0%), die Höhe der Winterverluste 2015/2016 – ohne Einrechnung weiseloser Völker – 7,5% (95% Konfidenzintervall: 5,8-9,7%). Die Höhe der Winterverluste mit Einrechnung der weiselosen Völker betrug auf den Beobachtungsbienenständen 10,1% (95% Konfidenzintervall: 8,3-12,4%). Dieser Wert unterscheidet sich nicht signifikant von den in der COLOSS-Studie berichteten Winterverlusten von 8,1% (95% Konfidenzintervall: 7,4-8,8%, ebenfalls mit Einrechnung der weiselosen Völker).

Über alle Datensätze betrachtet, bestanden zwischen den neun Bundesländern keine signifikanten Unterschiede bei den Winterverlusten 2015/16. Ebenso kein signifikanter Unterschied zeigte sich zwischen den Bienenstände der acht landwirtschaftlichen Hauptproduktionsgebieten in Österreich und jenen der fünf definierten Landnutzungscluster. Im Einzelvergleich wurden jedoch im ackerbaulich dominierten Cluster 3 signifikant höhere Winterverluste registriert (13,3%) als im Nadelwald- und Grünland-dominierten Cluster 1 (6,7%). Zu den anderen Clustern zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Vergleichbar zeigt die Landnutzungsanalyse in Modul 2, dass in Gebieten mit Nadelwald, naturnahen Flächen und Almen geringere Winterverluste auftraten als in Gebieten mit intensivem Ackerbau.

Die Standgröße hatte einen signifikanten Einfluss auf die Winterverluste. Stände mit mehr als 20 Völkern hatten mit 4% nur halb so hohe Winterverluste wie kleine Stände (9%). Bezogen auf die Beobachtungsstände, hatte die Betriebsgröße keinen signifikanten Effekt auf die Höhe der Winterverluste. Bezogen auf den Gesamtbetrieb hatten Betriebe mit über 100 Völkern jedoch nur etwa halb so hohe Verluste wie Betriebe mit weniger als 50 Völkern.

Hinsichtlich der Bewirtschaftungsart der Bienenvölker wurde weder auf Stand- noch auf Betriebs-ebene ein Unterschied im Überwinterungserfolg zwischen konventioneller und biologischer Betriebsweise gefunden.

In der Beobachtungsstudie zeigte sich zwischen den im Frühjahr 2015 gewanderten und den nicht gewanderten Völkern kein signifikanter Unterschied in der Wintersterblichkeit.

Die Höhe der Winterverluste reduzierte sich mit der imkerlichen Erfahrung, das heißt mit der Dauer der Ausübung der imkerlichen Tätigkeit. Auf Betriebsebene war dieser Effekt zwischen ImkerInnen mit bis zu 10 Jahren und mehr als 30 Jahren an imkerlicher Erfahrung statistisch gesichert. Unerwarteterweise hatte unter den Studienteilnehmern die Art und die Anzahl der durchlaufenen Ausbildungsschritte keinen Einfluss auf die Höhe der Winterverluste.

Zwischen dem Varroabefall der Bienen beim ersten und zweiten Standbesuch im Jahr 2015 und den beobachteten Winterverlusten bestand ein eindeutiger Zusammenhang. Völker mit erhöhtem Varroabefall auf Bienen im Juli 2015 hatten eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit, bis zum Frühjahr 2016 abzusterben als Völker mit geringem Varroabefall. Wurden im Juli erhöhte bis stark erhöhte Varroabefallswerte (1 bis 10% Milbenbefall, bzw. über 10% Milbenbefall) gemessen, stieg die Wahrscheinlichkeit eines Volksverlustes bis zum Frühjahr 2016 um das Drei- bis Fünffache, verglichen mit Völkern ohne Varroamilben in der Bienenprobe. Ebenso waren Symptome der Varroose signifikant öfter bei abgestorbenen Völkern als bei überlebenden Völkern zu finden. Die Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes unter den Völkern der Beobachtungsstudie erhöhte sich signifikant mit steigendem Varroabefall der Bienen im vorangegangenen Herbst. Während bei 0% Varroamilben auf Bienen die Wahrscheinlichkeit eines Winterverlustes 1,1% betrug, stieg sie bei 20% Milbenbefall auf 22,3%. Ab 28% Milbenbefall auf Bienen erreichte die Verlustwahrscheinlichkeit eines Volkes 50%. Ebenso hatten im Winter 2015/16 abgestorbene Völker im September 2015 dreimal so häufig Anzeichen von Varroose wie überlebende Völker.

Die bei der Beratung der ImkerInnen verwendete Schadensschwelle von 1% Milbenbefall auf Bienen beim Sommertermin und 3% Milbenbefall auf Bienen beim Herbsttermin wurde bestätigt. Lag der Milbenbefall der Bienen im Juli bei über 1%, dann war die Wahrscheinlichkeit, dass das Volk entweder schon im Sommer oder bei der Überwinterung abstarb, signifikant höher als bei 0% Milbenbefall. Betrug der Milbenbefall der Bienen im Herbst über 3%, war die Wahrscheinlichkeit über den Winter abzusterben signifikant höher als bei einem Milbenbefall unter 3%.

Völker mit jungen Königinnen überwinterten signifikant häufiger erfolgreich als Völker mit älteren Königinnen oder mit Königinnenproblemen vor der Einwinterung.

Zwischen der Volksstärke im Herbst und dem Absterben eines Volkes bestand ein signifikanter Zusammenhang. War ein Volk beim zweiten Bienenstandbesuch im Herbst als „sehr schwach“ beurteilt worden, war dessen Wahrscheinlichkeit für ein Absterben über den Winter mit 7,8% etwa viermal so hoch, wie bei einer Bewertung als „normal groß“ (1,8%) oder „sehr stark“ (1,4%). Wirtschafts- und Jungvölker unterschieden sich in der vorliegenden Studie in der Wahrscheinlichkeit der Wintersterblichkeit nicht signifikant.

Um aus der Fülle von erhobenen Daten die für Winterverluste wichtigsten Parameter zu identifizieren, wurde – auf Basis der Ergebnisse univariater Voranalysen für einzelne Faktoren – ein multivariates Modell der Winterverluste erstellt und statistisch getestet. Als signifikante Einflussfaktoren auf das Absterben der Völker in der Überwinterungsperiode 2015/16 konnten der Varroabefall beim zweiten Besuch, die Erfahrung des Imkers/der Imkerin in Jahren, das Königinenalter und die Volksstärke beim zweiten Besuch identifiziert werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in der vorliegenden Studie gefundenen maßgeblichen Faktoren für hohe Winterverluste sich weitgehend mit jenen aus anderen großangelegten europäischen Studien wie EPILOBEE, Deutsches Bienenmonitoring und der COLOSS-Studie decken.

Bei allen Berechnungen auf Volksebene wurde zusätzlich zu den getesteten Variablen ein Standeffekt miteinberechnet. Dieser berücksichtigt, dass alle Völker eines Standes eine gemeinsame Geschichte haben. Die Berücksichtigung dieses Faktors verbesserte sowohl die univariaten Modelle als auch das multivariate Modell signifikant. Das zeigt, dass keines der dargestellten Modelle die Variation in der Wintersterblichkeit zwischen den einzelnen Ständen vollständig erklärte und noch andere, in das jeweilige Modell nicht aufgenommene Faktoren (Wetter, Pollenversorgung, Pestizidbelastung), zusätzliche erklärende Faktoren für die Wintersterblichkeit der Völker sein könnten. Im Modul 3b „Posthoc“-Untersuchungen wurde die Frage der Pestizidbelastung mit berücksichtigt.

Für die Praxis bedeutsam ist das Ergebnis, dass ein Varroabefall der Biene über 10% allein ausreicht, um im Modell den Ausfall des Volkes zu erklären. Hierbei ist zu beachten, dass bei hohem Varroabefall – mit dem Krankheitsbild der Varroose –, auch mit einem Befall durch das DWV-Virus zu rechnen ist. Es ist davon auszugehen, dass diese zusätzlichen Effekte im dargestellten Effekt des Varroabefalls mit eingeschlossen sind, da sie in der Regel stark mit der Höhe des Varroabefalls korrelieren.

Die Ergebnisse der Erhebungen zur Art und Durchführung der getroffenen Maßnahmen zur Varroabekämpfung zeigten einerseits den hohen Aufwand und die großen Anstrengungen der ImkerInnen, um Völkerverluste, zu vermeiden. Andererseits bestand eine große Diversität zwischen den Imkereibetrieben. Dies gilt sowohl für biotechnische und medikamentöse Maßnahmen als auch für den Anwendungszeitpunkt und die Jahreszeit der Durchführung.

Die überwiegende Mehrheit der ImkerInnen setzte mehrere kombinierte Maßnahmen zur Varroabekämpfung ein. Bei den biotechnischen Maßnahmen waren dies die Entnahme verdeckelter Drohnenbrut (knapp 70% der Betriebe), die totale oder teilweise Brutentnahme (37% der Betriebe) – zum Teil in Kombination mit einer Oxalsäureanwendung –, und in geringer Anzahl die Wärmebehandlung. Bei den medikamentösen Maßnahmen war Oxalsäure der am häufigsten eingesetzte Wirkstoff (98% der Betriebe), gefolgt von Ameisensäure (85% der Betriebe) und

Thymol (23% der Betriebe). Andere Wirkstoffe wurden nur in Einzelfällen genannt. Ameisensäure und Thymol kamen am häufigsten im Sommer zur Anwendung. Oxalsäure wurde überwiegend im Winter und in geringerem Umfang auch im Sommer eingesetzt. Auf 82% der Stände wurde die Oxalsäure durch Träufeln appliziert, auf 36% der Stände durch Verdampfung und nur selten durch Versprühen oder Vernebeln (7%). Der Vergleich mit den Angaben der TeilnehmerInnen der COLOSS-Studie zur Varroabehandlung zeigt, dass die Muster der Varroabekämpfungskonzepte in beiden Befragungen sehr ähnlich sind. Da die Daten in beiden Projekten unterschiedlich und unabhängig voneinander erhoben wurden, ist die Ähnlichkeit ein Indiz dafür, dass beide Datenaufnahmen die typischen Behandlungskonzepte der österreichischen ImkerInnen gut abbilden.

Der Einsatz der Ameisensäure erfolgte entweder als Kurzzeit- oder Langzeitanwendung mit verschiedenen Verdunstungssystemen. Bei der Kurzzeitanwendung dominierte das Schwammtuch, bei der Langzeitanwendung der Liebig-Dispenser, gefolgt vom Universal- und Nassenheider-Verdunster.

Nach Durchführung der Hauptentmilbung mit Ameisensäure-, Oxalsäure- oder Thymolpräparaten gab es beim zweiten Standbesuch im September 2015 keine signifikanten Unterschiede in den Medianwerten des Varroabefalls der Bienen zwischen den Ständen (Ameisensäure: 0,5%; Oxalsäure: 1,0%; Thymol: 0,6%). Dieses Ergebnis kann so interpretiert werden, dass mit diesen drei eingesetzten Wirkstoffen und den zur Hauptentmilbung durchgeführten medikamentösen Bekämpfungsmaßnahmen das Ziel einer starken Absenkung des Varroabefalles erreicht worden war.

Auf Ständen mit einer Langzeitanwendung von Ameisensäure hatten die Bienenvölker nach der Hauptentmilbung mit 0,3% einen signifikant niedrigeren Medianwert des Bienenbefalls als Völker mit Kurzzeitanwendungen (0,8%). Die in beiden Gruppen niedrigen Befallswerte sind als Indiz für eine gute Wirksamkeit der Hauptentmilbung zu werten.

Bei einer Langzeitanwendung der Ameisensäure zur Hauptentmilbung hatte die verabreichte Menge einen Einfluss auf den Varroabefall der Bienen im Herbst 2015. Die Wirksamkeit der Ameisensäure war signifikant besser, wenn über 100 mL pro Volk eingebracht worden waren, verglichen mit einer Menge von unter 100 mL pro Volk. Bei der Kurzzeitanwendung bestand dieser mengenbezogene Unterschied nicht. Es war wichtiger, dass genug Ameisensäure in einem kurzen Zeitraum in das Volk eingebracht wurde. Hier reduzierte sich der Varroabefall der Bienen im Herbst mit steigender Menge der pro Woche eingebrachten Ameisensäure signifikant. Das heißt, um eine entsprechende Wirkung zu erzielen, ist eine Mindestmenge von 25-50 mL pro Volk und Woche erforderlich.

Als Unterstützung der TeilnehmerInnen der Beobachtungsstudie wurden die beim ersten und zweiten Standbesuch gezogenen Bienenproben zur Bestimmung des Varroabefalles zügig untersucht und die Ergebnisse an die ImkerInnen rückgemeldet. Die rasche Übermittlung der Untersuchungsergebnisse – speziell bei hohem Varroadruck zum Zeitpunkt des ersten Standbesuches – wurde von den ImkerInnen sehr positiv aufgenommen. Die Mehrzahl der ImkerInnen mit Handlungsbedarf setzte diese Angaben auch in praktische Aktivitäten zur Verhinderung oder Reduktion von Völkerausfällen um. Da ein Ziel des Gesamtprojektes „Zukunft Biene“ die Reduktion von Völkerverlusten in Österreich ist, wurde diese Vorgangsweise bereits bei der Projektplanung für vertretbar und als im Interesse der ImkerInnen gelegen, erachtet.

Die Ergebnisse der Beobachtungsstudie liefern wichtige Ansätze, wie in Zukunft die Höhe der Winterverluste reduziert werden könnte. Dazu ist es nötig, die Faktoren mit dem stärksten Einfluss (Varroabefall, Volksstärke im Herbst, junge Königinnen) in der Schulungs-, Vortrags- und



KARL-FRANZENS-UNIVERSITÄT GRAZ
UNIVERSITY OF GRAZ



Publikationstätigkeit in den Vordergrund zu rücken, um eine breite Umsetzung in die imkerliche Praxis zu erreichen. Da diese Faktoren auch im Einflussbereich des Imkers / der Imkerin liegen, ist die Erfolgswahrscheinlichkeit bei konsequenter Umsetzung als hoch einzuschätzen.

(3b) Ursachenforschung zur Wintersterblichkeit durch Posthoc-Untersuchungen ausgewählter Proben auf Bienengesundheit und eine vorangegangene Exposition gegenüber bienengefährlichen Schadstoffen aus unterschiedlichen Quellen

3b.1 Einleitung

Für die Klärung von Bienenschäden und Völkerverlusten ist – analog zur Medizin – eine Anamnese der Vorgeschichte des erkrankten oder abgestorbenen Bienenvolks erforderlich. Dabei muss unter anderem geklärt werden, woher ein Bienenvolk stammt, wie es gebildet wurde, welche imkerlichen Pflege- und Behandlungsmaßnahmen (zum Beispiel zur Varroabekämpfung) durchgeführt bzw. unterlassen wurden, wie hoch die Erreger- und Parasitenlast vor der Einwinterung war, ob eine vollwertige Königin im Volk vorhanden war und ob es eine Exposition gegenüber bienengefährlichen Wirkstoffen gab. Diese Anforderung kann in der Regel aber nicht erfüllt werden, da betroffene ImkerInnen immer nur das geschädigte oder tote Volk im Auge haben und von diesem meist auch nur bruchstückhafte Daten für die Anamnese zur Verfügung stehen. Den klassischen Schadensfall stellt ein abgestorbenes Volk dar, bei dem die Beute völlig bienenleer ist und keine Brutzellen auf den Waben mehr vorhanden sind. Die einzigen für Untersuchungen verfügbaren Materialien in derartigen Fällen sind die Beute, der Wabenbau und die eingelagerten Futter- und Pollenvorräte. Gewisse Krankheitserreger lassen sich zwar auch aus diesen Matrices nachweisen (zum Beispiel *Paenibacillus larvae*, *Ascosphaera apis*, *Nosema* spp.), für den Nachweis anderer Krankheitserreger sind jedoch Brutwaben oder Bienenproben notwendig. Außerdem lassen sich in manchen Fällen selbst aus positiven Nachweisen keine klaren Schlüsse ziehen. Zum Beispiel gibt ein Fund von tot in der Beute liegenden Varroamilben keine Auskunft über den Zeitpunkt oder die Ursache ihres Abfallens (Milbenfall nach Bekämpfungsmaßnahme oder natürlicher Totenfall).

Ziel dieses Moduls ist es, mit Hilfe von Posthoc-Untersuchungen an Probenmaterial aus über den Winter abgestorbenen bzw. überlebenden Bienenvölkern kritische Überlebensparameter und Risikofaktoren (Krankheitserreger, Parasiten, mögliche Rückstände bienengefährlicher Wirkstoffe) für Völkerverluste zu identifizieren und Grundlagen für zielgerichtete Verbesserungsmaßnahmen unter Berücksichtigung der Umwelt des Bienenstandes zu liefern.

Geplanter Untersuchungsumfang

- Varroabefall an Bienen vor Hauptentmilbung 2015 (erster Bienenstandbesuch im Juli/August 2015);
- Varroabefall an Bienen vor Einwinterung 2015 (zweiter Bienenstandbesuch im September/Okttober 2015);
- Auswinterungsergebnis (tote/lebende Völker im Frühjahr 2016);
- Lichtmikroskopische Untersuchung von Bienenproben auf Nosemabefall und Quantifizierung der Sporenmenge, sowie Differenzierung in *Nosema apis* und *N. ceranae* mittels PCR an der AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz;
- Etablierung quantitativer RT-PCR (RT-qPCR) Methoden und RT-qPCR-Untersuchungen auf drei Bienenviren (Akute Bienenparalyse Virus (ABPV), das Chronische Bienenparalyse Virus (CBPV) und das Flügeldeformationsvirus (DWV) an der AGES, Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling, Abteilung Molekularbiologie;
- Rückstandsuntersuchungen an Bienenbrot (analog zu Vergiftungsverdachtsfällen der Jahre 2014 bis 2016 durch ein externes Labor (PTRL Europe GmbH, Eiselauer Weg 4,

Geb./Bldg. 5, D-89081 Ulm, Deutschland; Details zu Analyten, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, siehe Kapitel 3c.2.3, Tabellen 3.45 und 3.46.

Die ersten drei in der obigen Aufzählung genannten Aspekte wurden bereits in Modul 3a (Beobachtungsstudie) behandelt, sind jedoch auch als grundlegende Bestandteile des Moduls 3b zu verstehen.

3b.2 Material und Methoden

3b.2.1 Völkerauswahl und Probenahmen

Grundlage für die Posthoc-Untersuchungen von Völkerverlusten waren die 188 Beobachtungs-Bienenstände, die im Modul 3a ausgewählt worden waren und bei denen drei Bienenstandbesuche erfolgten (erster Besuch: vor Hauptentmilbung 2015; zweiter Besuch: vor Restentmilbung 2015; dritter Besuch: nach Auswinterung 2016). Im Zuge dieser drei Völkerinspektionen (siehe Modul 3a) wurden planmäßig aus bis zu 10 Völkern pro Bienenstand Bienen- und Bienenbrot-Einzelproben für spätere Bienengesundheits- und Rückstandsuntersuchungen entnommen (siehe Tabelle 3.7, Infobox in Kapitel 3a.3.7.1). Zusätzlich waren die von den Probenehmern während der Völkerinspektionen gesammelten Informationen über die Basisdaten zum Imkereibetrieb, die Lage des Bienenstandes, die Völkerzahl am Beobachtungsstand, den Gesundheitszustand der Völker und die durchgeführten Behandlungsmaßnahmen vorhanden und konnten in die Posthoc-Auswertung miteinbezogen werden. Aus der geplanten Beobachtungsstudie mit Surveillance-Ansatz (siehe Modul 3a) ergab sich ein verfügbares Volumen von rund 4700 Proben von Bienen und Bienenbrot (188 Bienenstände, je 2 bis 10 Fokusvölker, drei Besuche, Infobox in Kapitel 3a.3.7.1) für die Posthoc-Untersuchungen, aus denen eine Auswahl für die vertiefenden Analysen (Bienengesundheit, Rückstandsuntersuchungen) zu treffen war.

3b.2.2 Auswahl der zu untersuchenden Proben und Bienenstände

Nach der Auswinterung im Frühjahr 2016 erfolgte auf Basis der Auswinterungsergebnisse auf Volks- bzw. Standebene (tote bzw. lebende Völker, Prozentsatz abgestorbener Völker am Bienenstand) Posthoc eine Auswahl der auf Krankheitserreger und Parasiten zu untersuchenden Bienenstände und Bienenproben, sowie der auf Rückstände zu untersuchenden Bienenbrotproben.

3b.2.2.1 Probenplan

Für die Posthoc-Analysen wurde das Probenmaterial vom zweiten Bienenstandbesuch im September/Oktober 2015 verwendet, da dieses am zeitnächsten den Gesundheitszustand und die Pestizidexposition der Bienenvölker vor der Einwinterung wiedergibt.

Ursprünglich war aus Kostengründen geplant gewesen, die Posthoc Analysen in zwei Fragestellungen aufzuteilen:

1. Was waren die Ursachen für das Absterben von Völkern in der Überwinterungsperiode 2015/16?

Dazu sollte an einer Kerngruppe (N=150 Völker) das gesamte Spektrum an Gesundheits- (*Nosema* spp.; Viren: DWV, ABPV, CBPV) und Rückstandsanalysen an Bienenbrot auf

Pestizidrückstände durchgeführt werden (Pestizidrückstände), um mögliche Zusammenhänge mit dem Absterben der Völker zu identifizieren.

2. Was waren die Ursachen für das Auftreten schwacher, überlebender Völker bei der Auswinterung?

Dazu sollten an einer Zusatzgruppe (N=60 Völker) Proben aus lebenden – aber bei der Auswinterung im Frühling 2016 schwachen – Völkern, analysiert werden. Somit sollte es möglich sein, auch die Ursachen für dadurch bedingte Ertragsausfälle näher zu betrachten. In dieser Gruppe sollte nur ein Teil der Analysen durchgeführt werden (Nosema spp.; Rückstandsanalysen).

Infobox – Pestizide

In der vorliegenden Arbeit werden unter dem Sammelbegriff „Pestizide“ einerseits Pflanzenschutzmittel – das sind Stoffe, die überwiegend eingesetzt werden, um die Gesundheit von Kulturpflanzen zu erhalten und ihrer Vernichtung durch Krankheiten und Schädlingsbefall vorzubeugen –, verstanden, aber auch Biozide, die nicht zur direkten Anwendung an Pflanzen, sondern zur Bekämpfung von Schädlingen und Krankheitsüberträgern bestimmt sind. Zusätzlich werden darunter auch Wirkstoffe subsummiert, die in Tierarzneimitteln eingesetzt werden (zum Beispiel Coumaphos) oder wurden, und daneben auch in Pflanzenschutzmitteln Verwendung fanden (zum Beispiel Brompropylat). Dabei können verschiedene Wirkstoffklassen von Pestiziden (z.B. Insektizide, Akarizide, etc.) sowohl im Pflanzenschutz als auch als Biozid und Tierarzneimittel eingesetzt werden.

Unter Pestizidexposition wird demnach eine Exposition der Bienen gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Biozidprodukten und bestimmten Tierarzneimittelwirkstoffen, die zur Varrooseprophylaxe bzw. -bekämpfung eingesetzt werden, verstanden. Da einige Wirkstoffe sowohl als Pflanzenschutzmittel, Biozid als auch als Tierarzneimittel Verwendung finden (zum Beispiel Fipronil), lassen sich allein aus deren positivem Nachweis in Bienen oder Bienenbrot noch keine sicheren Rückschlüsse auf die Herkunft (= Expositionsquelle) ziehen. Weitergehende Schlussfolgerungen sind erst unter Berücksichtigung der positiv getesteten Matrix (Bienen, Bienenbrot), dem Zulassungsstatus von Präparaten mit derartigen Wirkstoffen, der Art der Ausbringung und den Indikationen der Anwendung möglich.

Entsprechend dieser Fragestellungen erfolgte dann die Auswahl der Proben. Später war es dann durch budgetäre Umschichtungen aber möglich, auch alle Proben der Zusatzgruppe auf die gleichen Parameter zu untersuchen wie in der Kerngruppe. Somit konnte bei der Auswertung die Aufteilung in diese beiden Gruppen wegfallen.

3b.2.2.2 Zufallsgenerator

Es wurde ein Auswahlpool erstellt, in den alle Völker übernommen wurden, die für eine Analyse in der Posthoc-Studie geeignet waren. Von diesen Völkern mussten die Überwinterungsergebnisse bekannt sein. Außerdem musste ein vollständiges Probenset vom zweiten Besuch (= Herbstbesuch) vorliegen (Bienenprobe für Varroabefall, Bienenprobe für Nosema und Viren, Bienenbrotprobe für Untersuchungen auf Pestizidrückstände), ebenso wie eine Bienenprobe vom Frühjahrsbesuch (Nosemauntersuchung). Von den 1980 eingewinterten Völkern konnten 915 Völker in den Auswahlpool übernommen werden. Von den 1980 Völkern fielen 1065 Völker aus dem Auswahlpool heraus, da sie keine Probenvölker waren (411 Völker), beim zweiten Standbesuch

kein Bienenbrot im Volk vorhanden war (588 Völker) oder beim zweiten oder dritten Standbesuch aus verschiedenen Gründen keine Bienenproben genommen werden konnten (66 Völker).

Um eine zufällige Auswahl zu gewährleisten, wurde ein Zufallsgenerator im Programm R Version 3.3.2. (R Core Team, 2015) zu Hilfe genommen. Dabei wurde auf zwei Hauptaspekte eingegangen: einerseits wurde der Probenplan mit der gewünschten Völkeranzahl in Kerngruppe und Zufallsgruppe erzeugt. Außerdem wurde Wert darauf gelegt, den Zufallsfaktor in der Auswahl der Proben hoch zu halten um eine repräsentative Auswahl der beprobten Stände zu erhalten. Es wurden folgenden Aspekte berücksichtigt:

- Alle toten Völker mit vollem Probenstet wurden ausgewählt.
- Die Völkerauswahl wurde nach der Höhe der Winterverluste 2015/16 in den einzelnen Bundesländern gewichtet, sodass aus den Bundesländern mit besonders vielen Verlusten auch viele Proben analysiert wurden (Tabelle 3.34). Die Daten wurden der COLOSS-Studie entnommen (Brodtschneider, persönliche Mitteilung), wobei als Winterverlust nur die toten Völker und nicht die Gesamtheit der in COLOSS erhobenen verlorenen Völker (tote Völker + Königinnenverlust) gerechnet wurden.
- Es wurde nach Volksstärke bei der Auswinterung gewichtet, sodass sowohl bei der Auswinterung als normal bis stark eingestufte Völker vertreten waren, als auch als schwach eingestufte.
- Es wurde darauf geachtet, dass lebende Völker sowohl von Ständen mit Völkerverlusten als auch von Ständen ohne Völkerverlusten ausgewählt wurden.

Tabelle 3.34: Anzahl der Posthoc-Proben, aufgeteilt auf die Bundesländer; in Klammer ist der Anteil der Proben an der Gesamtmenge der Gruppe angegeben. „Anteil am Winterverlust 2015/16“ gibt den Anteil der einzelnen Bundesländer am gesamten Winterverlust 2015/16 an, korrigiert auf die Zahl der in der COLOSS-Studie eingemeldeten Völker (Daten COLOSS, nur tote Völker, keine Königinnenverluste als Winterverlust eingerechnet).

Bundesland	Anteil am Winterverlust 2015/16	Völker gesamt	tote Völker	lebende Völker
Burgenland	17%	24 (11%)	6 (10%)	18 (12%)
Kärnten	8%	17 (8%)	6 (10%)	11 (7%)
NÖ	16%	32 (15%)	6 (10%)	26 (17%)
OÖ	9%	47 (22%)	21 (35%)	26 (17%)
Salzburg	8%	19 (9%)	4 (7%)	15 (10%)
Steiermark	10%	36 (17%)	11 (18%)	25 (17%)
Tirol	6%	9 (4%)	2 (3%)	7 (5%)
Vorarlberg	7%	6 (3%)	1 (2%)	5 (3%)
Wien	20%	20 (10%)	3 (5%)	17 (11%)
insgesamt		210	60	150

Da sich bei 44 der ausgewählten Völker im Nachhinein herausstellte, dass zu wenig Bienenbrot (43 Proben) für eine Pestizid-Rückstandsanalyse bzw. zu wenige Bienen (eine Probe) für Viren und Nosema-Analyse vorhanden waren und somit keine Testung auf alle Parameter möglich wäre, wurden diese durch erneute Durchläufe mit einem Zufallsgenerator durch andere Völker aus dem Auswahlpool ersetzt.

3b.2.2.3 Mögliche Effekte des fehlenden Bienenbrots auf die Auswahl der Posthoc-Studie

Es wurden insgesamt 516 Völker, bei denen beim zweiten Besuch kein Bienenbrot für eine Entnahme verfügbar war, aus dem Auswahlpool für die Posthoc-Analyse ausgeschlossen. Nicht oder in sehr geringer Menge vorhandenes Bienenbrot könnte ein Anzeichen für Probleme im Volk (Futtermangel, fehlende Pollensammlerinnen) bzw. in der Umwelt (fehlende Pollentracht) sein, und daher im Zusammenhang mit höheren Winterverlusten stehen. Dies würde zu einer unausgewogenen Probenauswahl für die Posthoc-Analyse führen und die Ergebnisse der Analyse verfälschen. Daher wurden diese Zusammenhänge im Vorfeld näher analysiert.

Im Herbst 2015 waren insgesamt 1569 Völker in der Beobachtungsstudie vertreten, von denen standardmäßig Proben entnommen wurden (Probenvölker, Infobox in Kapitel 3a.3.7.1). Die ProbenehmerInnen konnten bei 516 dieser Völker kein Bienenbrot entnehmen (33% der Proben). Es war kein signifikanter Zusammenhang erkennbar zwischen dem Vorhandensein von Bienenbrot und der Überlebenswahrscheinlichkeit eines Volkes ($\text{Chi}^2 = 0,094$; $\text{df} = 1$; $P = 0,759$). Bei den erfolgreich überwinterten Völkern fehlten 33% aller Bienenbrotproben (475 von 1438 Probenvölkern), bei den über den Winter abgestorbenen Völkern fehlten 31% aller Bienenbrotproben (41 von 131 Probenvölkern).

Bei der Bearbeitung der Posthoc-Proben wurde festgestellt, dass in vielen eingeschickten Bienenbrot-Proben eine unzureichende Menge an Bienenbrot vorhanden war. Es mussten insgesamt 282 Probensets ausgewählt und kontrolliert werden, um 210 vollständige Probensets zu erhalten (72 Proben ohne ausreichende Menge an Bienenbrot). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Vorhandensein von Bienenbrot zwischen toten und lebenden Völkern dieser Auswahl ($\text{Chi}^2 = 0,042$; $\text{df} = 1$; $P = 0,839$). Bei den toten Völkern fehlte in 19 der 79 bearbeiteten Völker das Bienenbrot (24% der Völker), bei den lebenden Völkern in 53 der bearbeiteten 203 Völker (26%).

3b.2.3 Gesundheitsuntersuchungen

3b.2.3.1 Untersuchung auf Nosemabefall

3b.2.3.1.1 Qualitative Untersuchung auf Nosemabefall

Der qualitative Nachweis einer Nosemainfektion erfolgte durch den lichtmikroskopischen Nachweis der Dauerstadien (Sporen), ohne Differenzierung der Nosemaarten. Die Untersuchung erfolgte gemäß der an der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz verwendeten akkreditierten Prüfvorschrift. Diese basiert auf der lichtmikroskopischen Untersuchung (200 bis 400-fache Vergrößerung) einer wässrigen Suspension, wobei 30 Bienenhinterleiber in 5 mL Wasser zerstoßen werden.

Bei positivem Ergebnis der qualitativen Untersuchung wurde eine Quantifizierung der Sporenzahl in den untersuchten Bienen sowie eine Artbestimmung (*Nosema apis*, *Nosema ceranae*) mittels PCR angeschlossen.

3b.2.3.1.2 Quantifizierung des Nosemabefalls

Die quantitative Untersuchung wurde durch Sporenzählung in einem Hämocytometer (Neubauer improved, Paul Marienfeld GmbH, Lauda Königshofen, Deutschland; Kammertiefe 0,1 mm) durchgeführt. Für die Sporenzählung wurde die wässrige Suspension, die für die qualitative Untersuchung hergestellt worden war, auf ein Verhältnis von 30 ml Wasser pro 30 Hinterleiber

weiter verdünnt. Daher entspricht der Sporengelhalt von 1 ml dieser Suspension durchschnittlich dem einer Biene. Um die Genauigkeit der Zählung zu gewährleisten, sollten insgesamt rund 300 Partikel gezählt werden (Human et al., 2013). Es wurden zwei große Quadrate (á 1 mm²) bei einer Probe ausgezählt und der Durchschnitt wurde berechnet. Die Kammertiefe des Hämocytometers von 0,1 mm und die Größe des Zählquadrates von 1 mm² ergaben ein ausgezähltes Volumen von 1/10 000 ml.

Daher beträgt der Multiplikationsfaktor 10 000, wie in der folgenden Formel angeführt:

$$\text{Mittelwert der Sporenanzahl pro Zählquadrat} * 10\,000 = \text{mittlere Sporenzahl pro ml}$$

Aufgrund der gewählten Verdünnung (siehe oben) entspricht die mittlere Sporenzahl pro ml der mittleren Sporenzahl pro Biene. Diese wurde dann auch als Ergebnis angegeben.

3b.2.3.1.3 Identifizierung von *Nosema apis* bzw. *Nosema ceranae*

Der Nachweis der DNA der beiden Nosemaarten erfolgte nach der DNA-Extraktion aus der Suspension für den lichtmikroskopischen Nachweis (siehe 3a.3.7.2.3.1) mittels Multiplex-PCR nach Higes et al. (2007) und Martín-Hernández et al. (2007) mit spezifischen Primern zur Unterscheidung zwischen *N. apis* bzw. *N. ceranae* (siehe Tabelle 3.35).

Für die DNA-Extraktion wurde der „High Pure PCR Template Preparation Kit“ (Roche) verwendet. Die DNA wurde aus 2 ml verdünnter Suspension (Verdünnung: 1 ml Wasser pro Hinterleib) extrahiert, wobei die gereinigte Nukleinsäure mit 100 µl Puffer eluiert wurde. Der Extrakt wurde bei -20°C gelagert. Für die Multiplex-PCR wurde der „REDTaq Readymix PCR Reaction Mix“ (Sigma) eingesetzt. Es wurde ein Reaktionsmix aus 12,5 µl Ready-Mix (Sigma), 2 µl Nukleinsäureextrakt und den Primern (240 nM; VBC Biotech) hergestellt und mit 8,1 µl nukleasefreiem Wasser auf das Reaktionsvolumen von 25 µl aufgefüllt. Für die PCR wurde ein Thermocycler des Typs T 3000 von Biometra eingesetzt.

Die PCR-Bedingungen waren: 94°C 2 min; 10 Zyklen: 94°C 15 s; 61,8°C 30 s; 72°C 45 s; 20 Zyklen: 94°C 15 s; 61,8°C 50 s; 72°C 50 s; abschließend ein Elongationsschritt mit 72°C für 7 min.

Die PCR-Produkte wurden auf 1,5%iges Agarosegel (Lonza) aufgetragen, mittels Elektrophorese (Elektrophoresekammer: GE-Healthcare Bio Sciences Corp.) aufgetrennt, mit Ethidiumbromid (Roth) gefärbt, und unter UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert (UVP).

Tabelle 3.35: Primersequenzen und PCR-Parameter für den Nachweis der zwei Arten von Nosema.

Ziel-organismus	Primer Basenfolge (5´-3´)	Amplifikat [bp]	Annealing Temp. [°C]	Zitat
<i>Nosema apis</i>	GGG GGC ATG TCT TTG ACG TAC TAT GTA GGG GGG CGT TTA AAA TGT GAA ACA ACT ATG	321	61,8	Martín-Hernández et al. (2007)
<i>Nosema ceranae</i>	CGG CGA CGA TGT GAT ATG AAA ATA TTA A CCC GGT CAT TCT CAA ACA AAA AAC CG	218	61,8	Martín-Hernández et al. (2007)

3b.2.3.2 Untersuchung auf Virusbefall

Die Arbeiten dazu erfolgten in der AGES an der Abteilung Molekularbiologie des Instituts für veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling. Gemäß Projektplan war als erster Schritt die Etablierung einer Methode für die qualitative und quantitative Bestimmung folgender Viren in Bienenproben vorgesehen: ABPV, CBPV und DWV. Als zweiter Schritt folgten dann die eigentlichen Untersuchungen zur Bestimmung der Virusart und -menge in den Bienenproben.

3b.2.3.2.1 Methodenetablierung und -validierung zum Nachweis von ABPV, CBPV und DWV

Dazu wurde eine ausführliche Literaturrecherche zu neuen, bzw. vom EU-Referenzlabor (EU-RL) für Bienengesundheit (Anses Sophia Antipolis) empfohlenen RT-qPCR Methoden durchgeführt. Vom EU-RL wurde eine den nationalen Referenzlabors zur Verfügung gestellte Standardverfahrensanweisung (SOP) für CBPV, sowie auf Anfrage eine Entwurfsversion für ABPV an die AGES übermittelt. Diesen beiden Methoden wurde der Vorzug gegenüber anderen in der Literatur beschriebenen Methoden gegeben und sie wurden an der Abteilung Molekularbiologie des Instituts für veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling, etabliert. Sowohl für ABPV als auch für CBPV wurde vom EU-RL zusätzlich Plasmid-DNA als Referenzmaterial für die Quantifizierung zur Verfügung gestellt. Im Falle von CBPV wurde zusätzlich ein vom EU-RL organisierter Ringversuch getestet und so die CBPV Quantifizierung evaluiert.

Für DWV konnte zum Zeitpunkt der Methodenetablierung durch das EU-RL weder eine SOP für eine RT-qPCR-Methode noch Referenzmaterial bereitgestellt werden. Stattdessen wurden drei publizierte RT-qPCR-Methoden (Highfield et al., 2009; Blanchard et al., 2007; Berényi et al., 2007) getestet, wobei diese als One-step RT-qPCR-Methoden (SYBR-Green, inklusive Schmelzkurvenanalyse) aufgesetzt wurden, um eine Quantifizierung zu ermöglichen. Zusätzlich wurde eine publizierte TaqMan RT-qPCR-Methode nach Chen et al. (2005) getestet. Alle drei Systeme wurden als Single- oder Duplex RT-qPCR – entweder mit der endogenen Kontrolle Apis-Actin oder mit einer externen Inhibitionskontrolle (Hoffmann et al., 2006) – evaluiert. Für die Messung der Feldproben wurden aufgrund der Evaluierungsergebnisse alle Methoden als Singleplex RT-qPCR durchgeführt. Als Extraktions- und Inhibitionskontrolle wurde die semiquantitative Messung von Apis-Actin anhand einer parallel durchgeführten RT-qPCR durchgeführt (Chen et al., 2005).

Als Testmaterial für die weitere Etablierung und Validierung wurden zwölf Proben (Suspensionen aus jeweils 10 Bienen) aus der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES zur Verfügung gestellt. Aliquote dieser Proben waren von obiger Abteilung im Rahmen früherer Untersuchungstätigkeit mittels klassischer RT-PCR-Methoden positiv auf mindestens eines der genannten Viren getestet worden. Nach Abschluss dieser Vorarbeiten wurden die Untersuchungen auf die drei genannten Viren entsprechend der nachfolgend beschriebenen Methode durchgeführt.

3b.2.3.2.2 Herstellung eines Homogenates zur Virusidentifizierung und -quantifizierung

Aus 10 Bienen der Probe wurde ein Homogenat hergestellt, indem die Bienen in 3 mL DEPC-behandeltem autoklaviertem Wasser (Ambion) mit Hilfe des Homogenisators HOMEX 6 von Bioreba suspendiert wurden.

3b.2.3.2.3 Nukleinsäureextraktion aus Bienenhomogenaten

Die Nukleinsäureextraktion aus Bienenhomogenat-Proben erfolgte automatisiert mit dem NucleoSpin® 96 Virus Core Kit (Macherey-Nagel) auf der Freedom EVO® 150 (Tecan) Plattform.

Die Extraktion erfolgte aus 100 μ L Homogenat und die gereinigte Nukleinsäure wurde in 100 μ L Puffer eluiert und bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

3b.2.3.2.4 Quantitative real-time RT-PCR (RT-qPCR)

Nukleinsäureextrakte aus den Bienenhomogenaten wurden auf folgende Bienenviren getestet: ABPV, CBPV und DWV. Zusätzlich wurde zum Nachweis der erfolgreichen Nukleinsäureextraktion und der Abwesenheit von PCR-Inhibitoren jede Probe auf die endogene Apis-Actin RNA getestet.

Die Reaktionsmixes für die ABPV, CBPV und Apis-Actin RT-qPCR setzten sich zusammen aus 12,5 μ L 2x RT-PCR-Puffer, 1 μ L 25x RT-PCR-Enzyme-Mmix (AgPath-ID One-step RT-PCR kit, Thermo Fisher), 5 μ L Nukleinsäureextrakt und den jeweils spezifischen Primern und fluoreszenzmarkierten TaqMan-Sonden zusammen. Das auf das Gesamtvolumen von 25 μ L/Reaktion fehlende Volumen wurde jeweils mit nukleasefreiem Wasser aufgefüllt. Für die ABPV RT-qPCR wurden die Primer ABPV1 und ABPVRn (je 800 nM), sowie die Sonde ABPVnTaq (100 nM) verwendet (Ciglenc̆ki & Toplak, 2012). Für die CBPV RT-qPCR wurden die Primer qCBPV 9 und qCBPV 10 (je 500 nM), sowie die Sonde CBPV 2 (200 nM) probe verwendet (Blanchard et al., 2007). Für die Apis-Actin RT-qPCR wurden die Primer Apis- β -actin-F und Apis- β -actin-R (je 400 nM), sowie die Sonde Apis- β -actin- (200 nM) verwendet (Chen et al., 2005).

Der Reaktionsmix für die DWV RT-qPCR bestand aus 10 μ L 2x Power SYBR Green Master Mix, 0,16 μ L RT-Enzyme-Mix (Power SYBR® Green RNA-to-CT 1-Step Kit, Thermo Fisher), den Primern DWVQ_F1 und DWVQ_R1 (je 450 nM; Highfield et al., 2009), 4 μ L Nukleinsäureextrakt sowie nukleasefreies Wasser auf das Gesamtvolumen von 20 μ L/Reaktion.

Die Primer und Sonden wurden von den Firmen Thermo Fisher bzw. Eurofins bezogen.

Das Temperaturprofil für die ABPV, CBPV und Apis-Actin RT-qPCRs bestand aus einem RT-Schritt bei $45^{\circ}\text{C}/10$ min, gefolgt von $95^{\circ}\text{C}/10$ min zur Inaktivierung der Reversen Transkriptase und Aktivierung der Taq-Polymerase und 42 Zyklen mit jeweils Denaturierung bei $95^{\circ}\text{C}/10$ sec und Annealing/Extension bei $60^{\circ}\text{C}/1$ min. Das Temperaturprofil für die DWV RT-qPCR bestand aus einem RT-Schritt bei $48^{\circ}\text{C}/30$ min, gefolgt von $95^{\circ}\text{C}/10$ min zur Inaktivierung der Reversen Transkriptase und Aktivierung der Taq-Polymerase und 40 Zyklen mit jeweils Denaturierung bei $95^{\circ}\text{C}/15$ sec, Annealing bei $53^{\circ}\text{C}/30$ sec und Extension bei $72^{\circ}\text{C}/30$ sec. Auf die Amplifikation folgte hier noch eine Schmelzkurvenanalyse mit langsamer Erhitzung auf 95°C (ramp 1%). Bei den DWV-positiven Proben konnten zwei verschiedene Populationen anhand der Schmelztemperatur unterschieden werden (siehe Punkt Differenzierung zwischen DWV-A und DWV-B).

Alle Analysen wurden auf dem 7500 Fast Real-time PCR System (Thermo Fisher) durchgeführt, die Auswertung erfolgte mit der 7500 Software v2.3 (Thermo Fisher).

Nach Nukleinsäureextraktion wurde jede Probe zuerst in der Apis-Actin RT-qPCR getestet, bei inhibierten Proben (CT-Wert deutlich nach rechts verschoben oder No CT) wurden die Extraktion und die Apis-Actin RT-qPCR wiederholt. Danach wurden sämtliche Proben mittels ABPV, CBPV und DWV RT-qPCR ohne parallele Mittestung einer Standardverdünnungsreihe, aber unter Einbeziehung von Negativ- und Positivkontrollen getestet (semiquantitative Testung). Jene Proben, die in der semiquantitativen Testung einen CT-Wert <42 (ABPV, CBPV), bzw. <40 (DWV) gezeigt hatten, wurden dann im Doppelansatz unter gleichzeitiger Mittestung einer externen Standardverdünnungsreihe bekannter Konzentration quantifiziert. Diese Standardverdünnungsreihen wurden aus Plasmid DNA hergestellt, die die jeweiligen Zielsequenzen enthält. Die Plasmide pB2 (ABPV) und pAb2 (CBPV) wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom

European Reference Laboratory for Honeybee Health (ANSES, Frankreich). Das Plasmid pL480 (DWV) wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. Benjamin Lamp (VetMedUni Wien, Österreich). Die parallel mitgeführten Standardverdünnungsreihen erstreckten sich über einen Konzentrationsbereich von 10^8 - 10^1 Kopien/Reaktion (ABPV, CBPV), bzw. von 4×10^8 - 4×10^1 Kopien/Reaktion (DWV).

Die Ergebnisse der quantitativen Virustestung wurden als Viruskopien pro mL Homogenat angegeben. Die Anzahl der Viruskopien pro Biene lässt sich daraus durch Multiplikation mit dem Faktor 0,3 errechnen, wobei zu beachten ist, dass dies einem Durchschnittswert entspricht (10 Bienen, homogenisiert in 3 mL Wasser).

3b.2.3.2.5 Sequenzierung

DWV RT-qPCR positive Proben, die sich in der Schmelztemperatur unterschieden, wurden mittels Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt, die Amplifikate ausgeschnitten, gereinigt und in beiden Richtungen mit den für die PCR verwendeten DWV Primern sequenziert (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, Thermo Fisher). Die kapillarelektrophoretische Auftrennung erfolgte am 3130xl Genetic Analyzer (Thermo Fisher). Die Auswertung der Sequenzen erfolgte mithilfe der Software-Programme BioEdit (Hall, 1999) und MEGA5 (Tamura et al., 2011).

3b.2.3.2.6 Differenzierung zwischen DWV-A und DWV-B

Beide Virusvarianten werden durch die verwendete DWV RT-qPCR (Highfield et al., 2009) detektiert, unterscheiden sich aber deutlich in der Schmelztemperatur der Amplifikationsprodukte, wodurch eine Differenzierung möglich wird. Aufgrund der Sequenzierung ausgewählter, in der Schmelztemperatur differierender Amplifikate und dem anschließenden Datenabgleich mit dem Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) des National Center for Biotechnology Information (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) wurde eine Zuordnung zu DWV-A (Schmelztemperatur zwischen 77 und 80°C) bzw. DWV-B (Schmelztemperatur zwischen 74 und 77°C) getroffen (Martin et al., 2010; Mordecai et al., 2016a).

3b.2.4 Rückstandsuntersuchungen

Die Untersuchungen des Bienenbrottes erfolgten – wie in den vorangegangenen bienenbezogenen Projekten der AGES (MELISSA + Folgeprojekte: Girsch & Moosbeckhofer, 2012; 2013; Moosbeckhofer & Mayr, 2014) – durch das Labor PTRL Europe GmbH, Eiselauer Weg 4, Geb./Bldg. 5, D-89081 Ulm, Deutschland. Details zu Analyten, Methoden, Bestimmungs- und Nachweisgrenzen sind in Tabelle 3.45 und 3.46 zusammengefasst.

Der Einsatz von Multimethoden und ein breites Spektrum von rund 300 erfassten Analyten ermöglichen die Ermittlung einer allfälligen Exposition der Bienenvölker gegenüber Wirkstoffen aus unterschiedlichen Quellen (Pflanzenschutzmitteln, Bioziden und insektiziden bzw. akaraziden Tierarznei- oder Schädlingsbekämpfungsmitteln).

3b.2.5 Berechnung des Hazard Quotienten-Bienenbrot

Basierend auf den gemessenen Rückstandskonzentrationen der Einzelanalyten in Bienenbrot wurde ein „Hazard Quotient-Bienenbrot“ (HQ_{BB}) errechnet, der einen Maßstab für die Bienengefährlichkeit der Pestizidbelastung des analysierten Bienenbrots darstellt (Stoner & Eitzer, 2013;

Traynor et al., 2016). Der ursprünglich von der EFSA verwendete Hazard Quotient stellt einen Wert zur Risikoeinschätzung der bei Anwendung in die Umwelt eingebrachten Pestizidkonzentration dar; Messgröße für die Konzentration ist g/ha (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues, 2012; European Food Safety Authority, 2013b). Die in unserer Studie verwendete Formel zur Berechnung des Hazard Quotienten-einzel (HQ_{einzel}) und des Hazard Quotienten-Bienenbrot (HQ_{BB}) stellt eine Abwandlung des Hazard Quotienten dar, die es erlaubt das Vergiftungsrisiko der Bienen und Larven durch Pestizidrückstände in Bienenprodukten wie Honig, Bienenbrot und Wachs zu ermitteln (Messgröße für die Konzentration $\mu\text{g}/\text{kg}$; Stoner & Eitzer, 2013; Traynor et al., 2016).

In den HQ_{BB} fließen sowohl die Konzentrationen der nachgewiesenen Substanzen als auch die Bienengefährlichkeit der jeweiligen Substanzen ein. Er wird für jede gefundene Substanz einzeln berechnet (HQ_{einzel}) und danach für die gesamte Probe aufsummiert.

$$HQ_{\text{einzel}} = \frac{\text{Konzentraion gefundene Substanz } [\mu\text{g}/\text{kg}]}{LD50 [\mu\text{g pro Biene}]}$$

$$HQ_{\text{BB}} = \sum HQ_{\text{einzel}}$$

In Tabelle 3.36 sind die Werte der $LD50_{\text{oral}}$ bzw. $LD50_{\text{Kontakt}}$ für die nachgewiesenen Substanzen zusammengefasst. Für die Berechnung des HQ_{BB} wurde primär die $LD50_{\text{oral}}$ herangezogen, da das Bienenbrot eine Futterquelle darstellt. Wenn die $LD50_{\text{oral}}$ nicht vorhanden war, wurde die $LD50_{\text{Kontakt}}$ zur Berechnung verwendet. Bei Messwerten unter der Bestimmungsgrenze wurde der Mittelwert aus Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze verwendet.

Von fünf Substanzen liegen keine $LD50$ -Werte vor, weil sie entweder als Konservierungsmittel eingesetzt werden oder Metaboliten von Insektiziden oder Fungiziden darstellen. Diese Substanzen wurden jeweils maximal drei Mal in den 210 untersuchten Proben nachgewiesen (Tabelle 3.40), davon aber niemals in einem im Winter abgestorbenen Volk. Daher wurden sie nicht in der Berechnung des HQ_{BB} berücksichtigt.

Der HQ_{BB} ist dimensionslos. Sein Wert kann aufgrund des durchschnittlichen Pollenkonsums einer Arbeiterin eingeschätzt werden. Details der Berechnung finden sich in Traynor et al. (2016). Daraus ergeben sich nach Traynor et al. (2016) zwei Grenzen, die eine Einschätzung der Höhe des HQ_{BB} erlauben:

Eine **relevante Pestizidbelastung** ist erreicht, wenn der HQ_{BB} einen Wert von 50 überschreitet. Würde eine Ammenbiene sich ausschließlich von Bienenbrot mit einem $HQ_{\text{BB}} = 50$ ernähren, würde sie während ihrer 10-tägigen Ammenphase etwa 0,5% der $LD50$ zu sich nehmen. Erreicht der HQ_{BB} einen Wert über 1000, kann man von einer **erhöhten Pestizidbelastung** ausgehen; in diesem Fall würde eine Ammenbiene 10% der $LD50$ während ihrer Ammentätigkeit zu sich nehmen. Die Grenze von 50 wurde von Traynor et al. (2016) eingeführt um zwischen dem Effekt des HQ_{einzel} von relativ harmlosen Substanzen – wie zum Beispiel Fungiziden mit einem $LD50$ über $100 \mu\text{g}/\text{Biene}$ – und dem von bienengefährlichen Substanzen – wie zum Beispiel Insektizide mit einem $LD50$ unter $0,01 \mu\text{g}/\text{Biene}$ – zu unterscheiden (Tabelle 3.36). Dabei zeigte sich ein negativer Zusammenhang zwischen der Anzahl der im Volk gefundenen Substanzen, die einen HQ_{einzel} über 50 hatten und der Überlebenswahrscheinlichkeit der Völker (Traynor et al., 2016). In der

vorliegenden Studie wurde der Grenzwert von 50 nur in Bienenbrotproben überschritten, die mindestens eines von acht bienenschädlichen Insektiziden enthielten (Abbildung 3.36).

Der HQ_{BB} stellt nur eine ungefähre Schätzung der Bienengefährlichkeit dar, da bei der Berechnung nicht auf bekannte oder mögliche Synergismen zwischen den gefundenen Substanzen Rücksicht genommen wird. Genauso können durch die Verwendung des LD_{50} -Wertes, der nur das Absterben der Bienen misst, aber keine subletalen Schädigungen erfasst, Substanzen unterschätzt werden, die den Bienen auf der Ebene der Subletalität schaden (zum Beispiel Einfluss auf Lernleistung, Orientierung, Heimfindevermögen, Duftbouquet von Bienen und Larven). Außerdem bezieht sich der LD_{50} Wert auf die Aufnahme von Zuckerwasser und nicht auf die Aufnahme von Bienenbrot. Da jedoch andere, besser geeignete Maßeinheiten nicht für alle Substanzen zur Verfügung stehen, wurde in der vorliegenden Studie die LD_{50} als Kriterium gewählt.

Tabelle 3.36: $LD_{50_{oral}}$ und $LD_{50_{Kontakt}}$ der in den Posthoc-Proben nachgewiesenen chemischen Substanzen und die für die Berechnungen des HQ_{BB} herangezogenen Werte, sowie die entsprechenden Quellenangaben. Bei Substanzen mit zwei angeführten Wirkungstypen (zum Beispiel IN, AC) wurde für die weitere Auswertung immer die Kategorie „Insektizid“ herangezogen. Die Kategorie „Wirkungstyp“ bezeichnet die Wirkung gegen bestimmte Organismengruppen und erlaubt keinen direkten Schluss auf die Expositionsquelle.

Substanz	Wirkungstyp	LD_{50} [μ g aktive Substanz / Biene]			Quelle
		oral	Kontakt	Wert für Berechnung	
2-Phenylphenol	FU, CONS	k.A.	k.A.	k.A.	
4,4-Methoxychlor	IN	k.A.	23,57000	23,57000	Atkins et al., 1975
Azoxystrobin	FU	>25,00000	>200,0000	25,00000	EFSA Journal 2010; 8(4):1542
Bioallethrin	IN	k.A.	3,40000	3,40000	Stevenson, 1978
Biphenyl	FU, CONS	k.A.	k.A.	k.A.	
Boscalid	FU	166,00000	200,00000	166,00000	EU Pesticides database
Bromopropylat	AC	183,00000	183,00000	183,00000	IUPAC/PPDB
Chlorantraniliprol	IN	>104,1000	>4,00000	104,10000	EFSA Journal 2013; 11 (6):3143
Chlorfenvinphos	IN	0,55000	4,10000	0,55000	Stevenson 1978
Chlorpyrifos-ethyl	IN	0,25000	0,05900	0,25000	EU Pesticides database
Clothianidin	IN	0,00379	0,02750	0,00379	EFSA Journal 2015; 13(8):4210
Coumaphos	IN, AC	3,00000	3,00000	3,00000	van Buren et al., 1992
Cyfluthrin	IN, AC	0,05000	0,00100	0,05000	EU Pesticides database
Cypermethrin	IN, AC	0,03500	0,02000	0,03500	EU Pesticides database
Cyprodinil	FU	112,50000	>784,0000	112,50000	EFSA Scientific Report (2005) 51,1-78
DDDp,p	MET-IN	k.A.	k.A.	k.A.	
DDTp,p	IN	3,70000	3,90000	3,70000	Stevenson, 1978
Dichlofluanid	FU	k.A.	16,00000	16,00000	IUPAC/PPDB
Difenoconazol	FU	>177,0000	>100,0000	177,00000	EFSA Journal 2011; 9(1):1967
Diflubenzuron	IN	>25,00000	>30,00000	25,00000	EFSA Scientific Report (2009) 332,1-111
Dimethomorph	FU	>32,40000	>102,0000	32,40000	EFSA Scientific Report (2006) 82,1-69
Esfenvalerat	IN	0,21000	0,06000	0,21000	EFSA Journal 2014; 12(11):3873
Fenhexamid	FU	>102,0700	>200,0000	102,07000	EFSA Journal 2014; 12(7):3744
Fenpyroximat	AC	>118,5000	15,80000	118,50000	EFSA Scientific Report (2008) 197,1-104
Fipronil	IN	0,00417	0,00593	0,00417	EFSA Journal 2013; 11(5):3158
Fipronil-sulfon	IN	0,00640	k.A.	0,00640	EFSA Journal 2013; 11(5):3158
Fluazinam	FU	>100,0000	>200,0000	100,00000	EFSA Scientific Report (2008) 137:1-82
Fludioxonil	FU	>100,0000	>100,0000	100,00000	EFSA Scientific Report (2007)110, 1-85
tau-Fluvalinat	IN	12,60000	12,00000	12,60000	EFSA Journal 2010; 8(7):1645
Imidacloprid	IN	0,00370	0,08100	0,00370	EFSA Journal 2015; 13(8):4211
Imidacloprid-Hydroxy-Metabolit	IN	0,15900	k.A.	0,15900	EFSA Journal 2015; 13(8):4211
Imidacloprid-Nitrosimin-Metabolit	IN	0,08000	k.A.	0,08000	EFSA Journal 2015; 13(8):4211
Imidacloprid-Olefin-Metabolit	IN	>0,03600	k.A.	0,03600	EFSA Journal 2015; 13(8):4211

Iprovalicarb	FU	>199,0000	>200,0000	199,00000	EFSA Journal 2015; 13(4):4060
Mepanipyrim	FU	>51,10000	>51,10000	51,10000	EU Pesticides database
Metalaxyl	FU	269,00000	>200,0000	269,00000	EU Pesticides database
Methiocarb	IN, RE	0,47000	0,23000	0,47000	EFSA Scientific Report (2006) 79,1-82
Methiocarb-sulfoxid	MET-IN	k.A.	k.A.	k.A.	
Myclobutanil	FU	33,90000	39,60000	33,90000	EFSA Journal 2010; 8(10):1682
Permethrin	IN	0,28000	0,11000	0,28000	Stevenson, 1978
Picoxystrobin	FU	>200,0000	>200,000	200,00000	EU Pesticides database
Piperonylbutoxid	IN	k.A.	>11,00000	11,00000	ECOTOX knowledgebase
Propargit	AC	>100,0000	47,920000	100,00000	EFSA Journal 2011; 9(5):2087
Propiconazol	FU	>100,0000	>100,0000	100,00000	IUPAC/PPDB
Prothioconazol	FU	>71,00000	>200	71,00000	EFSA Scientific Rep (2007) 106, 1-98
Pyrimethanil	FU	>100,0000	>100,0000	100,00000	EFSA Scientific Report (2006) 61, 1-70
Quinalphos	IN	k.A.	0,07000	0,07000	IUPAC/PPDB
Spirotetramat	IN	>107,3000	>100,0000	107,30000	EFSA Journal 2013; 11(6):3243
Spiroxamin	FU	>100,0000	4,20000	100,00000	EFSA Journal 2010; 8(10):1719
Tebuconazol	FU	83,05000	>200,0000	83,05000	EFSA Journal 2014; 12(1):3485
Tetrahydro-phthalimid (THPI)	MET-FU	k.A.	k.A.	k.A.	
Thiacloprid	IN	17,32000	38,82000	17,32000	EU Pesticides database
Thiamethoxam	IN	0,00500	0,02400	0,00500	EU Pesticides database
Trifloxystrobin	FU	>200,0000	>200,0000	200,00000	EU Pesticides database
TZMU	IN	>113,0000	k.A.	113,00000	EFSA Journal 2015; 13(8):4210
TZNG	IN	3,90000	k.A.	3,90000	EFSA Journal 2015; 13(8):4210

k.A.: keine Angabe; AC: Akarizid; CONS: Konservierungsmittel; FU: Fungizid; IN: Insektizid; MET-FU: Metabolit eines Fungizids; MET-IN: Metabolit eines Insektizids.
 Datenbanken:
 EU pesticides database: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN> UPAC/PPDB: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>
 ECOTOX knowledgebase: <https://cfpub.epa.gov/ecotox>

3b.2.6 Statistische Auswertungen

Die statistischen Auswertungen erfolgten in enger Zusammenarbeit zwischen der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz und dem Fachbereich Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik der AGES. Die gesamte Auswertung wurde mit dem statistischen Programm R durchgeführt (R Core Team, 2015). Für den Zufallsgenerator und das multivariate Modell wurde Version 3.3.2. verwendet, alle anderen Analysen wurden mit der Version 3.2.3. durchgeführt. Alle Abbildungen wurden mit R erstellt (package ggplot2: Wickham, 2009). Die Auswertungen der einzelnen Faktoren (Pestizide, Viren, *Nosema*) wurden ausschließlich mit Hilfe der nicht-parametrischen Tests Chi²-Test, Fisher-Exact Test, Wilcoxon-Mann-Whitney-Test und Kruskal-Wallis durchgeführt (package „coin“: Hothorn et al., 2006).

3b.2.6.1 Prävalenzen

Es wurden Prävalenzen für das Auftreten der in dem Modul analysierten Krankheiten berechnet. Für alle Prävalenzen wurde das 95% Konfidenzintervall berechnet und angegeben. Der Vergleich der Prävalenzen zwischen den lebenden und abgestorbenen Völkern wurde mit Hilfe eines General Linear Model mit quasibinomiale Verteilung durchgeführt (van der Zee et al., 2013).

3b.2.6.2 Multivariates Modell

Für das Modell wurde ein General linear mixed model mit binomialer Verteilung und random Factor berechnet, wobei der Bienenstand eines Volkes als random factor angegeben wurde (package „lme4“: Bates et al., 2015). Als Vorgehen wurde eine Vorwärtsselektion gewählt, das heißt man startete mit einem Basismodell, in dem nur der random Factor inkludiert war. Schrittweise wurde jeweils die Variable mit dem höchsten Erklärungsgrad hinzugefügt. Dabei wurden einzelne Modelle

mittels ANOVA verglichen, zusätzlich wurden Änderungen in AIC (Akaike information criterion) und BIC (Bayesian information criterion) berücksichtigt. Beide Kriterien stellen Maßeinheiten für die Güte eines Modells dar (je kleiner der Wert umso höher ist die Güte) und helfen daher, das beste Modell auszuwählen.

Teilweise mussten die Variablen transformiert werden da die Befallswerte der Krankheiten (*Nosema*, ABPV, CBPV, DWV) eine sehr hohe Bandbreite aufwiesen (0 bis $1,00E+11$). Solche Werte sind für ein statistisches Modell ungünstig, daher wurden die Werte mit dem natürlichen Logarithmus transformiert. Dies war nur für positive Werte möglich, Nullwerte wurden pauschal bei 0 belassen. Zusätzlich wurden für jedes Virus binäre Variablen gebildet, die angaben, ob ein Befall durch ein Virus vorlag oder nicht. Auch der HQ_{BB} wies eine ungünstige Werteverteilung auf und wurde daher mit dem natürlichen Logarithmus transformiert.

3b.3 Ergebnisse

3b.3.1 Beschreibung der Völker der Posthoc Auswahl

Für die Posthoc-Analyse wurden von 915 Völkern mit vollständigem Datensatz insgesamt 210 Völker aus 99 Ständen ausgewählt. Es wurden 11% aller 1980 überwinterten Völker und 53% aller 188 Beobachtungsstände in die Posthoc-Analyse aufgenommen. Pro Stand waren im Mittel 2,12 Völker ($\pm 1,21$ Standardabweichung) in der Studie vertreten, wobei von 12 Ständen mehr als drei Völker ausgewählt wurden. Dies war meist dann der Fall, wenn auf einem Stand mehrere tote Völker vorhanden waren.

In die Posthoc-Studie wurden alle 60 über den Winter abgestorbenen Völker mit kompletten Probenset übernommen (29% tote Völker in der Auswahl; Abbildung 3.51 A). Dies war methodisch bedingt ein höherer Prozentsatz als der Anteil der toten Völker in der Gesamtheit der eingewinterten Völker (7,6% tote Völker). Die lebenden Völker wurden mittels Zufallsgenerator ausgewählt, daher gleichen sich die Verteilungen der Auswinterungsstärke in der Gruppe der ausgewählten Völker und in der Gesamtheit der eingewinterten Völker (Abbildung 3.51 B).

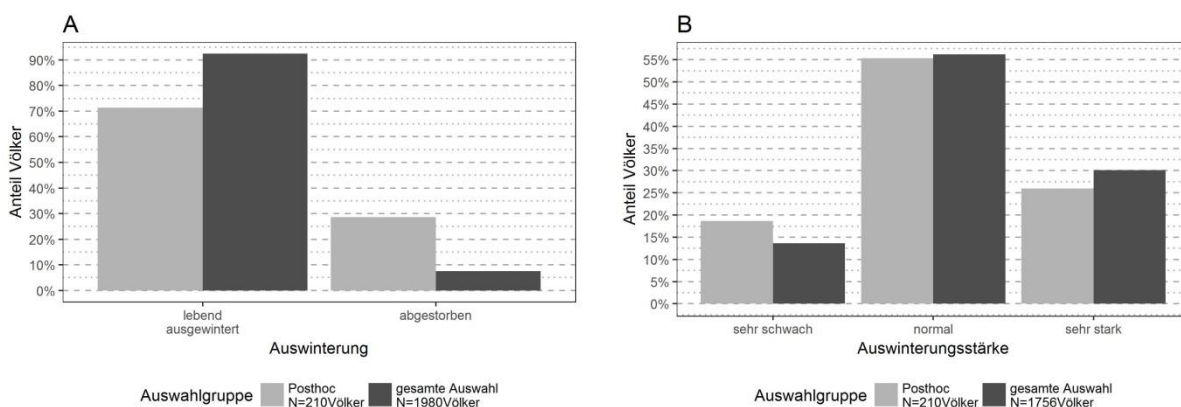


Abbildung 3.51: Vergleich der ausgewählten Posthoc-Stichprobe mit der Gesamtheit der eingewinterten Völker der Beobachtungsstudie. **A** Anteil toter und lebender Völker innerhalb der beiden Gruppen. **B** Vergleich der Auswinterungsstärke (nur lebende Völker mit vorhandener Einschätzung der Volksstärke).

Durch die vermehrte Auswahl von im Winter gestorbenen Völkern war der Varroabefall der Völker in der Posthoc-Auswahl höher als in der Gesamtheit der Proben. Die Völker der ausgewählten Posthoc-Proben hatten im Sommer 2015 einen medianen Varroabefall von 0,3% (unteres Quartil:

0,0%; oberes Quartil: 1,1%). Damit war der Varroabefall dieser Proben höher als der Varroabefall der gesamten Stichprobe (Median 0,2%; unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 0,8%), wie auch in Abbildung 3.52 A ersichtlich ist. Im Herbst 2015 lag der Varroabefall der Posthoc-Völker im Median bei 0,8% (unteres Quartil: 0,0%; oberes Quartil: 3,7%), bei der Gesamtheit der eingewinterten Völker bei 0,6% (unteres Quartil 0,0%; oberes Quartil: 1,9%). Es waren eineinhalb Mal so viele Völker mit über 3% Varroabefall in der Posthoc-Gruppe, wie in der Gesamtheit der beprobten Völker (Abbildung 3.52 B). Für den Zeitraum der zweiten Probenahme (September/Oktober 2015) wurde 3% Varroabefall in der Bienenprobe als kritische Schwelle definiert, über der die Überlebensfähigkeit des Volkes gefährdet ist, wie praktische Erfahrungen gezeigt haben (Büchler et al., 2006; Büchler, 2008; Genersch et al., 2010; Lodesani et al., 2014).

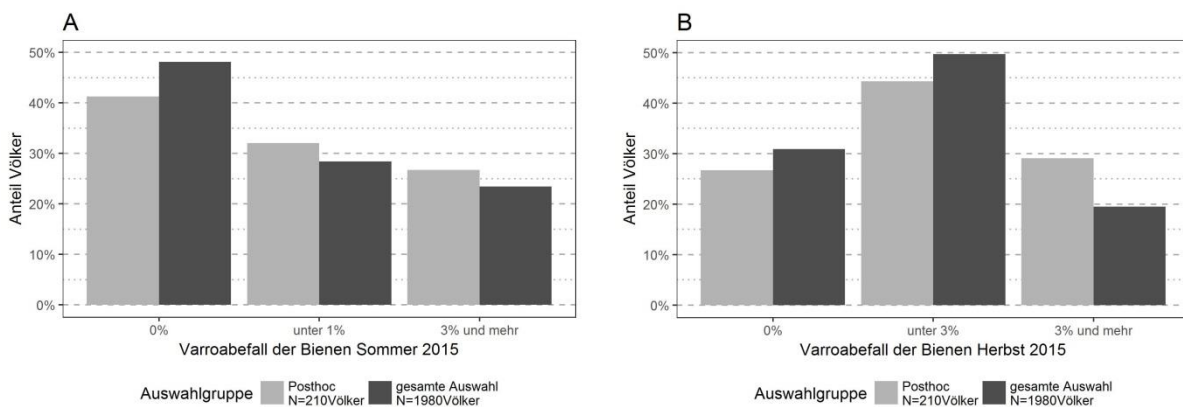


Abbildung 3.52: Vergleich des Varroabefalls von Völkern der ausgewählten Posthoc Stichprobe mit der Gesamtheit der beprobten Völker. **A** Varroabefall beim ersten Besuch im Sommer 2015; **B** Varroabefall beim zweiten Besuch im Herbst 2015.

Auf Standniveau bildeten die ausgewählten Beobachtungsstände die Gesamtheit der Bienenstände des Projekts gut ab (Abbildung 3.53). Die Lage der Bienenstände kann durch Seehöhe und Landschaftscluster beschrieben werden. Für beide Parameter war der Anteil der Bienenstände in der Posthoc-Auswahl und der Gesamtheit der Bienenstände sehr ähnlich (Abbildung 3.53 A, B).

In Bezug auf die Standgröße waren sich diese beiden Völkergruppen ebenfalls sehr ähnlich. In der Gesamtauswahl der beprobten Völker standen auf 37% aller Bienenstände bis zu 10 Völker und auf 43% aller Bienenstände zwischen 11 und 20 Völkern (Abbildung 3.53 C). In der Posthoc-Gruppe hatten 30% der Stände bis zu 10 Völker und 49% der Stände zwischen 11 und 20 Völkern auf dem Stand (Abbildung 3.53 C).

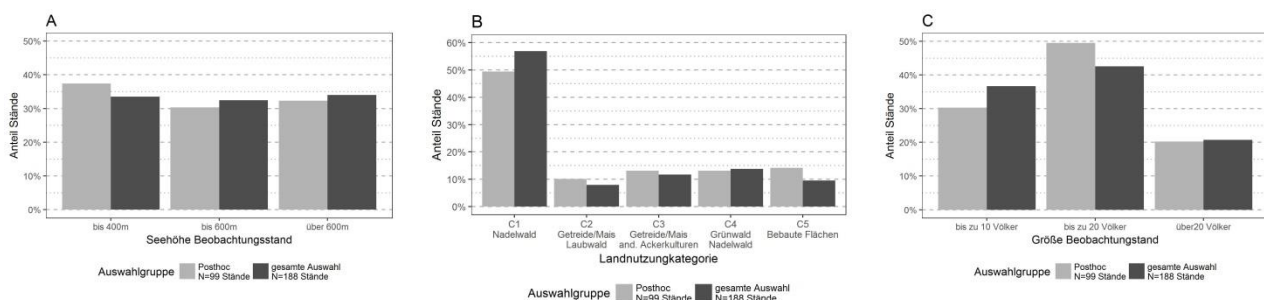


Abbildung 3.53: Vergleich der Standorteigenschaften zwischen allen Bienenständen der Beobachtungs-

studie (188 Stände) und den Bienenständen der Posthoc-Auswahl: **A** Seehöhe der Bienenstände; **B** Landschaftscluster; **C** Größe des Bienenstandes.

3b.3.2 Nosemabefall

3b.3.2.1 Qualitativer und Quantitativer Nosemabefund

Der Nosemabefall der Bienen wurde beim zweiten und dritten Standbesuch sowohl qualitativ als auch quantitativ und nach dem Erregertyp ermittelt (Tabelle 3.37). Beim zweiten Standbesuch waren in 20% der 210 untersuchten Bienenproben Nosemasporen nachweisbar (Sporenmenge pro Biene: Median positiver Proben = 1,29 Millionen; Minimum = 0,15 Millionen; Maximum = 24,00 Millionen). Beim dritten Standbesuch waren in 26,3% der 160 untersuchten Proben Nosemasporen nachweisbar (Sporenmenge pro Biene: Median positiver Proben = 1,64 Millionen; Minimum = 0,02 Millionen; Maximum = 23,36 Millionen).

Tabelle 3.37: Ergebnis der qualitativen und quantitativen Untersuchung auf *Nosema* spp.

Besuch	Nosema qualitativ alle Proben				Positive Proben (Sporen/Biene)		
	negativ	positiv	gesamt	% positiv	Median	Min	Max
2	168	42	210	20,0	1.285.000	145.000	23.995.000
3	118	42	150	26,3	1.635.000	15.000	23.360.000

Die molekularbiologische Differenzierung der positiven Proben ergab für den zweiten und für den dritten Standbesuch in je einer Probe aus unterschiedlichen Völkern und Ständen einen positiven Nachweis sowohl für *Nosema apis* als auch für *N. ceranae*. Alle anderen positiven Proben waren ausschließlich *N. ceranae* zuzuordnen.

3b.3.2.2 Zusammenhang zwischen Nosema und Volksstärke

Sowohl im Herbst 2015 als auch im Frühling 2016 war das Auftreten von *Nosema ceranae* nicht mit der Volksstärke des beprobten Volkes zum Zeitpunkt der Probenentnahme gekoppelt (Herbst: $\chi^2 = 1,580$; $df = 2$; $P = 0,454$; Frühling: $\chi^2 = 0,632$; $df = 2$; $P = 0,729$; Abbildung 3.54). Der Anteil an Völkern mit Nosema war im Frühling etwas höher als im Herbst. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant ($\chi^2 = 1,479$; $df = 1$, $P = 0,224$).

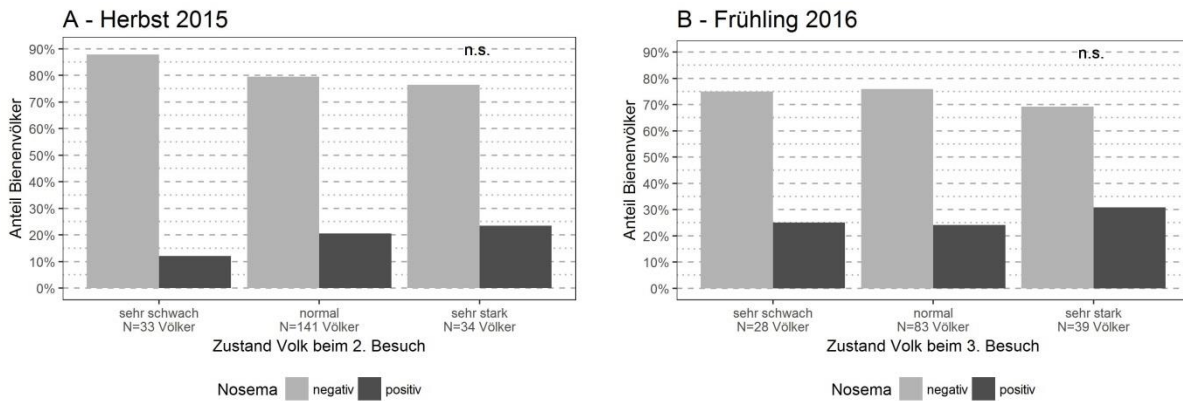


Abbildung 3.54: Befall von *Nosema ceranae* in Abhängigkeit von der Volksstärke des Volkes zum Zeitpunkt der Probenahme. **A** Zweiter Besuch im Herbst 2015; **B** Dritter Besuch im Frühling 2016.

Betrachtet man jedoch die Sporenmenge in den positiven Proben, war diese bei den als sehr schwach eingestuften Völkern sowohl im Herbst 2015 als auch im Frühling 2016 höher als bei normal starken oder sehr starken Völkern (Abbildung 3.55). Wurden die normal starken und sehr starken Völker zu einer Sammelgruppe zusammengefasst und mit der Gruppe sehr schwacher Völker verglichen, waren die Unterschiede in der Sporenzahl für beide Probenahmeterminale signifikant (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: Herbst: $z = -2,109$; $P = 0,035$; Frühling: $z = -1,995$; $P = 0,046$).

Im Herbst 2015 hatten die vier sehr schwachen Völker im Median eine Sporenbelastung von 4,02 Millionen Sporen pro Biene (unteres Quartil: 3,12 Millionen Sporen; oberes Quartil: 9,22 Millionen Sporen). Die 37 normal starken und sehr starken Völker hatten eine deutlich niedrigere Sporenbelastung von 1,13 Millionen Sporen pro Biene (unteres Quartil: 0,62 Millionen Sporen; oberes Quartil: 2,17 Millionen Sporen).

Beim dritten Besuch hatten die sieben schwachen Völker im Median 7,18 Millionen Sporen pro Biene (unteres Quartil: 2,18 Millionen Sporen; oberes Quartil: 9,99 Millionen Sporen) und die 32 normal starken bis sehr starken Völker 1,62 Millionen Sporen pro Biene (unteres Quartil: 0,96 Millionen Sporen; oberes Quartil: 2,40 Millionen Sporen).

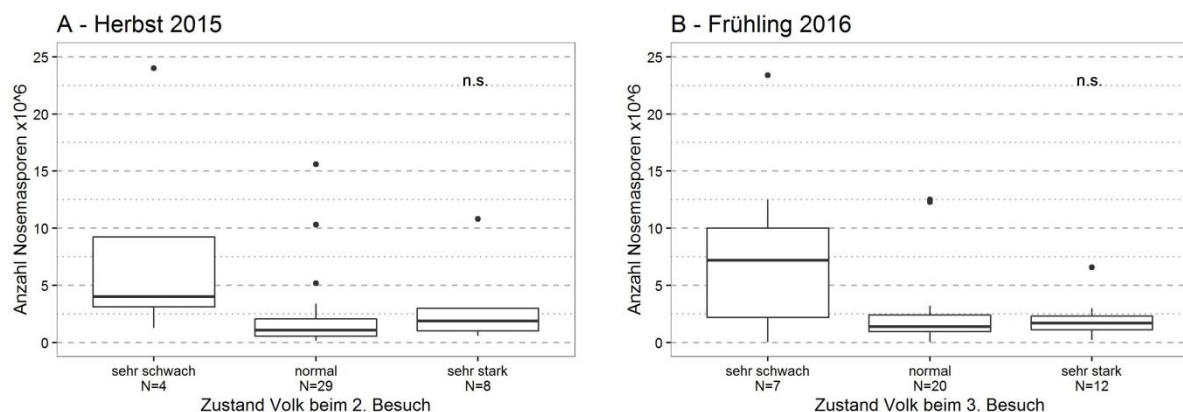


Abbildung 3.55: Anzahl Nosemasporen pro Biene bei den auf *Nosema ceranae* positiv getesteten

Völkern in Abhängigkeit von der Volksstärke zum Zeitpunkt der Probenahme: (A) beim zweiten Besuch im Herbst 2015 (Kruskal-Wallis Test: $H = 5,724$, $df = 2$, $P = 0,057$) und (B) beim dritten Besuch im Frühling 2016 (Kruskal-Wallis Test: $H = 4,023$, $df = 2$, $P = 0,134$). n.s. kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen. Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil.

3b.3.2.3 Nosemabefund und Überwinterungserfolg der Bienenvölker

Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Sporen von *Nosema ceranae* im Herbst 2015 und dem Überleben der Völker im darauffolgenden Winter ($\chi^2 = 0,328$; $df = 1$; $P = 0,567$; Abbildung 3.56 A). 21% aller lebenden und 17% aller toten Völker waren mit *N. ceranae* infiziert (Tabelle 3.38). Auch in der Sporenmenge pro Biene bestand kein signifikanter Unterschied zwischen toten und lebenden Völkern (Wilcoxon-Mann-Whitney Test: $z = -0,266$; $P = 0,790$; Abbildung 3.56 B). Während die toten Völker im Median 1,28 Millionen Sporen pro Biene enthielten (unteres Quartil: 0,90 Millionen; oberes Quartil: 2,00 Millionen), waren in den positiven Proben der lebenden Völker im Median 1,23 Millionen Sporen pro Biene vorhanden (unteres Quartil: 0,63 Millionen; oberes Quartil: 2,98 Millionen).

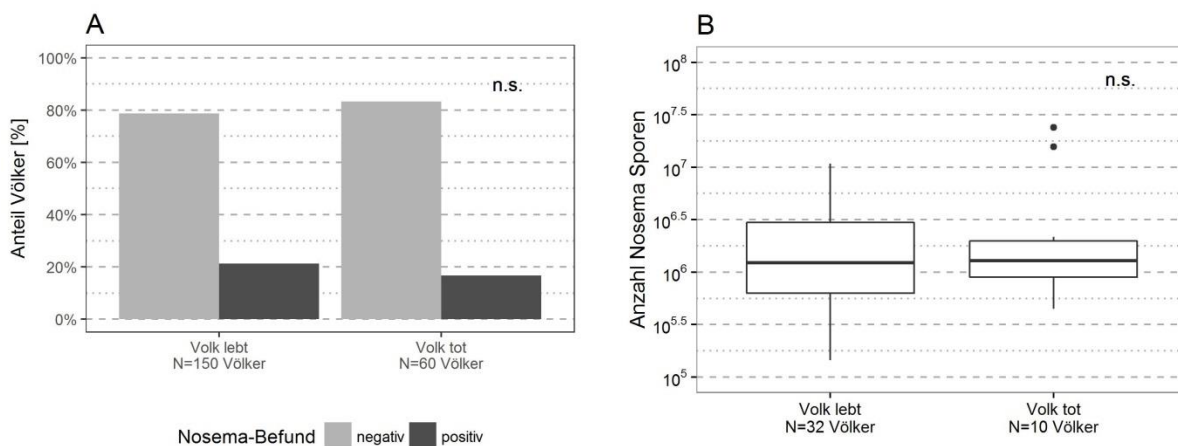


Abbildung 3.56: Befall der Völker mit *Nosema ceranae* im Herbst und Völkerverluste im Winter 2015/16. **A** Anteil der Völker mit positivem Nosema Befund bei den lebenden bzw. über den Winter abgestorbenen Völkern (N = 210 Völker). **B** Vergleich der Sporenmenge pro Biene der lebenden und abgestorbenen Völker (N = 42 positiv getestete Völker). Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. Statistik: (A) χ^2 -Test über alle Gruppen; (B) Wilcoxon-Mann-Whitney-Test; n.s. kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

3b.3.3 Ergebnisse der RT-qPCR-Untersuchung auf drei Bienenviren (ABPV, CBPV, DWV)

Nach der Etablierung und Validierung der neuen Methoden an der AGES, Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling, Abteilung Molekularbiologie, erfolgten die Untersuchungen an den Bienenproben vom zweiten Standbesuch.

3b.3.3.1 Qualitativer Virusnachweis

Die Häufigkeit des Auftretens ist für die untersuchten Viren als Gesamtwert für alle 210 untersuchten Völker und differenziert nach lebend bzw. tot ausgewinterten Völkern in Tabelle 3.38 zusammengefasst. Da für DWV mehrere Typen unterschieden werden (Martin et al., 2012; Mordecai et

al., 2016b) – zwei davon wurden auch in der vorliegenden Studie nachgewiesen –, sind diese in der Tabelle auch getrennt ausgewiesen.

ABPV war das am häufigsten nachgewiesene Virus (133 positive Proben), gefolgt von DWV (77 positive Proben – davon 24 Proben DWV-A und 51 Proben DWV-B). Bei den lebend ausgewinterten Völkern war der Anteil DWV-positiver Proben signifikant geringer als bei den während des Winters abgestorbenen Völkern (DWV-total: $\text{Chi}^2 = 9,743$; $\text{df} = 1$; $P = 0,002$). CBPV war in 53 Proben nachweisbar. Dass der Anteil CBPV-positiver Proben bei den lebend ausgewinterten Völkern signifikant höher war als bei den über den Winter abgestorbenen ($\text{Chi}^2 = 6,827$; $\text{df} = 1$; $P = 0,009$), ist ein auffälliger Befund, für den aus den verfügbaren Daten keine plausible Erklärung ableitbar ist.

Tabelle 3.38: Bienenproben zweiter Standbesuch (Herbst 2015): Prävalenzen der untersuchten Krankheitserreger auf Volksniveau. Es ist die Häufigkeit des Auftretens und das 95%-Konfidenzintervall in Klammer gegeben. Vom Virus DWV ist sowohl das gesamte Auftreten (DWV-total) als auch das Auftreten der beiden unterschiedlichen Typen DWV-A und DWV-B angegeben. P-Werte: Signifikanzlevel, auf dem sich die Prävalenz der über den Winter abgestorbenen Völker signifikant von der Prävalenz der lebend ausgewinterten Völker unterscheidet. Bei signifikantem Unterschied in der Prävalenz zwischen lebend ausgewinterten und toten Völkern ist keine Prävalenz für die gesamte Anzahl der Völker angegeben, da aufgrund der signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen keine Aussage über die Gesamtheit der Völker getroffen werden kann.

	alle Völker (N = 210)		lebend ausgewintert (N = 150)		über Winter abgestorben (N = 60)		P-Werte
	Anzahl positiv	Prozent positiv	Anzahl positiv	Prozent positiv	Anzahl positiv	Prozent positiv	
<i>N. ceranae</i>	42	20,0% (15,0-25,8%)	32	21,3% (15,3-28,4%)	10	16,7% (8,7-27,5%)	0,441
<i>N. apis</i>	1	0,5% (0,0-2,1%)	1	0,7% (0,0-2,9%)	0	0,0% (0-0)	0,936
ABPV	133	63,3% (56,7-69,7%)	94	62,7% (54,7-70,2%)	39	65,0% (52,4-76,4%)	0,752
CBPV			45	30,0% (23,0-37,7%)	8	13,3% (6,3-23,5%)	0,009
*DWV total			45	30,0% (23,0-37,7)	32	53,3% (40,7-65,7%)	0,002
DWV-A	24 ^A	11,5% (7,7-16,4%)	15 ^B	10,1% (5,9-15,6%)	9 ^C	15,3% (7,6-25,9%)	0,305
DWV-B			29 ^B	19,5% (13,6-26,3%)	22 ^C	37,3% (25,6-50,1%)	0,009

* Typisierung von DWV bei zwei Proben nicht möglich, daher Gesamtanzahl der in die Berechnung eingeflossenen Völker verringert: ^A N = 208 Völker; ^B N = 149 Völker; ^C N = 59 Völker

Bei 40 der 210 untersuchten Proben war keine der drei untersuchten Virusspezies nachweisbar. Eine Virusspezies war in 92 Proben, zwei Virusspezies in 63 Proben und drei Virusspezies in 15 Proben nachweisbar. Da die Proben aus Sammelproben von je 10 Bienen bestanden, ist nicht zu entscheiden, ob der Nachweis von mehr als einem Virus in der Probe auf Mehrfachbefall einer Einzelbiene oder Einzelbefall mehrerer Bienen mit den drei verschiedenen Virusspezies zurückzuführen ist.

3b.3.3.2 Quantitativer Virusnachweis

Bei allen drei untersuchten Virusspezies gab es eine große Spannweite in der Anzahl der Virus-kopien. In Tabelle 3.39 sind die Anzahl an positiven Proben, der Median der ermittelten Virus-kopien pro mL Homogenat, Minimal- und Maximalwert und der Wert für das untere und obere Quartil zusammengefasst.

Tabelle 3.39: Ergebnisse der quantitativen Virusuntersuchung. Es sind nur die positiven Proben angeführt; Gesamtzahl untersuchter Proben: N = 210 (lebende Völker: N = 150; tote Völker: N = 60); Min: Minimum; Max: Maximum, Q1: unteres Quartil; Q3: oberes Quartil; Mio.: Millionen.

Virus	Status Volk	Anzahl positiver Proben	Anzahl Viruskopien pro mL Homogenat				
			Median	Min	Max	Q1	Q3
ABPV	lebend	94	6.429	418	18.070,0 Mio.	1.832	12.490
	tot	39	12.480	327	102.100,0 Mio.	1.965	400.900
CBPV	lebend	45	3.006	182	13,0 Mio.	1.229	9.957
	tot	8	4.755	607	0,2 Mio.	877	53.940
DWV total	lebend	45	1.364	22	92,0 Mio.	137	18.620
	tot	32	21.290	60	9,0 Mio.	1.382	166.600
DWV-A	lebend	15	892	87	92,0 Mio.	249	11.360
	tot	9	160.200	153	9,0 Mio.	57.160	2,0 Mio.
DWV-B	lebend	29	1.861	22	3,3 Mio.	97	27.680
	tot	22	17.830	82	0,3 Mio.	1.790	61.670

3b.3.3.3 Virusbefund und Überwinterungserfolg der Bienenvölker

Im folgenden Abschnitt ist der Virusbefund (qualitativ, quantitativ) der Bienenprobe vom zweiten Standbesuch mit dem Überwinterungserfolg der Bienenvölker in Beziehung gesetzt.

3b.3.3.3.1 ABPV

Zwischen dem Absterben der Völker im Winter 2015/16 und dem Befall der Bienen mit ABPV im Herbst 2015 bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang ($\chi^2 = 0,025$; $df = 1$; $P = 0,874$; Abbildung 3.57 A). Bei 35% aller über den Winter abgestorbenen Völker und bei 37% aller erfolgreich überwinterten Völker war in den Bienenproben ABPV nachweisbar. Betrachtet man ausschließlich die 133 infizierten Völker, unterscheidet sich die Anzahl der ABPV-Kopien pro mL Homogenat bei lebenden und toten Völkern nicht signifikant (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = -1,720$; $P = 0,085$; Abbildung 3.57 B; Tabelle 3.39).

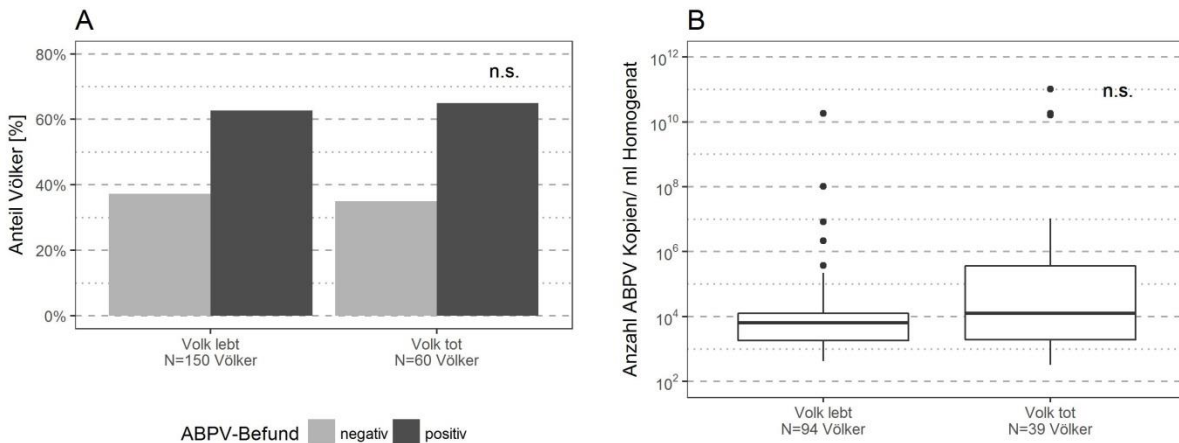


Abbildung 3.57: Befall der Völker mit dem Akute Bienenparalyse Virus (ABPV) im Herbst 2015 und Völkerverluste im Winter 2015/16. **A** Anteil der Völker mit positivem ABPV-Befund an den lebenden bzw. über den Winter abgestorbenen Völkern (N=210 Völker). **B** Vergleich der Höhe des ABPV-Befalls der lebenden und abgestorbenen Völker (N = 133 positiv getestete Völker). Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. Statistik: **(A)** Chi²-Test über alle Gruppen; **(B)** Wilcoxon-Mann-Whitney-Test; n.s. kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

3b.3.3.3.2 CBPV

In Proben von überlebenden Völkern war CBPV doppelt so häufig nachweisbar wie in Proben von im Winter abgestorbenen Völkern (Chi² = 5,457; df = 1; P = 0,019; Abbildung 3.58 A). Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Virusbelastung zwischen erfolgreich überwinterten und abgestorbenen Völkern (Wilcoxon-Test: z = 0; P = 1,000; Abbildung 3.58 B; Tabelle 3.39).

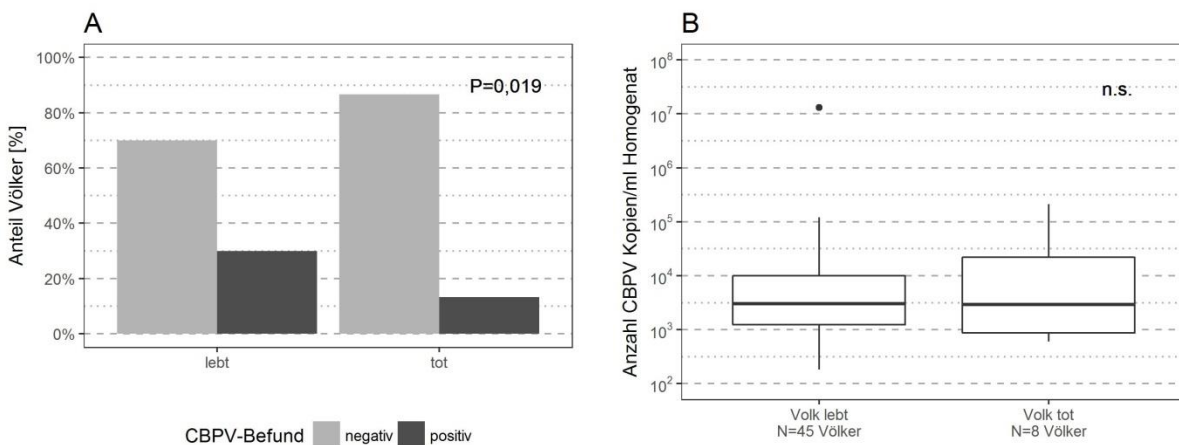


Abbildung 3.58: Befall der Völker mit dem Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV) im Herbst 2015 und Völkerverluste im Winter 2015/16. **A** Anteil der Völker mit positivem CBPV-Befund an den lebenden bzw. über den Winter abgestorbenen Völkern (N = 210 Völker). **B** Vergleich der Höhe des CBPV-Befalls der lebenden und abgestorbenen Völker (N = 53 positiv getestete Völker). Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. Statistik: **(A)** Chi²-Test über alle Gruppen; **(B)** Wilcoxon-Mann-Whitney-Test; n.s. kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

3b.3.3.3.3 DWV

Zwischen dem Absterben der Völker im Winter 2015/16 und dem Befall der Bienen mit DWV im Herbst 2015 bestand ein statistisch signifikanter Zusammenhang ($\chi^2 = 9,068$; $df = 1$; $P = 0,003$; Abbildung 3.59 A). In der Gruppe der über den Winter abgestorbenen Völker war der Anteil mit positivem DWV-Nachweis wesentlich größer als in der Gruppe der überlebenden Völker. Auch bei Betrachtung der Virusbelastung der 77 positiv getesteten Völker bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Völkergruppen (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = -2,470$; $P = 0,0135$; Abbildung 3.59 B; Tabelle 3.39). Die Anzahl der DWV-Kopien pro mL Homogenat in toten Völkern war im Median 16 Mal höher als in den überlebenden Völkern.

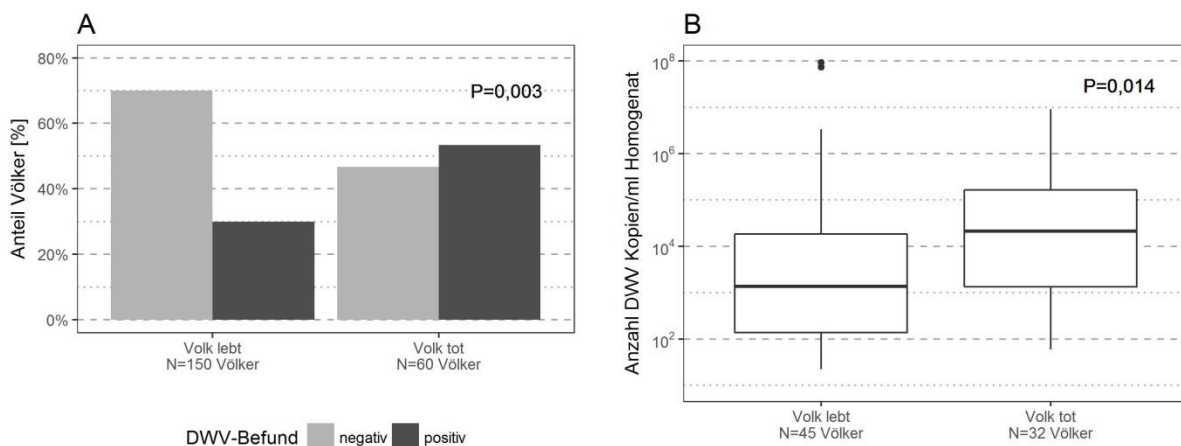


Abbildung 3.59: Befall der Völker mit dem Flügeldeformationsvirus (DWV) im Herbst 2015 und Völkerverluste im Winter 2015/16. **A** Anteil der Völker mit positivem DWV-Befund an den lebenden bzw. über den Winter abgestorbenen Völkern ($N = 210$ Völker). **B** Vergleich der Höhe des DWV-Befalls der lebenden und abgestorbenen Völker ($N = 77$ positiv getestete Völker). Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. Statistik: **(A)** χ^2 -Test über alle Gruppen; **(B)** Wilcoxon-Mann-Whitney-Test zwischen den zwei Gruppen

Der Typ des DWV-Erregers hatte in der vorliegenden Studie keinen Einfluss auf das Überleben der Völker während der Überwinterung ($\chi^2 = 0,045$; $df = 1$; $P = 0,833$; Abbildung 3.60 A). Es waren 38% der Völker mit einer Infektion mit DWV-A abgestorben und 43% der Völker mit einer Infektion mit DWV-B. Völker mit DWV-A unterschieden sich nicht signifikant in der Häufigkeit des Absterbens von Völkern ohne DWV-Infektion ($\chi^2 = 2,209$; $df = 1$; $P = 0,137$) – dieses Ergebnis kann durch die geringe Stichprobengröße der DWV-A infizierten Völker bedingt sein. Es trat keine Doppelinfektionen von DWV-A und DWV-B auf.

Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Typen in der Anzahl der DWV-Kopien pro mL Homogenat (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 1,056$; $P = 0,291$). Es ist jedoch ein Trend zu erkennen, dass in Proben von abgestorbenen Völkern, die mit DWV-A infiziert waren, mehr Viruskopien pro mL Homogenat zu finden waren als in Proben von abgestorbenen Völkern mit einer DWV-B Infektion ($z = 1,958$; $P = 0,050$; Abbildung 3.60 B). In den Proben von überlebenden Völkern ist kein Unterschied in der Anzahl der Viruskopien pro mL Homogenat zwischen den DWV Typen zu finden ($z = 0,458$; $P = 0,647$; Abbildung 3.60 B).

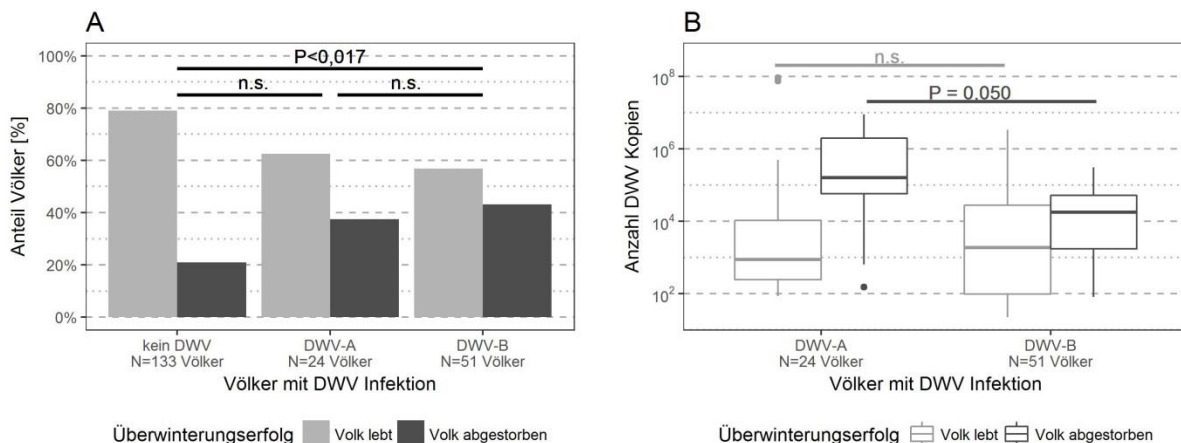


Abbildung 3.60: Befall der Völker mit zwei Typen des Flügeldeformationsvirus (DWV) im Herbst 2015 und Völkerverluste im Winter 2015/16. **A** Anteil der abgestorbenen Völker, die nicht mit DWV, mit DWV-A oder DWV-B befallen waren. **B** Vergleich der Höhe des DWV-Befalls der zwei Typen bei lebenden und abgestorbenen Völkern (N = 75 positiv getestete Völker). Darstellung als Boxplot-Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. Statistik: **(A)** paarweise Chi²-Test der drei DWV-Gruppen, Bonferroni-korrigiert; **(B)** Wilcoxon-Mann-Whitney-Test; n.s.: nicht signifikant.

3b.3.4 Mehrfachinfektionen

Bei den 210 untersuchten Bienenvölkern waren in 181 Bienenproben (86%) entweder *N. ceranae*, ABPV, CBPV oder DWV nachweisbar. Mehrfachinfektionen kamen in 90 Bienenproben (43%) vor. Dabei waren in 60 Proben zwei Erreger nachweisbar, in 26 Proben drei Erreger und in vier Proben alle vier untersuchten Erreger.

Bei den 42 mit *N. ceranae* infizierten Bienenvölkern war in 74% der Fälle mindestens ein Virus nachweisbar (Abbildung 3.61 A). ABPV stellte mit 22 Fällen die häufigste Zusatzinfektion dar (52% der *Nosema*-positiven Proben; Abbildung 3.62), gefolgt von CBPV (43% der *Nosema*-positiven Proben) und DWV (33% der *Nosema*-positiven Proben).

Bei den 133 ABPV-positiven Bienenproben waren in 57 Proben (= 43% der ABPV-positiven Proben) keine zusätzlichen Erreger nachweisbar (Abbildung 3.61 B). In 38% der ABPV-positiven Proben war ein weiterer Erreger nachweisbar und in 17% der Proben waren zwei Erreger nachweisbar. Der häufigste zusätzliche Erreger war DWV (64% der ABPV-positiven Proben; Abbildung 3.62).

In den 53 CBPV-positiven Bienenproben waren sehr häufig auch andere Erreger nachweisbar (Abbildung 3.61 C). In 43% der Proben wurden zwei weitere Erreger identifiziert und in 8% der Fälle drei weitere Erreger. Nur in 13% der Fälle wurde ausschließlich CBPV in der Probe gefunden. In zwei Drittel aller CBPV-positiven Proben wurde zusätzlich ABPV gefunden und in 45% der Proben DWV (Abbildung 3.62).

Bei den 77 DWV-positiven Bienenproben war bei der Hälfte ein weiterer Erreger nachweisbar (Abbildung 3.61 D). Dieser war in 80% der Fälle ABPV (31 von 39 Fällen mit einem weiteren Erreger). In weiteren 23% der positiven DWV Proben waren zwei zusätzliche Erreger nachweisbar. 21% der DWV-positiven Proben enthielten keine weiteren der untersuchten Erreger.

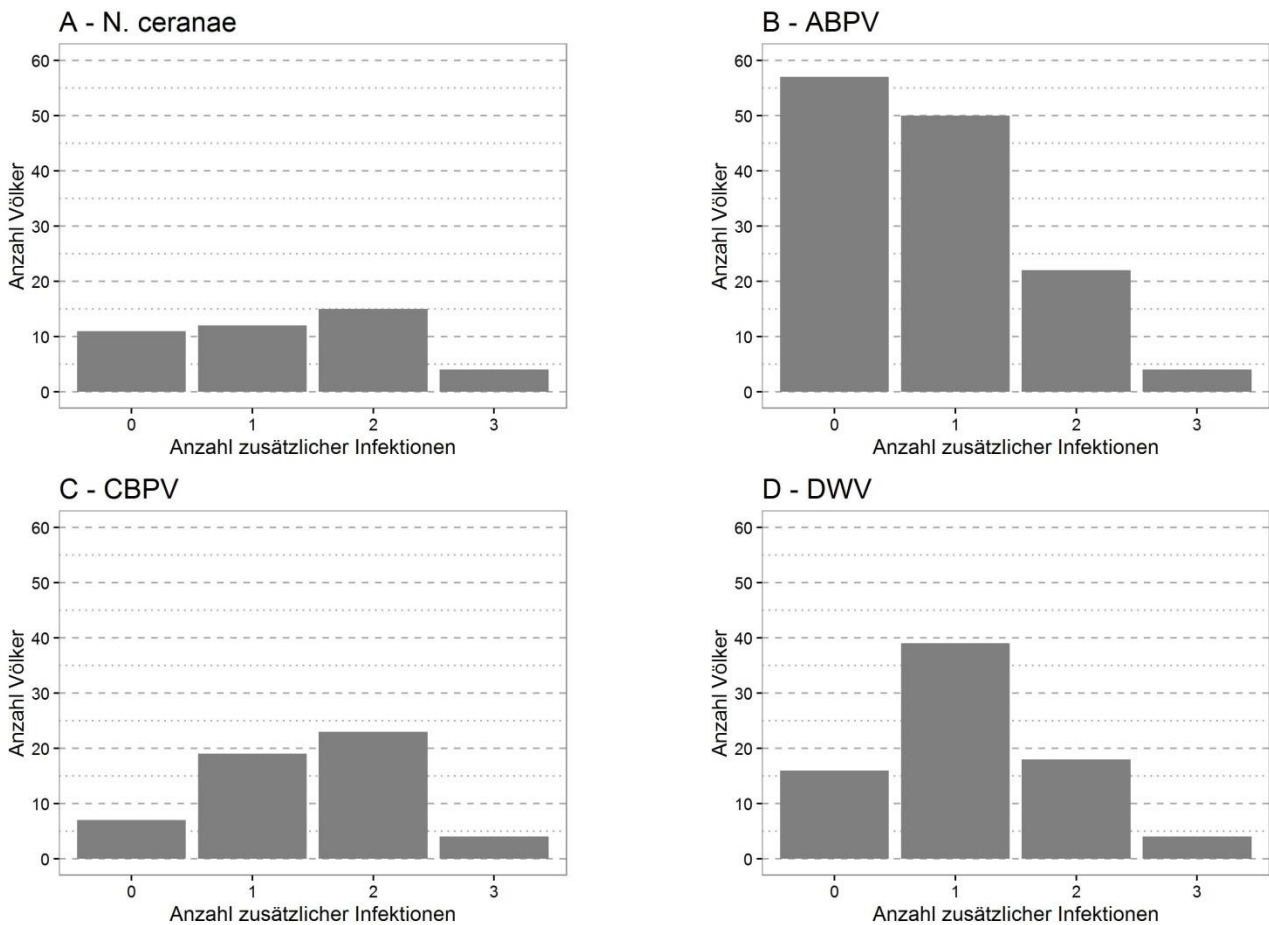


Abbildung 3.61: Anzahl der zusätzlich zum angeführten Erreger festgestellten Erreger in 210 Bienenproben des zweiten Besuchs. Die Bienenproben wurden auf *Nosema ceranae*, ABPV, CBPV und DWV getestet. **A** *Nosema ceranae* (N=42 positive Proben); **B** ABPV (N=133 positive Proben); **C** CBPV (N=53 positive Proben); **D** DWV (N=77 positive Proben).

Der Anteil der abgestorbenen Völker schwankte zwischen 17% und 47%, je nachdem welche Erreger-Paare in den Bienenproben gefunden wurden (Abbildung 3.62). Der Anteil der abgestorbenen Völker war bei jedem Erreger in der Paarung mit DWV am höchsten und in der Paarung mit CBPV am geringsten. Die mit Abstand höchsten Winterverluste wurden bei der Paarung von DWV und ABPV erreicht: hier starben 23 von 49 Völkern über den Winter ab (47%). Dabei starben Völker signifikant öfter ab, wenn sie mit ABPV und DWV infiziert gewesen sind als wenn sie nur mit ABPV infiziert waren (Fisher-Exact Test: $P = 0,013$). Doppelinfektionen mit DWV führten bei CBPV bzw. *N. ceranae* nicht zu einer signifikanten Erhöhung der Sterberate im Vergleich zur Einfachinfektion (Fisher-Exact Test: *N. ceranae*: $P = 1,000$; CBPV: $P = 0,293$).

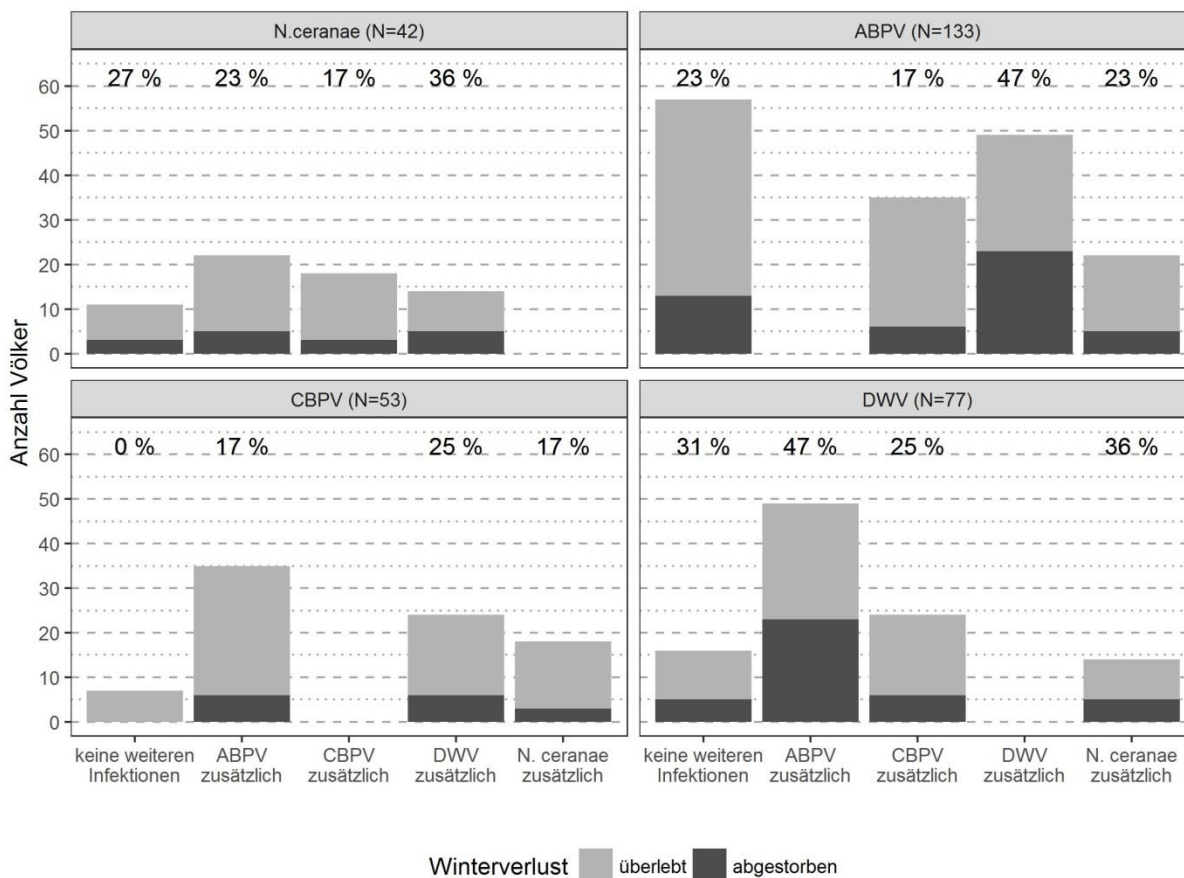


Abbildung 3.62: Anzahl der Bienenproben, in denen zusätzlich zum angeführten Erreger entweder keine weitere Infektion oder ein weiterer der drei untersuchten Erreger gefunden wurden. Die Bienenproben wurden auf *Nosema ceranae*, ABPV, CBPV und DWV getestet. Die Summe aller pro Erreger angeführten Proben überschreitet aufgrund von Drei- und Vierfachbefall die Anzahl der untersuchten Proben. Hellgraue Balken: Volk hat den Winter 2015/16 überlebt; dunkelgraue Balken: Volk ist über den Winter abgestorben. Prozentwerte: Anteil über den Winter abgestorbener Völker.

3b.3.5 Rückstandsuntersuchungen an Bienenbrot

Die in der Posthoc Studie rückstandsanalytisch untersuchten Bienenbrotproben waren beim zweiten Standbesuch im Herbst 2015 entnommen worden. Damit sollte überprüft werden, ob das für die Aufzucht der Winterbienen im Herbst und Spätherbst 2015 – bzw. für die Aufzucht der ersten Brutgenerationen im Spätwinter des Folgejahres – verfügbare Bienenbrot Rückstände von Pestiziden enthielt oder nicht. Zur Verwendung des Sammelbegriffes „Pestizide“ in der vorliegenden Arbeit siehe Infobox Pestizide unter 3b.2.2.1 am Anfang dieses Berichtsteils.

3b.3.5.1 Nachgewiesene Analyten und deren Häufigkeiten

In den 210 untersuchten Einzelproben der ausgewählten Völker wurden insgesamt 48 Analyten nachgewiesen (Abbildung 3.63; Tabelle 3.40 mit Angabe der Wirkungstypen). Die fünf mit Abstand am häufigsten nachgewiesenen Wirkstoffe waren Fludioxonil (62x), Piperonylbutoxid (57x), tau-Fluvalinat (43x), Esfenvalerat (22x) und Thiacloprid (21x). In einer Häufigkeit zwischen 10 und 20 positiven Proben wurden Fluazinam, Cyprodinil, der Clothianidinmetabolit TZMU, Iprovalicarb und Metalaxyl nachgewiesen. Details für die in weniger als 10 Proben nachgewiesenen Analyten sind Abbildung 3.63 zu entnehmen.

In 42 Proben (= 20%) war keiner der rund 300 untersuchten Analyten nachweisbar. Dabei war kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit der rückstandsfreien Proben zwischen der Gruppe der im Frühling lebenden Völker und der Gruppe der über den Winter abgestorbenen Völker vorhanden (20% aller lebenden Völker, 22% aller toten Völker, Chi²-Test: Chi²=0,036; df=1; P=0,849). In 64 Proben (= 31%) war ein Analyt nachweisbar, in weiteren 53 Proben (=25%) waren zwei Pestizide nachweisbar. In 51 Proben (24%) waren drei oder mehr Pestizide nachweisbar. Die maximale Anzahl an nachgewiesenen Pestiziden in einer Probe waren neun nachgewiesene Pestizide.

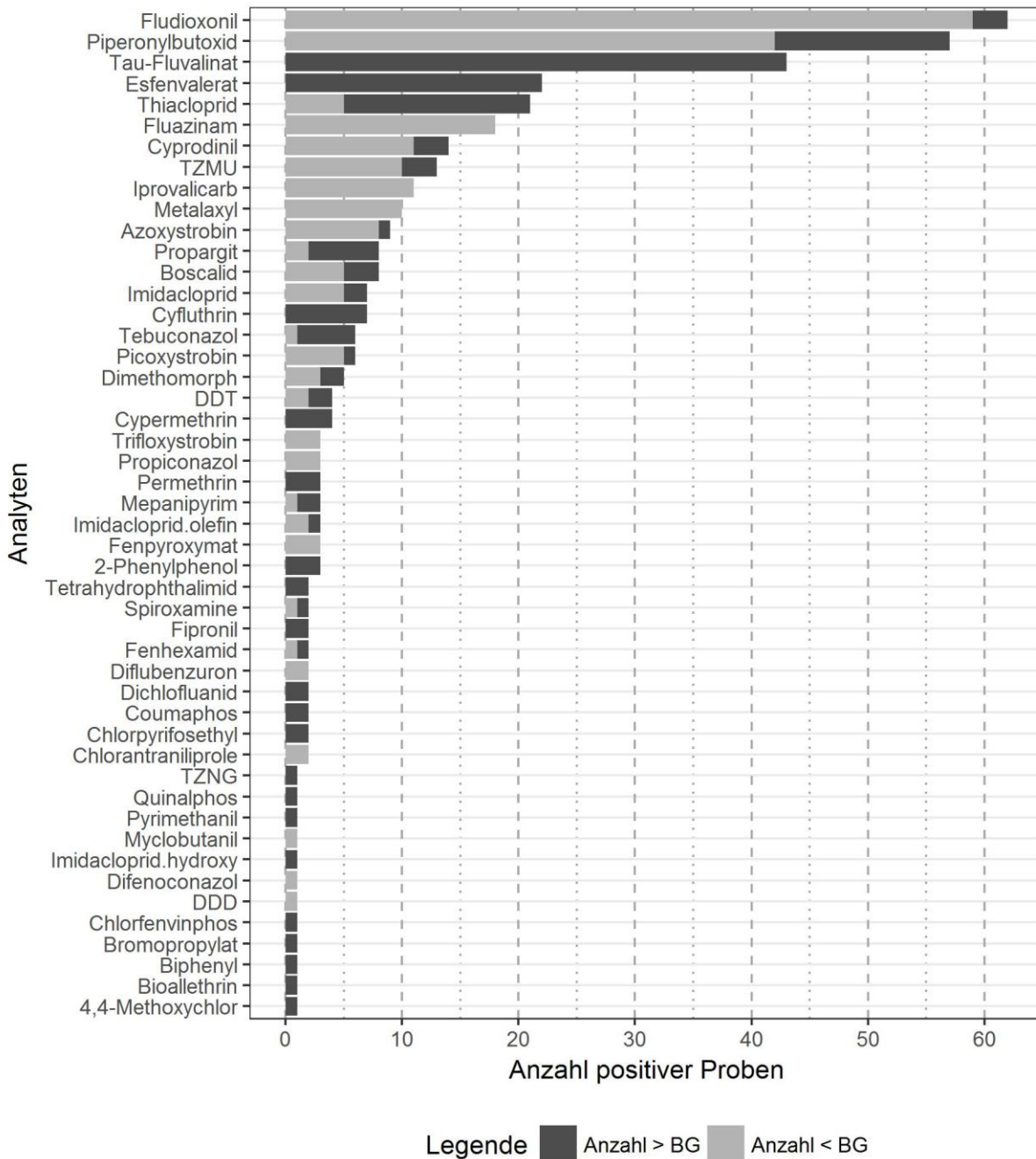


Abbildung 3.63: Häufigkeit der nachgewiesenen Wirkstoffe und Metaboliten in den 210 untersuchten Bienenbrotproben. BG = Bestimmungsgrenze; es sind nur Analyten mit positivem Nachweis gelistet.

Bezüglich der möglichen Expositionsquellen für die in den Bienenbrotproben nachgewiesenen Analyten sind nur sehr eingeschränkt Aussagen möglich. Der Grund liegt darin, dass einige Wirkstoffe sowohl in Pflanzenschutzmittel-, Biozid- als auch Tierarzneimittelpräparaten Verwendung finden. Somit könnten Anwendungen aus jeder der drei genannten Gruppen der Grund für die nachgewiesene Exposition der Bienen gewesen sein. Weitere Ausführungen dazu finden sich im Abschnitt 3b.2.2.1 (Infobox Pestizide).

Für 29 der in Abbildung 3.63 aufgelisteten Stoffe waren bei einer Abfrage am 8.6.2017 im Register der ECHA keine Einträge hinsichtlich einer Zulassung als Biozidwirkstoff zu finden („no results found“); zwei dieser Stoffe (Bromopropylat, Coumaphos) waren vor Jahren in Österreich als Varroabekämpfungsmittel zugelassen und dürften somit Altlasten aus bereits länger zurückliegenden Anwendungen darstellen. Für 15 Stoffe, darunter auch bienengefährliche (zum Beispiel Fipronil, Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Cypermethrin, Cyfluthrin, Permethrin), verschiedene Fungizide, das Insektizid Thiacloprid und den Synergisten Piperonylbutoxid waren entsprechende Einträge mit dem Status „approved“ gelistet. Das heißt, die formale Voraussetzung für den Antrag auf Zulassung eines Biozidpräparates mit diesem Wirkstoff wäre gegeben.

Von den vier unter das EU-Teilverbot für bestimmte landwirtschaftliche Kulturarten und Anwendungsformen fallenden Wirkstoffen waren Clothianidin und Thiamethoxam in keiner Probe nachweisbar. Imidacloprid war in sieben Proben nachweisbar (2x >BG; Maximum: 0,0047 mg/kg; 5x <BG) und Fipronil in zwei Proben (2x >BG; Maximum: 0,0011 mg/kg). Von den Metaboliten dieser Wirkstoffe war der Imidacloprid-Hydroxy-Metabolit in einer Probe nachweisbar (>BG; 0,0012 mg/kg), der Imidacloprid-Olefin-Metabolit in drei Proben (1x >BG: 0,0038 mg/kg; 2x <BG). Von den untersuchten Clothianidin-Metaboliten war TZMU in 13 Proben nachweisbar (3x >BG; Maximum: 0,0016; 10x <BG;) und TZNG in einer Probe (>BG: 0,012 mg/kg). Der Fipronil-Metabolit Fipronilsulfon war in keiner Probe nachweisbar. Unter Berücksichtigung der niedrigen LD₅₀-Werte ist immer von einer Beeinträchtigung der Bienen auszugehen, wenn Rückstände gefunden werden (European Food Safety Authority, 2013a; European Food Safety Authority, 2015).

Vereinzelt waren im Bienenbrot auch Analyten nachweisbar, die in der EU nicht oder nicht mehr als Wirkstoffe für Pflanzenschutz Zwecke zugelassen sind: Bioallethrin in einer Probe (>BG; 0,1 mg/kg), Biphenyl in einer Probe (>BG; 0,01 mg/kg), Bromopropylat in einer Probe (>BG; 0,02 mg/kg), Chlorfenvinphos in einer Probe (>BG; 0,01 mg/kg), Quinalphos in einer Probe (>BG; 0,01 mg/kg), DDD in einer Probe (<BG; 0,005 mg/kg), DDT in vier Proben (2 x >BG, 2 x <BG; Maximum: 0,01 mg/kg), Dichlofluanid in zwei Proben (>BG; 0,04 mg/kg), Permethrin in drei Proben (>BG; Maximum: 0,02 mg/kg) und Propargit in zwei Proben (<BG; Maximum: 0,03 mg/kg), und 4,4-Methoxychlor (>BG; 0,01 mg/kg). Als mögliche Kontaminationsquellen kommen in diesen Fällen andere Einsatzgebiete (z. B. Holzschutz, Parasiten- und Ungezieferbekämpfung) oder Altlasten in Frage. Die Häufigkeit und Konzentration der übrigen nachgewiesenen Wirkstoffe ist in Tabelle 3.40 angeführt.

Tabelle 3.40: Häufigkeit und Konzentration der in den 210 Bienenbrotproben gefundenen Analyten. Es sind nur Analyten mit positivem Nachweis gelistet. Für Ergebnisse unter der Bestimmungsgrenze floss der Mittelwert aus Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze in die Berechnungen ein. Der Median wurde nur bei N > 4 angegeben. Die Kategorie „Wirkungstyp“ bezeichnet die Wirkung gegen bestimmte Organismengruppen und erlaubt keinen direkten Schluss auf die Expositionsquelle.

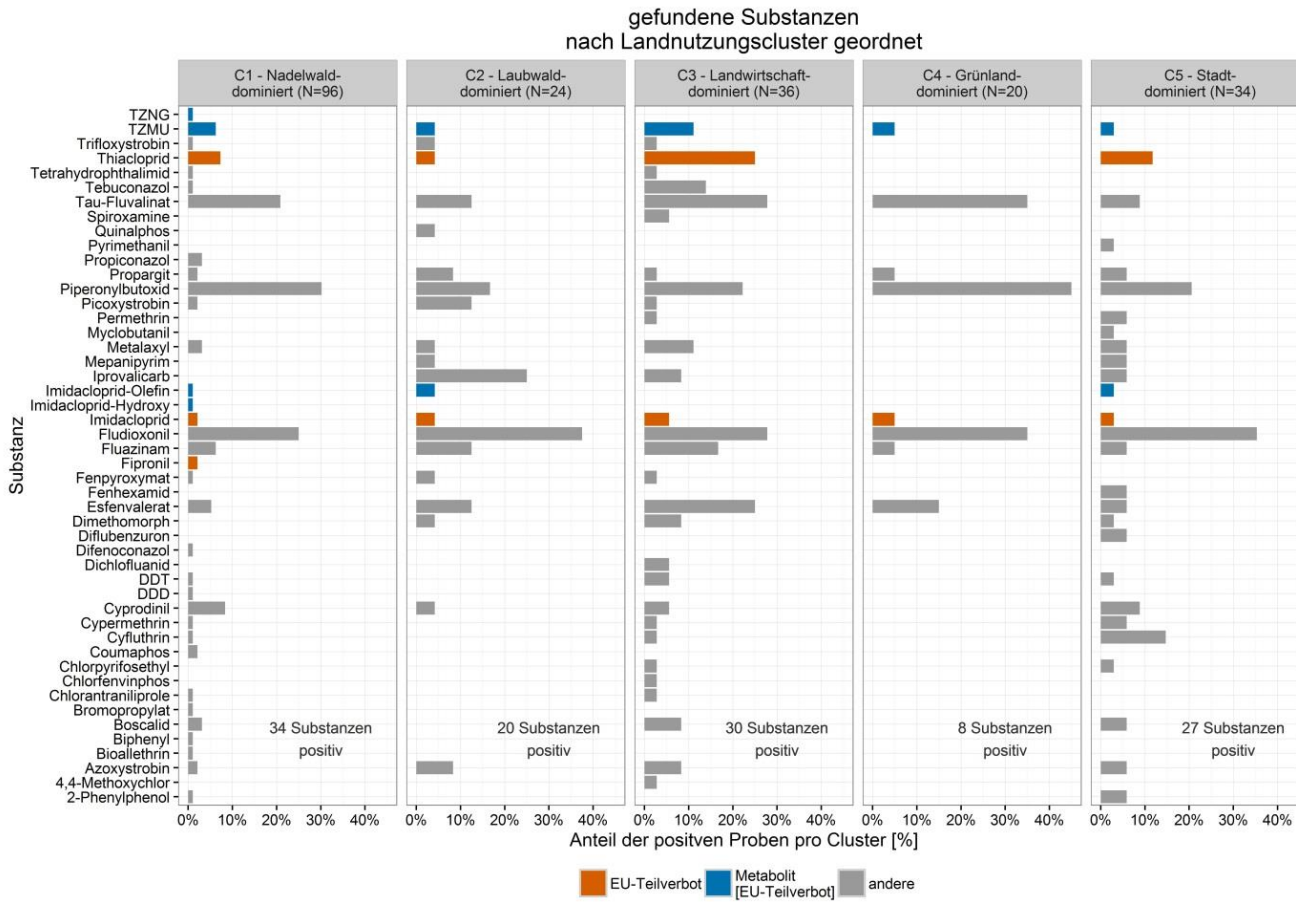
Analyt	Wirkungstyp	Anzahl Proben		Konzentration des Analyten [mg/kg]		
		über BG	unter BG	Median	Minimum	Maximum
Azoxystrobin	FU	1	8	0,0060	0,0060	0,0200
Bioallethrin	IN	1	0		0,1000	0,1000
Biphenyl	FU, CONS	1	0		0,0100	0,0100
Boscalid	FU	3	5	0,0060	0,0060	0,0900
Bromopropylat	AC	1	0		0,0200	0,0200
Chlorantraniliprol	IN	0	2		0,0060	0,0060
Chlorfenvinphos	IN	1	0		0,0100	0,0100
Chlorpyrifos-ethyl	IN	2	0		0,0100	0,0100
Coumaphos	IN, AC	2	0		0,0200	0,1000
Cyfluthrin	IN, AC	7	0	0,0300	0,0100	0,0500
Cypermethrin	IN, AC	4	0		0,0100	0,0200
Cyprodinil	FU	3	11	0,0060	0,0060	0,0300
DDD	MET-IN	0	1		0,0060	0,0060
DDT	IN	2	2		0,0060	0,0100
Dichlofluanid	FU	2	0		0,0400	0,0400
Difenoconazol	FU	0	1		0,0060	0,0060
Difflubenzuron	IN	0	2		0,0060	0,0060
Dimethomorph	FU	2	3	0,0060	0,0060	0,2000
Esfenvalerat	IN	22	0	0,0100	0,0100	0,0300
Fenhexamid	FU	1	1		0,0060	0,0100
Fenpyroxymat	AC	0	3		0,0060	0,0060
Fipronil	IN	2	0		0,0010	0,0011
Fluazinam	FU	0	18	0,0060	0,0060	0,0060
Fludioxonil	FU	3	59	0,0060	0,0060	0,0100
Imidacloprid	IN	2	5	0,0006	0,0006	0,0047
Imidacloprid-Hydroxy	IN	1	0		0,0012	0,0012
Imidacloprid-Olefin	IN	1	2		0,0006	0,0038
Iprovalicarb	FU	0	11	0,0060	0,0060	0,0060
Mepanipyrim	FU	2	1		0,0060	0,0300
Metalaxyl	FU	0	10	0,0060	0,0060	0,0060
Myclobutanil	FU	0	1		0,0060	0,0060
Permethrin	IN	3	0		0,0100	0,0200
Picoxystrobin	FU	1	5	0,0060	0,0060	0,0100
Piperonylbutoxid	IN	15	42	0,0060	0,0060	0,0900
Propargit	AC	6	2	0,0200	0,0060	0,0300
Propiconazol	FU	0	3		0,0060	0,0060
Pyrimethanil	FU	1	0		0,0500	0,0500

Quinalphos	IN	1	0		0,0100	0,0100
Spiroxamine	FU	1	1		0,0060	0,0400
Tau-Fluvalinat	IN	43	0	0,0200	0,0100	0,2000
Tebuconazol	FU	5	1	0,0100	0,0060	0,2000
Tetrahydrophthalimid	MET-FU	2	0		0,0200	0,1000
Thiacloprid	IN	16	5	0,0020	0,0006	0,0820
Trifloxystrobin	FU	0	3		0,0060	0,0060
TZMU	IN	3	10	0,0006	0,0006	0,0016
TZNG	IN	1	0		0,0120	0,0120
2-Phenylphenol	FU, CONS	3	0		0,0100	0,0100
4,4-Methoxychlor	IN	1	0		0,0100	0,0100
AC: Akarizid; CONS: Konservierungsmittel; FU: Fungizid; IN: Insektizid; MET-FU: Metabolit eines Fungizids; MET-IN: Metabolit eines Insektizids; BG: Bestimmungsgrenze.						

3b.3.5.2 Häufigkeit positiver Rückstandsnachweise nach Landnutzungsclustern

Aufgrund der in Österreich kleinräumigen Landschafts- und Landnutzungsstrukturen, waren im ausgewerteten 3 km-Flugkreis der Bienen stets mehrere unterschiedliche Landnutzungsarten in wechselndem Ausmaß vertreten. Daher werden in diesem Kapitel die Landnutzungscluster zum einfacheren Verständnis nach der dominierenden Landnutzungsform bzw. landwirtschaftlichen Kulturart benannt. Dies bedeutet aber nicht, dass nur die genannte Nutzungsform oder Kulturart anzutreffen war, sondern lediglich, dass diese flächenmäßig den größten Anteil hatte. Weitere Details zu den Landnutzungsclustern der Beobachtungsstudie, Anteilen der verschiedenen land- und forstwirtschaftlichen Kulturarten und sonstiger Nutzungsarten können dem Modul 3a, Tabelle 3.12 entnommen werden.

Abbildung 3.64: Bienenbrot – nachgewiesene Analyten nach Landnutzungsclustern; rote Säulen: vom EU-Teilverbot betroffene Analyten; blaue Säulen: Metaboliten der vom EU-Teilverbot betroffenen Analyten.



In den Landnutzungsclustern „C1 – Nadelwald-dominiert“, „C3 – Landwirtschaft-dominiert“ und „C5 – Stadt-dominiert“ wurden etwa gleich viele Analyten gefunden (Abbildung 3.64). Diese Zahlen lassen sich jedoch nicht direkt vergleichen, da aus den verschiedenen Clustern unterschiedlich viele Proben untersucht wurden. So wurden 3 bis 5 Mal so viele Proben aus Cluster C1 als von den anderen Clustern untersucht. Um diese Unterschiede zu berücksichtigen, wurde die Zahl nachgewiesener Analyten pro Probe errechnet und für den Vergleich der Ergebnisse für jeden Cluster der Medianwert der nachgewiesenen Analyten pro Probe verwendet (Abbildung 3.65).

Zwischen den fünf Clustern zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Zahl der pro Probe nachgewiesenen Analyten (Kruskal-Wallis-Test: $\chi^2 = 14,501$; $df = 5$; $P = 0,006$; Abbildung 3.65). Proben des Clusters „C3 - Landwirtschaft dominiert“ enthielten mit einer medianen Anzahl von 2,5 (unteres Quartil: 1; oberes Quartil 4) die meisten Analyten. Die Proben der Cluster „C1 - Nadelwald dominiert“ und „C4 - Grünland dominiert“ waren mit signifikant weniger Analyten belastet als C3 (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: C1-C3: $z = -3,748$; $P < 0,001$; C3-C4: $z = 2,522$; $P = 0,012$). In den Proben beider Cluster war im Median nur ein Analyt enthalten (für beide Cluster: unteres Quartil: 1; oberes Quartil: 2).

Von den unter das EU-Teilverbot fallenden Wirkstoffen waren Clothianidin und Thiamethoxam in den 210 untersuchten Bienenbrotproben in keinem Landnutzungscluster nachweisbar (Abbildung 3.64). Imidacloprid wurde in wenigen Proben in jedem Cluster gefunden, Fipronil nur als Einzelfunde in Cluster 1. Von den Metaboliten war Fipronil-sulfon in keinem Cluster nachweisbar, Imidacloprid-olefin in den Clustern 1, 2 und 5 und Imidacloprid-hydroxy in Cluster 1. Von den Clothianidinmetaboliten war TZNG als Einzelfund in Cluster 1 und TZMU in unterschiedlicher Häufigkeit in allen 5 Landnutzungsclustern nachweisbar.

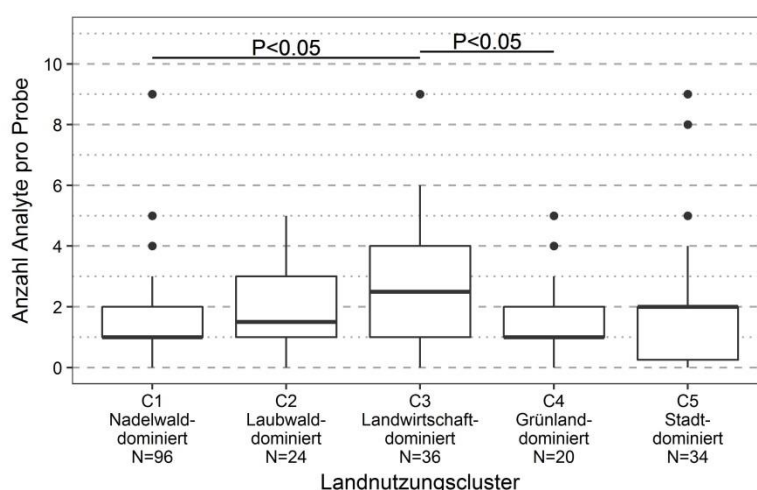


Abbildung 3.65: Bienenbrot – Anzahl nachgewiesener Analyten pro Probe nach Landnutzungsclustern. Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. Statistik: paarweise Kruskal-Wallis Test, Bonferroni-korrigiert.

Einen Anteil von mehr als 20% positiver Proben erreichten im Cluster „C1 - Nadelwald dominiert“ drei Analyten: Piperonylbutoxid (30%), Fludioxonil (25%) und tau-Fluvalinat (21%). Alle anderen nachgewiesenen Analyten lagen unter einem Anteil von 10% der Proben (Abbildung 3.64).

Im Cluster „C2 - Laubwald dominiert“ erreichten zwei Analyten einen Anteil positiver Proben von mehr als 20%: Fludioxonil (38%) und Iprovalicarb (25%). Einen Anteil zwischen 10% und 15% positiver Proben erreichten tau-Fluvalinat, Piperonylbutoxid, Picoxystrobin, Fluazinam und Esfenvalerat. Alle anderen nachgewiesenen Analyten erreichten einen Anteil unter 10% der Proben (Abbildung 3.64).

Im Cluster „C3 - Landwirtschaft dominiert“ erreichten 5 Analyten einen Anteil positiver Proben von mehr als 20%: tau-Fluvalinat (28%), Fludioxonil (28%), Thiacloprid (25%), Esfenvalerat (25%) und Piperonylbutoxid (22%). Einen Anteil zwischen 10% und 20% positiver Proben erreichten der Clothianidin-Metabolit TZMU, Tebuconazol, Metalaxyl und Fluazinam. Alle anderen nachgewiesenen Analyten erreichten einen Anteil unter 10% der Proben (Abbildung 3.64).

Im Cluster „C4 - Grünland dominiert“ erreichten drei Analyten einen Anteil von mehr als 20%: Piperonylbutoxid (45%), tau-Fluvalinat (35%) und Fludioxonil (35%). Esfenvalerat war in 15% der Proben nachweisbar (Abbildung 3.64).

Im Cluster „C5 - Stadt dominiert“ erreichten 2 Analyten einen Anteil von mehr als 20%: Fludioxonil (35%) und Piperonylbutoxid (21%). Einen Anteil zwischen 10% und 20% positiver Proben erreichten Cyfluthrin (15%) und Thiacloprid (12%).

Gesamt betrachtet war über alle Cluster der durchgehend hohe Anteil positiver Proben mit Rückständen von Fludioxonil und Piperonylbutoxid auffällig. Andere Analyten (Thiacloprid, tau-Fluvalinat, Iprovalicarb, Esfenvalerat) waren in bestimmten Clustern gehäuft nachweisbar (Abbildung 3.64).

3b.3.5.3 Hazard Quotient der Einzelsubstanzen

Details zur Berechnung des Hazard Quotienten finden sich in Material und Methoden, 3b.2.5.

Insgesamt gab es in den 210 Bienenbrotproben der Posthoc Analyse 386 Nachweise von Einzelsubstanzen über der Nachweisgrenze. Davon konnte der Hazard Quotient der Einzelsubstanzen (HQ_{einzel}) von 379 Messdaten berechnet werden. Dieser Wert wurde aus der Konzentration des nachgewiesenen Analyten und dessen Bienengefährlichkeit (LD_{50}) berechnet. Für fünf Analyten (Biphenyl, DDD, DDT, Methiocarb-sulfoxid, Tetrahydrophthalimid) konnte aufgrund fehlender LD_{50} -Angaben kein HQ_{einzel} berechnet werden. Diese traten jedoch nur vereinzelt und nie in Verbindung mit dem Absterben eines Volkes auf.

Der HQ_{einzel} wurde für 200 Insektizid-Nachweise, 167 Fungizid-Nachweise und 12 Akarazid-Nachweise berechnet. Nach der HQ -Berechnung der Einzelsubstanzen zeigte sich, dass ausschließlich in der Gruppe der Insektizide HQ_{einzel} -Werte über 50 erreicht wurden (Tabelle 3.41). Ab einem HQ_{einzel} über 50 kann von einer relevanten Pestizidbelastung gesprochen werden (Traynor et al., 2016; Kapitel 3b.2.5). In zwei Fällen der vorliegenden Studie erreichte der HQ_{einzel} Werte über 1000.

Tabelle 3.41: Deskriptive Statistik der berechneten HQ_{einzel} -Werte, zusammengefasst nach Wirkungstyp. HQ_{einzel} über 50: relevante Pestizidbelastung; Ammenbiene würde während ihrer Ammentätigkeit 0,5% der LD_{50} zu sich nehmen; HQ_{einzel} über 1000: erhöhte Pestizidbelastung; Ammenbiene würde während ihrer Ammentätigkeit 10% der LD_{50} zu sich nehmen. Die Kategorie „Wirkungstyp“ bezeichnet die Wirkung gegen bestimmte Organismengruppen und erlaubt keinen direkten Schluss auf die Expositionsquelle.

Wirkungs- typ	Anzahl Nachweise			errechneter HQ_{einzel}		
	positiv	HQ_{einzel} über 50	HQ_{einzel} über 1000	Median	Q1 – Q3	Min - Max
Insektizid	200	33	2	0,91	0,55-30,39	0,01-1270,27
Fungizid	167	0	0	0,06	0,05-0,06	0,02-6,17
Akarizid	12	0	0	0,10	0,06-0,20	0,05-0,30

HQ_{einzel} -Werte über 50 wurden für acht Pestizide 33 Mal gefunden (Abbildung 3.66). Zwei davon zählen zur Gruppe der Neonicotinoide (Imidacloprid und dessen Metabolit Imidacloprid-Olefin), vier zu den Pyrethroiden (Cyfluthrin, Cypermethrin, Permethrin, Esfenvalerat), und je eines zur Gruppe der Phenylpyrazole (Fipronil) und der Organophosphate (Quinalphos). Bei jeweils einem Messwert der Substanzen Cyfluthrin und Imidacloprid erreichte der berechnete HQ_{einzel} -Werte von über 1000 und stellte schon vor der Aufsummierung der gesamten im Bienenbrot enthaltenen Substanzen eine erhöhte Pestizidbelastung dar. Die zwei davon betroffenen Völker überlebten den Winter 2015/16.

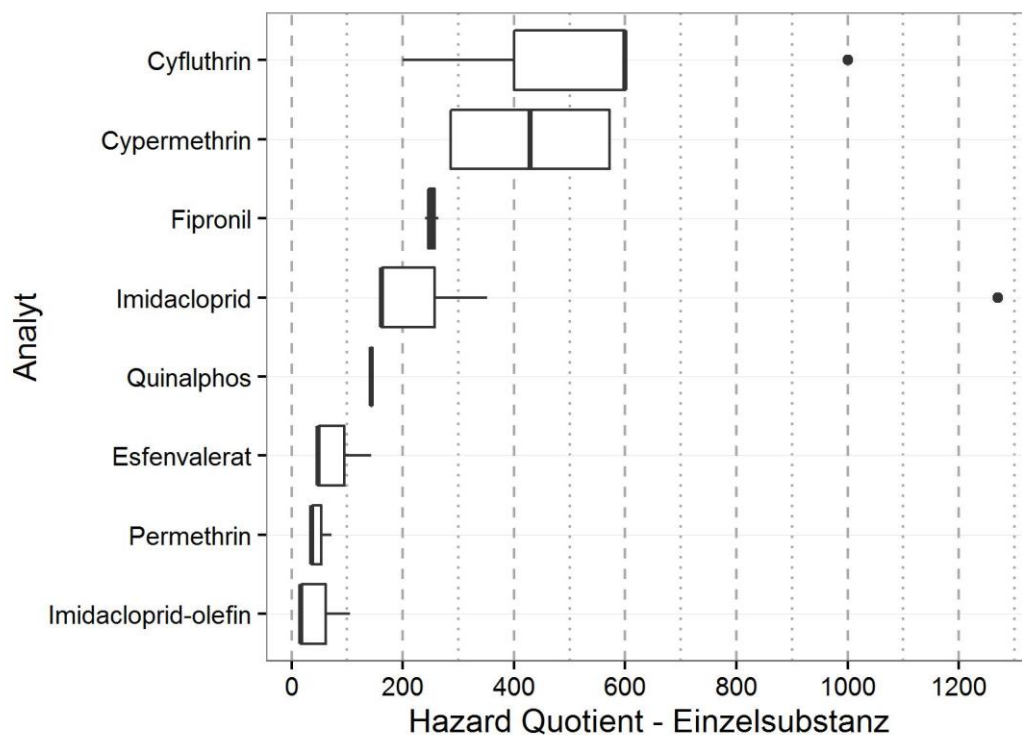


Abbildung 3.66: HQ_{einzel} der acht Substanzen mit einem Wert von > 50, berechnet auf Basis der gemessenen Rückstandskonzentrationen und der LD_{50} . Alle acht Substanzen wirken als Insektizide. Quinalphos und Permethrin sind in der EU für landwirtschaftliche Anwendungen nicht zugelassen; Permethrin ist ein laut ECHA-Liste in der EU zugelassener Biozid-Wirkstoff. Darstellung als Boxplot Diagramm: dicker Mittelstrich: Median; untere/obere Grenze des Vierecks: unteres/oberes Quartil. (Quelle: EU pesticides database: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN>).

3b.3.5.4 Überwinterungserfolg und Hazard Quotient-Bienenbrot

Der aus den Summen der Einzelsubstanzen errechnete Hazard Quotient für Bienenbrot (HQ_{BB}) der 210 Posthoc-Proben lag in einem Bereich zwischen 0,00 und 1646 (Tabelle 3.42). Im Median betrug er 0,61 (unteres Quartil: 0,05; oberes Quartil: 4,66). Zwischen den lebend ausgewinterten und den im Winter 2015/16 abgestorbenen Völkern war kein signifikanter Unterschied in der Höhe des HQ_{BB} festzustellen (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 1,713$, $P = 0,087$; Tabelle 3.42). Ebenso war kein signifikanter Unterschied im HQ_{BB} zwischen den normal bis stark ausgewinterten und den schwach ausgewinterten Völkern vorhanden (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test: $z = 0,286$; $P = 0,775$; Tabelle 3.42).

Tabelle 3.42: Deskriptive Statistik des auf Basis der gemessenen Rückstandskonzentrationen berechneten HQ_{BB} in den unterschiedlichen Auswinterungskategorien. Lebend ausgewinterte Völker wurden weiter unterteilt in normal bis stark ausgewinterte Völker und schwach ausgewinterte Völker. Q1: unteres Quartil; Q3: oberes Quartil; Min: Minimum; Max: Maximum.

Auswinterung Frühling 2016		Deskriptive Statistik			
Auswinterungsergebnis	Volkgröße	Anzahl Völker	Median	Q1 - Q3	Min - Max
tot	-	60	0,59	0,01-1,37	0,00-285,71
lebend	alle Völker	150	0,64	0,06-22,22	0,00-1645,56
	normal bis stark	122	0,68	0,06-28,08	0,00-1270,42
	schwach	28	0,50	0,05-4,08	0,00-1645,56
insgesamt		210	0,61	0,05-4,66	0,00-1645,56

Bei 29 Bienenbrotproben war eine relevante Pestizidbelastung (siehe Kapitel 3b.2.5) mit einem HQ_{BB} über 50 gemessen worden. Dies war in 3% der tot ausgewinterten Völker der Fall, aber auch bei 18% der Bienenbrotproben von normal oder schwach ausgewinterten Völkern (Abbildung 3.67 A). HQ_{BB} Werte über 50 wurden signifikant häufiger im Bienenbrot der normal ($N = 22$) oder schwach ($N = 5$) ausgewinterten Völker gefunden als im Bienenbrot der zwei toten Völker (Chi²-Test: $Chi^2=7,746$; $df=2$; $P=0,021$).

Ein erhöhter HQ_{BB} von über 1000 (siehe Kapitel 3b.2.5) kam in insgesamt 3 der 210 Posthoc-Proben vor. In keinem dieser drei Fälle war das Volk im Winter 2015/16 abgestorben (Abbildung 3.67 B).

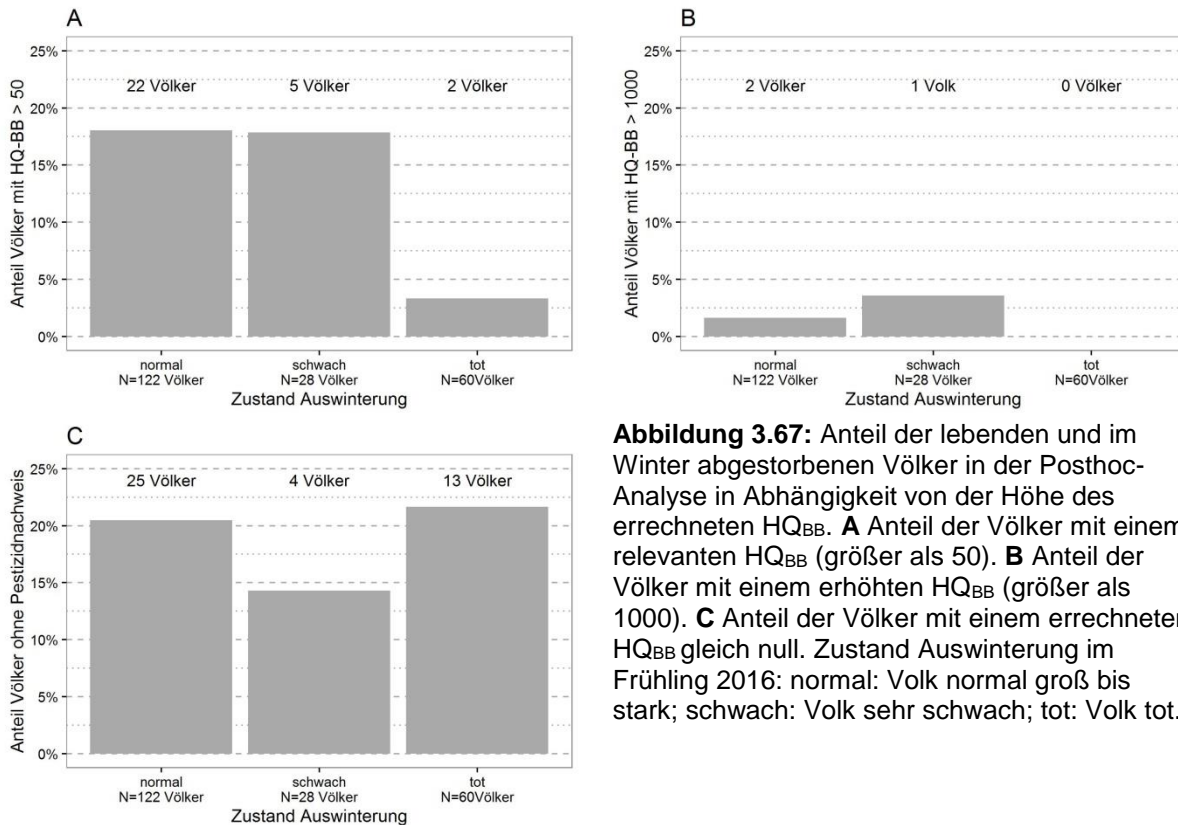


Abbildung 3.67: Anteil der lebenden und im Winter abgestorbenen Völker in der Posthoc-Analyse in Abhängigkeit von der Höhe des errechneten HQ_{BB}. **A** Anteil der Völker mit einem relevanten HQ_{BB} (größer als 50). **B** Anteil der Völker mit einem erhöhten HQ_{BB} (größer als 1000). **C** Anteil der Völker mit einem errechneten HQ_{BB} gleich null. Zustand Auswinterung im Frühling 2016: normal: Volk normal groß bis stark; schwach: Volk sehr schwach; tot: Volk tot.

Bei 20% (N=42) der Posthoc-Proben war der HQ_{BB} gleich Null – es konnte keine Pestizidbelastung nachgewiesen werden. Diese Proben waren zu gleichen Anteilen in den drei Auswinterungskategorien (normal, schwach, tot) vertreten und die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen Gruppen (Chi²-Test: Chi²=0,694; df=2; P=0,707; Abbildung 3.67 C).

3b.3.6 Multivariates Modell: Zusammenhänge zwischen Winterverlusten, Krankheitsfaktoren und Pestizidbelastung

Ziel der Modellrechnung war es, Faktoren zu identifizieren, die einen Einfluss auf die Wintersterblichkeit der Bienenstöcke hatten. Als mögliche Prädiktoren wurden sowohl die im Modul analysierten Krankheiten und Pestizidbelastungen getestet als auch Faktoren, die sich im multivariaten Modell der Beobachtungsstudie als relevant herausgestellt hatten (Tabelle 3.43). Zusätzlich wurden Parameter der Standumgebung (Landnutzung, Seehöhe) als mögliche Prädiktoren getestet. Interaktionen von Varroabefall 2. Besuch mit CBPV-Befall bzw. Varroabefall 2. Besuch mit DWV-Befall wurden ebenfalls berücksichtigt.

Tabelle 3.43: Variablen, die im multivariaten Modell getestet wurden; Variablen, die in das endgültige Modell übernommen wurden, und der jeweilige übernommene Variablentyp sind grau markiert.

Kategorie des Faktors	Variable	Variablentyp
Krankheit	Varroabefall 1. Besuch	metrisch
	Varroabefall 2. Besuch	metrisch
	Nosemabefall	metrisch
	ABPV-Befall	metrisch (logarithmiert)
		kategorisch (ja, nein)
	CBPV-Befall	metrisch (logarithmiert)
		kategorisch (ja, nein)
	DWV-Befall	metrisch (logarithmiert)
	kategorisch (ja, nein)	
	DWV Typ (kein DWV, DWV-A, DWV-B)	
Pestizid	Anzahl nachgewiesener Insektizide	metrisch
	Anzahl nachgewiesener Fungizide	metrisch
	Anzahl nachgewiesener Akarizide	metrisch
	HQ _{BB}	metrisch (logarithmiert)
Eigenschaft Bienenvolk	Volksstärke 2. Besuch	kategorisch (schwach; normal; stark)
	Volkstyp	kategorisch (Wirtschaftsvolk; Jungvolk)
	Alter der Königin	kategorisch (vor 2014; 2015; 2016)
Eigenschaft Stand, Imker	Landschaftscluster	kategorisch (C1; C2; C3; C4; C5)
	Seehöhe des Standortes	metrisch
	Erfahrung des Imkers/ der Imkerin	metrisch
		kategorisch (bis 10; bis 30; über 30 Jahre)

Bei den verschiedenen Modellierungsansätzen konnten je nach fehlenden Werten in den Prädiktoren nicht immer alle 210 Beobachtungen miteinbezogen werden. In der Hauptmodellierung, die im Folgenden näher beschrieben wird, wurden 198 Beobachtungen verwendet.

Nicht ins Modell aufgenommen – da nicht signifikant – wurden (unter jeweiliger Angabe der P-Werte der Anova für die Modellvergleiche bei der Vorwärtsselektion) Varroabefall 1. Besuch (höherer Befall deutet auf höhere Wintersterblichkeit hin, $P = 0,06064$), DWV-Typ (DWV-B deutet auf höhere Wintersterblichkeit im Vergleich zu DWV DWV-A hin, $P = 0,05707$) und HQ_{BB} (höherer Hazard Quotient deutet auf geringere Wintersterblichkeit hin, $P = 0,05526$). Der Unterschied zwischen DWV-A und DWV-B muss mit Vorsicht interpretiert werden, da alle abgestorbenen Völker mit DWV-A, die in das Modell inkludiert waren, einen sehr hohen Varroabefall aufwiesen. Da in dem Modell der Varroabefall als Grund für das Absterben ausreichte, ergab sich im Modell rein rechnerisch durch das seltene Auftreten von toten Völkern mit DWV-A eine positive Wirkung von DWV-A auf das Überleben der Völker.

Die Variable DWV-Befall zeigte zudem auf den ersten Blick einen signifikanten Einfluss auf die Wintersterblichkeit, jedoch stellte sich bei genauerer Analyse heraus, dass es in dieser Variable einen starken Ausreißer gab. Beim Entfernen dieses einzigen Falls aus dem Datensatz verschwand der signifikante Einfluss jedoch sofort und der P-Wert änderte sich von ursprünglich 0,003 auf 0,862. Da ein Effekt, der durch einen einzigen Datenpunkt hervorgerufen wird, keine

allgemeine Aussage über das gesamte Datenset geben kann, wurde diese Probe nicht in das Endmodell aufgenommen.

Das Alter der Königin und die Interaktion zwischen DWV und Varroabefall konnten in die Modellierung nicht miteinbezogen werden, da hier Probleme mit der Modellanpassung aufgrund zu geringer Zellbesetzungen auftraten. Diese Probleme treten auf, wenn in mindestens einer Kategorie eines Faktors keine toten oder lebenden Völker auftreten, und daher vom Modell keine sog. Odds ratios geschätzt werden können. Odds ratios geben das Chancenverhältnis zweier Gruppen an, z.B. das Verhältnis der Chance, dass ein Volk mit 0-jähriger Königin abstirbt, zur Chance, dass ein Volk mit 1-jähriger Königin abstirbt.

Die Volksstärke zeigte in den ersten Modellen keinen Einfluss auf die Wintersterblichkeit und wurde in dieser Modellierung weggelassen, da diese Variable einige fehlende Werte aufwies. Die Faktoren Volkstyp, Landnutzungscluster, Seehöhe, Erfahrung des Imkers, ABPV Befall und Nosemabefall zeigten keinen signifikanten Einfluss und wurden daher nicht in das Endmodell aufgenommen.

Als signifikante Einflussfaktoren konnten der Varroabefall beim zweiten Besuch und der CBPV-Befall identifiziert werden (Tabelle 3.44). Das nun beschriebene Endmodell wurde dann mit allen 210 Beobachtungen angepasst.

Tabelle 3.44: Einflussfaktoren auf die Sterbewahrscheinlichkeit der Posthoc-Völker (N=210); ein General linear mixed model mit binomialer Verteilung und Identität des Bienenstandes als random factor. Der Aufbau des Modells folgte nachfolgendem Schema: $\text{logit}(y) = \text{Varroabefall} + \text{CBPV-Befall} + \text{Varroabefall} : \text{CBPV-Befall} + \text{random factor (Standidentität)}$.

Prädiktor	Schätzer	Standardfehler	P-Wert
Varroabefall 2. Besuch	0,1736	0,0446	0,0000992
CBPV-Befall kategorisiert	-2,3026	0,9561	0,0160
Interaktion Varroabefall – CBPV	0,2164	0,1216	0,0752

Der Varroabefall beim zweiten Besuch zeigte einen starken Zusammenhang mit der Wintersterblichkeit ($P < 0,001$). Auch der Befall durch CBPV (kategorisiert) zeigte einen statistisch signifikanten Einfluss ($P = 0,016$), jedoch in eine andere Richtung, als man es erwarten würde. Völker mit CBPV-infizierten Bienen hatten eine höhere Wahrscheinlichkeit zu überleben als Völker ohne CBPV-infizierte Bienen. Um dies zu erklären, wurde zusätzlich die Wechselwirkung zwischen CBPV und dem Varroabefall beim zweiten Besuch im Modell behalten. Diese Wechselwirkung ist nicht signifikant ($P = 0,0752$; Tabelle 3.44), das Modell hat jedoch ein geringeres AIC als das Modell ohne den Wechselwirkungsfaktor (AIC des Modells ohne Wechselwirkung: 181,5; AIC des Modells mit Wechselwirkung: 179,2). Wenn ein Modell ein geringeres AIC als ein anderes Modell aufweist, hat es einen höheren Erklärungswert als das Modell mit dem höheren AIC – in anderen Worten: es beschreibt die Datenlage besser. Daher wurde entschieden, in diesem Fall die Interaktion zwischen Varroabefall und CBPV trotz eines $P > 0,05$ in dem Modell zu belassen.

Die Interaktion zwischen CBPV- und Varroabefall zeigt, dass die Sterbewahrscheinlichkeit bei Völkern mit CBPV-Infektion und geringem Varroabefall stark verringert war (Abbildung 3.68). Lag kein Varroabefall vor, war die Wintersterblichkeit sehr gering, unabhängig vom CBPV-Befall. Beobachtete man jedoch einen Varroabefall unter 5%, stieg die Sterblichkeit bei Völkern ohne CBPV-Befall sofort stark an, nicht jedoch bei jenen Völkern mit CBPV-Befall. Lag ein hoher Varroabefall vor (5% oder höher), war die Sterblichkeit in beiden Gruppen sehr hoch; die Sterblichkeit bei Völkern ohne CBPV-Befall lag sogar etwas höher als bei Völkern mit CBPV-Befall. Um eine mögliche protektive Wirkung von CBPV hinsichtlich Varroa nachzuweisen, reichte die Stichprobengröße nicht aus.

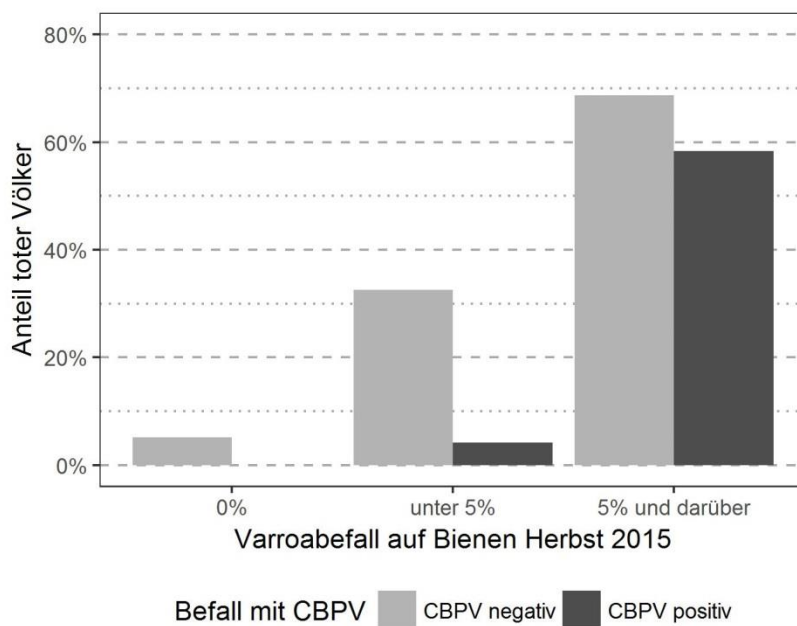


Abbildung 3.68: Einfluss der beiden Faktoren CBPV und Varroabefall auf Bienen auf den prozentuellen Anteil toter Völker (= Winterverluste 2015/16) in dem Datenset der Posthoc-Studie.

Infobox – Ergebnisse Posthoc-Studie Wintersterblichkeit

Die Posthoc-Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen dem Winterverlusten 2015/2016 und dem Gesundheitszustand der Völker bzw. der Belastung des Bienenbrots vor der Einwinterung. Es wurden insgesamt 210 Völker untersucht: 60 über den Winter abgestorbene Völker und 150 mittels Zufallsgenerator ausgewählte Völker, die den Winter überlebt haben.

Die folgenden Aussagen lassen sich aus dem multivariaten Modell ableiten (Tabelle 3.44). Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Volk über den Winter 2015/2016 abstarb, stieg

- je höher der Befall der Bienen mit Varroamilben im Herbst war
- je niedriger der Befall mit dem Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV) war
- bei Völkern mit niedrigem Varroabefall, die nicht mit CBPV befallen waren.

Der positive Zusammenhang zwischen Überleben der Völker und CBPV-Befall ist unerwartet. Um eine mögliche protektive Wirkung von CBPV hinsichtlich Varroa nachzuweisen, reichte die Stichprobengröße nicht aus.

Ein Faktor, der in den univariaten Analysen Zusammenhänge mit Winterverlusten erkennen ließ und dessen Effekt im multivariaten Modell nicht mehr sicher war, war der Befall mit dem Flügeldeformationsvirus (DWV). Völker, deren Bienen mit DWV befallen waren, hatten eine höhere Wahrscheinlichkeit, über den Winter abzusterben (Abbildung 3.59). Keinen Einfluss auf die Überwinterung der Bienenvölker hatten in dem vorliegenden Modell die Faktoren Varroabefall beim ersten Besuch, Nosema-Befall, ABPV-Befall, die Pestizidbelastung (HQ-Bienenbrot, Anzahl der Insektizide) sowie Eigenschaften des Bienenvolks, des Standes und des Imkereibetriebs.

Einige Faktoren hatten im Modell der Beobachtungsstudie einen Einfluss auf die Wintersterblichkeit der Völker, jedoch keinen Einfluss im Modell der Posthoc-Analyse. Dies liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit an der unterschiedlichen Höhe der Stichprobengröße (Beobachtungsstudie: N = 1394 Völker, Posthoc Studie: N = 210 Völker). In der kleineren Stichprobe der Posthoc-Studie wurden Effekte von Faktoren mit geringem (aber vorhandenem) Einfluss auf die Wintersterblichkeit nicht signifikant.

3b.4 Diskussion

Die Grundlage der Posthoc-Studie bildeten die im Zuge der Standvisiten der Beobachtungsstudie an den lebenden Völkern gezogenen Bienen- und Bienenbrotproben. Zusätzlich standen die in der Beobachtungsstudie erhobenen Daten (Imkereibetrieb, Zustand der Bienenvölker, Überwinterungsergebnis, etc.) zur Verfügung. Dadurch war es möglich, auf einen Daten- und Probenpool zurückzugreifen, um retrospektiv den Zustand der Völker, das Vorkommen bestimmter Krankheitserreger und Parasiten und im Bienenbrot nachgewiesene Pestizidrückstände mit dem Überwinterungsergebnis in Beziehung zu setzen. Der Vorteil dieses Posthoc Ansatzes war, dass Untersuchungsmaterial und exakte Völkerdaten für in der Vergangenheit liegende Zeitpunkte verfügbar waren, zu denen die Völker noch gelebt hatten. Üblicherweise ist dies nicht der Fall, da sich für über den Winter abgestorbene Völker die Vorgeschichte und deren Gesundheitszustand nicht mehr rekonstruieren lassen, und oft im Nachhinein aus dem Sommer und Herbst des Vorjahres kein Probenmaterial mehr verfügbar ist.

Fragestellungen zu den Ursachen von Winterverlusten wurden in den letzten Jahren in den Fokus von mehreren europäischen Studien gestellt (Chauzat et al., 2016; Genersch et al., 2010, Ravoet et al. 2013; van der Zee et al., 2014). Die genannten Studien fokussierten auf Teilaspekte wie Krankheitserreger, Pestizidbelastung oder Betriebseigenschaften. In der vorliegenden österreichischen Studie lag hingegen ein umfassender Datensatz im Bezug auf Imkereigenschaften, Volksgeschichte, Landschaftsstruktur der Umgebung, zum Gesundheitszustand der Völker vor der Einwinterung und zur Pestizidbelastung vor. In der europaweit durchgeführten Studie EPILOBEE wurden hingegen keine Untersuchungen auf Rückstände im Bienenbrot oder standardmäßige Untersuchungen auf Bienenviren – außer auf CBPV – durchgeführt (Chauzat et al., 2016). Die deutsche Studie DEBIMO nahm einen ähnlich komplexen Datensatz auf wie die vorliegende österreichische Studie (Genersch et al., 2010). Im Vergleich zu DEBIMO war es uns möglich, die Analyse der Pestizidbelastung durch die Berechnung des HQ_{BB} zu verbessern. Außerdem lagen uns komplexe Informationen über die Landnutzung rund um die Bienenstände vor, die eine Einteilung der Bienenstände in Landnutzungscluster ermöglichten.

Die Proben für die Posthoc-Studie wurden aus den Proben des zweiten Standbesuches im Herbst 2015 ausgewählt, da dieser zeitlich am nächsten zur Einwinterungsperiode lag. Im Herbst 2015 wurden 1569 beprobte Völker eingewintert. Davon waren 122 Völker (= 7,8%) über den Winter 2015/16 abgestorben. Von diesen toten Völkern wurden jene 60 in die Posthoc-Untersuchung aufgenommen, für die geeignete Bienen- und Bienenbrotproben vorlagen. Die überlebenden Völker mit komplettem Datensatz kamen in einen Auswahlpool, aus dem dann über einen Zufalls-generator 150 Völker ausgewählt wurden. Die insgesamt 210 untersuchten Völker stammten von 99 der 188 Bienenstände der Beobachtungsstudie (Modul 3a).

Es wurden alle toten Völker mit vollständigem Probensatz ausgewertet, um ein detailliertes Bild des Gesundheitszustands der abgestorbenen Völker kurz vor der Einwinterung zu erhalten und damit den möglichen Grund des Absterbens identifizieren zu können. Ein zu beachtender Nebeneffekt ist, dass die toten Völker in der Posthoc-Stichprobe nun im Vergleich zum gesamten Datensatz überrepräsentiert waren (29% tote Völker in der Posthoc-Stichprobe; 7,6% tote Völker in der Gesamtheit der 1980 Fokusvölker, Tabelle 3.22). Um eine repräsentative Stichprobe zu erhalten, müsste man den Anteil an toten Völkern in der Stichprobe an 7,6% anpassen. Dies entspricht 16 toten Völkern in einer Gesamtstichprobe von 210 Völkern. Mit einer so geringen Anzahl an toten Völkern ist es nicht mehr möglich, statistisch stichhaltige Aussagen über Effekte von selten auftretenden Krankheiten zu treffen. Durch die relativ höhere Anzahl an toten Völkern war der

Varroabefall der Völker in der Posthoc-Auswahl höher als in der Gesamtheit der Proben. Auf Standebene bildete die Posthoc-Auswahl die Gesamtheit der Bienenstände des Projekts gut ab (getestete Parameter: Seehöhe, Landschaftscluster und Standgröße).

3b.4.1 Krankheitserreger

Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den im Winter abgestorbenen und den erfolgreich überwinterten Völkern im Anteil der positiven Nosema-Proben (17% der toten Völker; 21% der lebenden Völker). Auch in der Sporenmenge pro Biene bestand kein signifikanter Unterschied zwischen toten und lebenden Völkern. Ebenso bestanden zwischen den Bienenproben des zweiten und dritten Standbesuches weder im Anteil positiver Proben mit Nosemasporen (20% bzw. 26%) noch in der Sporenzahl pro Biene (bei den positiven Proben) signifikante Unterschiede. Wie die molekularbiologische Differenzierung zeigte, waren nahezu alle positiven Proben *N. ceranae* zuzuordnen. Eine Ausnahme bildeten zwei Proben mit einem positiven Nachweis sowohl für *N. apis* als auch *N. ceranae*. Dieses Ergebnis bestätigte frühere Befunde aus Österreich von Untersuchungen zu Winterverlusten (Girsch & Moosbeckhofer, 2013; Köglberger et al., 2014) in denen ebenfalls *N. ceranae* wesentlich häufiger nachgewiesen worden war als *N. apis*. Zwischen der Volksstärke und dem Nachweis von *N. ceranae* bestand weder im Herbst 2015 noch im Frühjahr 2016 ein signifikanter Zusammenhang. Bienen aus schwachen Völkern waren jedoch in beiden Jahreszeiten mit signifikant höheren Sporenzahlen belastet als Bienen aus normal starken und starken Völkern.

Wie die Virusuntersuchungen der Bienenproben vom Herbst 2015 auf ABPV, CBPV und DWV zeigten, bestanden im Anteil befallener Völker beträchtliche Unterschiede. ABPV war das am häufigsten nachweisbare Virus, gefolgt von DWV und CBPV. Dieses Muster war sowohl in der Gruppe der erfolgreich überwinterten Völker als auch in der Gruppe der abgestorbenen Völker vorhanden.

Zwischen toten und überlebenden Völkern gab es für das ABPV keine Unterschiede im Anteil positiver Proben. Die Anzahl an Viruskopien in den positiven Völkern unterschied sich nicht signifikant zwischen toten und lebenden Völkern.

Für DWV war der Anteil positiver Proben bei den über den Winter abgestorbenen Völkern signifikant größer als bei den überlebenden Völkern. In positiven Proben von Völkern, die über den Winter abgestorben waren, wurden signifikant mehr Viruskopien pro mL Homogenat gemessen als in positiven Proben von Völkern, die den Winter überlebt hatten. Bei den abgestorbenen Völkern trat DWV-Typ B signifikant häufiger auf in der Gruppe der überlebenden Völker. DWV-Typ A zeigte eine schwache Tendenz in die gleiche Richtung, die Unterschiede waren aber aufgrund einer geringen Stichprobenzahl nicht signifikant.

Auffällig ist, dass die Häufigkeit des DWV-Virus in den abgestorbenen Völkern sehr niedrig war. In der aktuellen Studie waren in 53% der abgestorbenen Völker DWV-Viren gefunden worden – dieser Wert ist vergleichbar mit Ergebnissen aus dem DEBIMO (Genersch et al., 2010). Dagegen waren in anderen europäischen Studien 68% bis 100% aller toten Völker mit dem DWV-Virus infiziert (Dänemark: Amiri et al., 2015; Österreich: Berényi et al., 2006; Schweiz: Berthoud et al., 2010). Besonders interessant ist hierbei, dass in einer anderen österreichischen Studie mit Proben aus dem Jahren 2003 und 2004 91% aller toten Völker mit DWV infiziert waren (Berényi et al., 2006).

Eine Hypothese zur Erklärung der geringen Prävalenz von DWV in der aktuellen Studie wäre, dass dies ein Folgeeffekt der außerordentlich hohen Winterverluste von 28,4% in dem der Studie vorangegangenen Winter 2014/15 war (Brodschneider et al., 2016). Demnach könnten im Winter 2014/15 viele Völker mit hohem DWV-Befall abgestorben sein, wodurch die Prävalenz von DWV im Folgejahr allgemein gesenkt wurde; einerseits, weil die Völker an sich nicht mehr vorhanden waren und andererseits weil sie dadurch keine gesunden Völker durch Verflug anstecken konnten. Die geringe Häufigkeit von DWV im Herbst 2015 könnte gleichzeitig auch einer der Gründe für die geringen Ausfälle (8,1%, Brodschneider et al. 2017) im Winter 2015/16 sein. Denn die Wahrscheinlichkeit eines Absterbens über den Winter steigt, wenn ein Volk zusätzlich zu einem starken Varroamilbenbefall auch mit DWV infiziert ist (Dainat et al., 2012a; Martin, 2001; Carreck et al., 2010).

Da es in der Literatur zur Virulenz und den Auswirkungen auf die Überwinterung unterschiedliche Angaben für DWV-A und DWV-B gibt (Martin et al., 2012; McMahon et al., 2016), erfolgte eine getrennte Auswertung. Während Martin et al. (2012) DWV-A als virulenter beschreiben, stellten McMahon et al. (2016) fest, dass DWV-B die Bienen stärker schädigt als DWV-A. In einer Modellrechnung zeigten sie, dass Völker, die mit DWV-B infiziert sind, eher zusammenbrechen, als Völker die mit DWV-A infiziert sind. Die vorliegende Studie zeigte keinen signifikanten Unterschied der beiden Typen im Hinblick auf Winterverluste. 38% der Völker mit einer Infektion durch DWV-A waren abgestorben und 43% der Völker mit einer Infektion mit DWV-B. Doppelinfektionen durch DWV-A und DWV-B in derselben Probe wurden nicht gefunden. Es gibt jedoch auch keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit des Absterbens von Völkern mit DWV-A und Völkern ohne DWV-Infektion, wahrscheinlich aufgrund des seltenen Auftretens von DWV-A. Es kann daher in der vorliegenden Studie keine statistisch gesicherte Aussage über den Effekt von DWV-A auf das Überleben der Völker getroffen werden.

Für CBPV war bei den überlebenden Völkern der Anteil positiver Proben höher als bei den abgestorbenen. Worauf dieses unerwartete Ergebnis zurückzuführen ist, lässt sich aus den Daten des untersuchten Probenkollektivs nicht ableiten. Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Virusbelastung zwischen erfolgreich überwinterten und abgestorbenen Völkern.

Mehrfachinfektionen durch mehr als einen Erreger kamen in 90 der 210 untersuchten Bienenproben vor. Da in der Virusanalyse Sammelpuben aus 10 Bienen zusammengefasst wurden, heißt dies jedoch nicht, dass einzelne Bienen mit mehreren Viren belastet waren, sondern dass mehrere unterschiedliche Viren in dem entsprechenden Volk vorhanden waren. Das Auftreten von mehreren Krankheitserregern ist vielfach beschrieben worden und kann auch in gesund erscheinenden Völkern beobachtet werden (Amiri et al., 2015; Nielsen et al., 2008; Tentcheva et al., 2004). Der Anteil der abgestorbenen Völker war bei jedem Erreger in der Paarung mit DWV am höchsten und in der Paarung mit CBPV am geringsten. Die mit Abstand höchsten Winterverluste (47%) wurden bei der Paarung von DWV und ABPV erreicht. Dabei starben Völker signifikant öfter ab, wenn sie mit ABPV und DWV infiziert gewesen sind als wenn sie nur mit ABPV infiziert waren. Beide Viren werden auch in anderen Studien mit Winterverlusten in Verbindung gebracht (Berthoud et al, 2010; Dainat et al., 2012a; Genersch et al., 2010; Highfield et al., 2009). Es gibt ebenfalls Hinweise, dass eine positive Korrelation zwischen dem Auftreten von ABPV und DWV besteht (Berthoud et al, 2010).

Angesichts der dargelegten zeitlichen und räumlichen Schwankungen im Virusbefall der Bienen und dem Auftreten unterschiedlicher Virustypen wird deutlich, dass sich die Situation auf lokaler

oder regionaler Ebene rasch ändern kann und eine Verallgemeinerung und Extrapolation von Ergebnissen in die Zukunft mit großen Unsicherheiten behaftet ist.

3b.4.2 Pestizidrückstände

Pestizidrückstände bzw. Kontaminationen mit diversen chemischen Substanzen geben Hinweise auf die Exposition der Bienenvölker, müssen aber kein vollständiges Bild der Exposition darstellen (Definition Pestizid siehe Infobox , Abschnitt 3b.2.2.1). Abbauprozesse ab dem Zeitpunkt der Exposition können dazu führen, dass zum Zeitpunkt der Analyse ein Teil der anfangs vorhandenen Pestizide nicht mehr in der Probe nachweisbar sind (Bienen, Bienenbrot, Nektar). Die Dauer des natürlichen Abbaus der Pestizide variiert abhängig von Wirkstoff-, Umwelt- und Matrixeigenschaften und Enzym- und detoxifizierenden Einflüssen der Biene (Fenner et al., 2013; Liu et al., 2011). Die kritischen Phasen, in denen es zum Pestizidabbau kommen kann, sind einerseits die Zeitspanne zwischen Exposition und Probenahme und andererseits zwischen Probenahme und Tiefrieren des Bienenbrots (J. Pistorius, persönliche Kommunikation). Die Proben der Posthoc-Studie wurden gleich nach Entnahme aus dem Volk gekühlt und noch am selben Tag eingefroren. Damit wurde ein Abbau potentiell enthaltener Analyten nach der Entnahme aus dem Bienenvolk bestmöglich vermieden.

Bei der Untersuchung an 210 Bienenbrotproben aus Einzelvölkern waren in 42 Proben (20%) keine Rückstände der rund 300 untersuchten Analyten nachweisbar. Dabei war kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit der rückstandsfreien Proben zwischen der Gruppe der im Frühling lebenden Völker und der Gruppe der über den Winter abgestorbenen Völker vorhanden (Abbildung 3.67 C, 20% aller lebenden Völker, 22% aller toten Völker). In den positiven Proben wurden insgesamt 48 Analyten nachgewiesen (Tabelle 3.40 mit Angabe der Wirkungstypen). Die drei am häufigsten nachgewiesenen Wirkstoffe waren in absteigender Reihenfolge Fludioxonil (62 positive Proben; Maximalwert: 0,01 mg/kg), Piperonylbutoxid (57 positive Proben; Maximalwert: 0,09 mg/kg) und tau-Fluvalinat (43 positive Proben; Maximalwert: 0,20 mg/kg). Mit Abstand folgten dann Esfenvalerat (22 positive Proben; Maximalwert: 0,03 mg/kg) und Thiacloprid (21 positive Proben; Maximalwert: 0,08 mg/kg).

Bei dieser Reihenfolge überrascht, dass Piperonylbutoxid in 57 Proben nachgewiesen wurde. Da dieser Stoff – neben seiner Verwendung in Biozidprodukten – zusammen mit Pyrethrum oder Pyrethroiden in Pflanzenschutzmitteln eingesetzt wird, stellt er einen Expositionsmarker dar, auch wenn Pyrethrum in keiner Probe und Pyrethroide nur in einer geringen Zahl der untersuchten Proben nachgewiesen wurden.

Es stellt sich daher die Frage, wie und wo die Bienen damit in Kontakt gekommen sind. Nachweisbar war Piperonylbutoxid in Proben aus allen Landnutzungsclustern. Die meisten positiven Proben stammten jedoch aus dem grünlanddominierten Landnutzungscluster C4 und dem nadelwalddominierten Landnutzungscluster C1. Die Anteile positiver Proben lagen zwischen 15% (Cluster C2) und 45% (Cluster C4). Als Quelle scheidet das Varroabekämpfungsmittel Apistan (Wirkstoff tau-Fluvalinat) jedenfalls aus, da laut schriftlicher Mitteilung der Herstellerfirma kein Piperonylbutoxid darin enthalten ist. Außerdem wird es in der Imkerei seit einigen Jahren kaum mehr eingesetzt, da die Varroamilbe dagegen eine Resistenz entwickelt hat.

Neben tau-Fluvalinat wurden in den Bienenbrotproben auch weitere Pyrethroide (Cyfluthrin, Cypermethrin, Permethrin, Bioallethrin) nachgewiesen, die möglicherweise zusammen mit dem

Synergisten Piperonylbutoxid eingesetzt wurden. Als mögliche Expositionsquellen kommen somit der Einsatz pyrethrum- oder pyrethroidhaltiger Präparate als Biozide, im Pflanzenschutz (hier ist Piperonylbutoxid aktuell in zugelassenen Mitteln ausschließlich in Vorratsschutzmitteln enthalten, bzw. gibt es bis zum 31.12.2017 eine Aufbrauchsfrist für die Verwendung für im Freiland eingesetzte Pflanzenschutzmittel, die Pyrethrine und Piperonylbutoxid enthalten), zur Mückenabwehr oder im Veterinärbereich – in diese Richtung weist der Nachweis von Bioallethrin in einer Probe – als Expositionsquellen in Betracht.

Von den vier unter das EU-Teilverbot für bestimmte Kulturarten und Anwendungsformen fallenden Wirkstoffen waren Clothianidin und Thiamethoxam in keiner Probe nachweisbar, Imidacloprid in sieben und Fipronil in zwei Proben (jeweils eine Probe auf je einem Stand). Damit waren von den 210 untersuchten Völkern 7 Völker (= 3% der Proben) einer Exposition durch Imidacloprid und 2 Völker (= 1% der Proben) einer Exposition durch Fipronil ausgesetzt. Aufgrund der Bienentoxizität dieser Stoffe ist bei einer Exposition mit hoher Wahrscheinlichkeit mit bienenschädlichen Effekten zu rechnen.

Von den Metaboliten dieser Wirkstoffe war der Imidacloprid-Hydroxy-Metabolit in einer Probe nachweisbar und der Imidacloprid-Olefin-Metabolit in drei Proben. An Clothianidin-Metaboliten war TZMU in 13 Proben und TZNG in einer Probe nachweisbar. Der Fipronil-Metabolit Fipronilsulfon war in keiner Probe nachweisbar. Diese Ergebnisse der Posthoc-Untersuchungen von Bienenbrotproben zeigen, dass für Honigbienen – trotz des EU-Teilverbotes für Pflanzenschutz Zwecke – in geringem Umfang ein Expositionsrisiko durch Imidacloprid- und Fipronilanwendungen besteht. Ein ähnliches Ergebnis brachten die im Modul 3c in Fällen mit Vergiftungsverdacht durchgeführten Rückstandsuntersuchungen.

Vereinzelt waren auch Analyten im Bienenbrot nachweisbar, die in der EU nicht oder nicht mehr für Pflanzenschutz Zwecke als Wirkstoffe zugelassen sind (Bioallethrin, Biphenyl, Bromopropylat, Chlorfenvinphos, DDD, DDT, Dichlofluanid, Permethrin Propargit, Quinalphos und 4,4-Methoxychlor). Als mögliche Expositionsquellen kommen Altlasten aus länger zurückliegenden Anwendungen im Pflanzenschutz oder zur Varroabekämpfung (Bromopropylat) in Frage, aber auch aktuelle Biozidanwendungen (Biphenyl, Dichlofluanid, Permethrin). Bei Propargit sind ebenfalls aktuelle Anwendungen zu vermuten, da dieser Wirkstoff auch im Modul 3c im Jahr 2016 in Bienen- und Bienenbrotproben mit Vergiftungsverdacht nachgewiesen wurde.

Ein seriöser Vergleich der gefundenen Inhaltsstoffe mit den Analyseergebnissen anderer Studien ist schwer möglich. So müssen zur Vergleichbarkeit gleiche Analysemethoden verwendet und die gleichen Matrices auf die gleichen Analyten mit den gleichen Empfindlichkeiten untersucht werden. Außerdem unterscheiden sich die einzelnen Länder in den für den Pestizideinsatz zugelassenen Wirkstoffen und Präparaten. So wurden nur 35% der in der vorliegenden Studie gefundenen Pestizide auch im deutschen DEBIMO gefunden (Genersch et al., 2010). Es lässt sich jedoch nicht ohne aufwändige Recherche unterscheiden, ob diese Unterschiede im Pestizidspektrum auf methodische Unterschiede in den Projekten oder auf Unterschiede in der Zulassungssituation und Verwendungspraxis in den beiden Ländern zurückzuführen sind.

In den fünf definierten Landnutzungsclustern zeigten sich gewisse Unterschiede, sowohl was die nachgewiesenen Wirkstoffe, deren Anzahl als auch die Zahl positiver Proben betrifft. Die Anzahl nachgewiesener Substanzen bewegte sich zwischen 8 (Cluster 4: grünlanddominiert) und 34 (Cluster 1: nadelwalddominiert). Die drei anderen Cluster lagen bei 20-27 nachgewiesenen Substanzen. Die hohe Anzahl im Cluster 1 ist sicher auch darauf zurückzuführen, dass in diesen

Gebieten die größte Anzahl an Bienenvölkern steht und sich daher dort auch die größte Zahl an Beobachtungsständen befand.

Es wird regelmäßig die Meinung geäußert, dass im städtisch dominierten Gebiet die Exposition gegenüber Pestiziden geringer wäre als in anderen Gebieten (Krahnstöver & Polaczek, 2017, von der Ohe et al., 2016). Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Dies gilt sowohl für die Zahl an nachgewiesenen Substanzen – mit 27 wurde hier der zweithöchste Wert erreicht –, als auch die Art der Substanzen. Da der Flugkreis der Bienen zumindest 3 km im Radius beträgt, reicht dieser in der Regel weit über das eigentliche Stadtgebiet hinaus und überstreicht auch die angrenzenden, meist land- oder forstwirtschaftlich genutzten Gebiete. Somit ist eine Exposition sowohl aus dem städtischen Raum (öffentliches Grün, Kleingärten, Biozidverwendung) als auch von den Umlandflächen zu erwarten. Beispielsweise konnten von der Ohe et al. (2016) nachweisen, dass der Ursprung der Rückstände in der Stadtgruppe teilweise aus ca. 4,5 km entfernten Rapsfeldern resultierte.

Der Pestizideinsatz im städtischen Raum darf nicht unterschätzt werden. Amerikanische Studien demonstrieren zum Beispiel, dass das Statussymbol „gepflegter Rasen“ zu einem erhöhten Pestizideinsatz in den städtischen Bereichen führt und damit zu einer Gefährdung der Blütenbesucher führen kann (Blaine et al., 2012; Larson et al., 2013; Robbins et al., 2001). Auch in Frankreich führt ein der Einsatz von Insektiziden in Privatgärten zu einer Reduktion der Artenvielfalt an Hummeln und Schmetterlingen (Muratet & Fontaine; 2015).

Die höchsten gemessenen Rückstandskonzentrationen von Fungiziden wurden in den Posthoc-Untersuchungen der vorliegenden Studie für Dimethomorph und Tebuconazol gemessen (jeweils 0,2 mg/kg), sowie für Tetrahydrophtalimid (Metabolit eines Fungizides; 0,1 mg/kg). Für Insektizide bzw. Akarizide wurden folgende Maximalwerte gemessen: Coumaphos (0,1 mg/kg), tau-Fluvalinat (0,2 mg/kg), Imidacloprid (0,0047 mg/kg), Fipronil (0,0011 mg/kg), Chlorpyrifos-ethyl (0,01 mg/kg), Cyfluthrin (0,05 mg/kg), Cypermethrin (0,02 mg/kg), Esfenvalerat (0,03 mg/kg), Permethrin (0,02 mg/kg), Quinalphos (0,01 mg/kg), Thiacloprid (0,082 mg/kg), Methoxychlor (0,01 mg/kg) und Bioallethrin (0,1 mg/kg). Während für die vereinzelt Coumaphosnachweise zurückliegende Varroabekämpfungsmaßnahmen mit dem Präparat Perizin als Kontaminationsquelle zu vermuten sind, ist beispielsweise die Herkunft der Rückstände von Quinalphos und Methoxychlor unklar. Beide Stoffe sind nicht in der ECHA-Liste (<https://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/biocidal-active-substances>; Abfrage: 8.6.2017) der genehmigten bioziden Wirkstoffe gemäß Richtlinie 98/8/EG (Biozidprodukte-Richtlinie) und Verordnung (EU) Nr. 528/2012 (Biozidprodukte-Verordnung) enthalten. Für Bioallethrin gibt es Hinweise auf eine mögliche Verwendung im Veterinärbereich.

Für die in den Bienenbrotproben nachgewiesenen Wirkstoffe wurden die Eckdaten der Bienen-toxizität (LD_{50oral}, LD_{50Kontakt}) aus Literaturquellen erhoben – soweit diese Daten verfügbar waren. Da Bienenbrot von Bienen gefressen und in geringem Umfang auch an Larven verfüttert wird, wurde für die Berechnung des HQ für die jeweilige Substanz die LD_{50oral} verwendet. War diese nicht verfügbar, wurde die LD_{50Kontakt} herangezogen.

Von den 386 positiven Nachweisen konnte für 379 Substanzen auf Basis der LD₅₀ und der nachgewiesenen Konzentrationen für die Einzelsubstanzen der Hazard Quotient (HQ_{einzel}) errechnet werden (Traynor et al., 2016). Nach Traynor et al. (2016) kann ab einem HQ_{einzel} über 50 von einer relevanten Pestizidbelastung gesprochen werden. In der vorliegenden Studie war dies bei acht Pestiziden (33 Proben) aus der Gruppe der Insektizide der Fall. Zwei davon zählen zur Gruppe der

Neonicotinoide (Imidacloprid und sein Metabolit Imidacloprid-Olefin), vier zu den Pyrethroiden (Cyfluthrin, Cypermethrin, Permethrin, Esfenvalerat), und je eines zur Gruppe der Phenylpyrazole (Fipronil) und Organophosphate (Quinalphos). Bei jeweils einer Probe erreichte der aus dem Messwert der Substanzen Cyfluthrin und Imidacloprid berechnete HQ_{einzel} einen Wert von über 1000. In diesen beiden Fällen war somit schon vor der Aufsummierung der gesamten im Bienenbrot enthaltenen Substanzen eine erhöhte Pestizidbelastung gegeben. Auf den Überwinterungserfolg blieb diese Kontamination ohne Einfluss und die zwei davon betroffenen Völker überlebten den Winter 2015/16.

Verglichen mit Angaben aus der untenstehenden Literatur, war in Österreich die Konzentration an Pestizidrückständen im Bienenbrot der 210 untersuchten unauffälligen Bienenvölker niedrig. Beispielsweise hat Imidacloprid – einer der sieben Wirkstoffe mit hohem HQ_{einzel} -Wert –, in der gemessenen Konzentration eine der höchsten Toxizitäten im Vergleich zu anderen Substanzen in der Posthoc-Studie. Die maximal gemessene Konzentration von 0,005 mg/kg war trotzdem um eine Zehnerpotenz geringer als die laut Literaturangabe gemessenen Konzentrationen im Bienenbrot bei akuten Vergiftungen (Kasiotis et al., 2014: 0,07 mg/kg; Martinello et al., 2017: 0,03-0,07 mg/kg).

Im Vergleich dazu liegen die Literaturangaben für die Rückstandskonzentration in Bienen bei akuten Vergiftungen in einem Bereich von 0,01 mg/kg und 0,0003 mg/kg (Kasiotis et al., 2014: 0,0003-0,006 mg/kg; Kiljanek et al 2016: 0,002-0,027 mg/kg; Bacandritsos et al., 2010: 0,01-0,04 mg/kg).

Auch der HQ_{BB} der Posthoc-Studie ist im Vergleich zu Traynor et al. (2016) sehr niedrig. Diese hatten den HQ_{BB} von amerikanischen Bienenvölkern, die zur Bestäubung in Gebieten mit landwirtschaftlicher Nutzung aufgestellt waren, erhoben. In ihrer Untersuchung betrug der HQ_{BB} im Mittel etwa 450 (Traynor et al.; 2016). Im Vergleich dazu betrug in der Posthoc-Studie der Median 0,61 (unteres Quartil: 0,05; oberes Quartil: 4,66) und war damit etwa um einen Faktor Tausend geringer als in der amerikanischen Studie.

Zwischen den lebend ausgewinterten und den im Winter 2015/16 abgestorbenen Völkern bestand kein signifikanter Unterschied im HQ_{BB} (= aus der Summe der Einzelsubstanzen errechneter HQ für Bienenbrot).

Eine gleichzeitige Belastung von Bienen mit Krankheitserregern (zum Beispiel *Nosema ceranae*, Amerikanischer Faulbrut) und Pestiziden kann zu einer synergistischen Wirkung und damit zu hohen Ausfällen führen (Alaux et al. 2010; Hernández López et al., 2017). Da die Bienenvölker der Posthoc-Studie eine allgemein geringe Belastung mit Pestiziden aufwiesen, war die Stichprobe zur Durchführung einer solchen Analyse zu gering.

3b.4.3 Multivariates Modell

Wie das multivariate Modell zeigte, war im Untersuchungszeitraum der Posthoc-Studie der Bienenbefall mit Varroamilben im Herbst 2015 der Haupteinflussfaktor für die Wintersterblichkeit 2015/16. Weitere Einflussfaktoren, wie Hazard Quotient (HQ_{BB}) und DWV-Typ, zeigten keinen statistisch signifikanten Einfluss, da der Effekt dieser Faktoren zu klein war, um mit der vorliegenden Stichprobengröße das Signifikanzlevel zu erreichen. Dies kann auch dadurch bedingt sein, dass im Winter 2015/16 die Völkerverluste den niedrigsten Wert seit Beginn der COLOSS-Studie

im Jahr 2007 aufwiesen. Hier wären weitere Studien mit größerem Umfang und über längere Zeiträume notwendig, um gesicherte Aussagen machen zu können.

Die Erfahrung des Imkers, die Volksstärke im Herbst und das Alter der Königin hatten im multivariaten Modell der Beobachtungsstudie einen Einfluss gezeigt, waren aber im Modell der Posthoc-Studie ohne Einfluss. Die Unterschiede in der Stichprobenzahl könnten die Erklärung für dieses unterschiedliche Ergebnis der beiden Modellierungen sein (Beobachtungsstudie: N = 1394 Völker, Posthoc Studie: N = 210 Völker). Immerhin waren in der Stichprobe der Beobachtungsstudie fast sieben Mal so viele Völker vertreten als in der Stichprobe der Posthoc-Studie.

Aufgrund der geringen Mengen an Pestizidrückständen im Bienenbrot ist es nicht weiter verwunderlich, dass im multivariaten Modell kein Effekt der Pestizidbelastung auf die Überwinterung der Völker nachweisbar war. Im Gegenteil, überlebende Völker hatten sogar signifikant öfter einen HQ_{BB} über 50 als tote Völker. Eine mögliche Hypothese für dieses Ergebnis könnte lauten, dass die Bienen in landwirtschaftlich genutzten Regionen sowohl vom Vorteil eines guten Futterangebotes (Pollen, Nektar) profitieren als auch mit einem Pestizideinsatz konfrontiert sein können. Umgelegt auf die untersuchten Völker der Posthoc-Studie würde dies bedeuten, dass die Pestizidbelastung im Herbst so niedrig war – und der Überwinterung nicht geschadet hat –, sodass insgesamt die Vorteile aus dem guten Futterangebot in der Umgebung überwogen hatten und daraus geringere Winterverluste 2015/16 resultierten. Dieser Hypothese steht entgegen, dass Völker mit keinen oder geringen Bienenbrotvorräten im Herbst ähnlich gut überwintert haben, wie Völker mit ausreichend Bienenbrot (siehe Kapitel 3b 2.2.3). Bei der Gesamtinterpretation der Ergebnisse der Posthoc-Studie ist sowohl in Bezug auf die Prävalenzen der untersuchten Krankheitserreger und Parasiten als auch in Bezug auf die ermittelten Rückstände von Pestiziden zu berücksichtigen, dass sich die Daten nur auf die Erhebungsperiode Herbst 2015 beziehen. Um Unterschiede zwischen den Jahren zu erfassen, wären über mehrere Jahre laufende Untersuchungsprogramme erforderlich. Dies gilt auch für die Frage einer Gleichgewichtsverschiebung im Auftreten unterschiedlich virulenter Virusstämme im Verlauf der Jahre, bzw. in Abhängigkeit des Varroabefalles und der durchgeführten befallsmindernden Maßnahmen. Dokumentierte Beispiele für massive Verschiebungen im Spektrum der in Bienen vorkommenden DWV-Stämme vor und nach der Einschleppung der Varroamilbe, die zu verheerenden Völkerverlusten führte, gibt es aus Hawaii (Martin et al., 2012) und Neuseeland (Mondet et al., 2014). Daher ist auch in unseren Bienen- und Virenpopulationen mit derartigen Veränderungen zu rechnen, aus denen immer wieder neue Herausforderungen für die Imkerei und schwere Völkerverluste resultieren können.

Weiters ist zu beachten, dass die Frage möglicher subletaler oder synergistischer Wirkungen auf Bienen oder Bienenlarven durch die Aufnahme der nachgewiesenen Substanzen mit dem Bienenbrot unbeantwortet bleiben muss. Der Grund liegt darin, dass es einerseits keine LD_{50} Daten für Bienen oder Bienenlarven nach der Aufnahme von kontaminiertem Bienenbrot gibt. Andererseits fehlen auch Daten, inwieweit die aus Praxis- und Laborbeobachtungen nachgewiesenen Synergien mit einer Erhöhung der Bienentoxizität – wie sie zum Beispiel bei Azolfungiziden und Pyrethroiden nach Spritz- und Sprühapplikation aufgetreten sind, aber auch bei anderen Stoffen nachgewiesen wurde (Iwasa et al., 2004; Johnson et al., 2006; 2009; 2013) –, bei der oralen Aufnahme von mit diesen Stoffen kontaminiertem Bienenbrot zum Tragen kommt. Da Bienenbrot für die Bereitung des Larvenfutters, die Futtersaftproduktion der Ammenbienen und die Ernährung des Bienenvolkes eine essentielle Rolle spielt, wären in Zukunft Forschungsarbeiten zur Klärung dieser Fragen unbedingt erforderlich. Dieser Punkt ist auch für den Weiterbestand artenreicher Wildbienenpopulationen entscheidend, da bei nicht staatenbildenden Wildbienen

Pollen und der daraus in der Niströhre bereitgestellte Proviantvorrat die einzige Nahrungsquelle für die sich entwickelnden Jung- und Altlarven darstellen.

Mit der im Projekt „Zukunft Biene“ durchgeführten Posthoc-Studie konnten wichtige Erkenntnisse zu den im Beobachtungszeitraum entscheidenden Faktoren für das Überleben der Bienenvölker in Österreich während der Überwinterung gewonnen werden. Gründe für Winterverluste können regional stark variieren, wie die unterschiedlichen Ergebnisse in einer Vielzahl europäischer Studien zeigten. In allen Studien ist die Varroamilbe ein wichtiger Faktor, doch variieren die einzelnen Studien in der Bedeutung von Krankheitserregern wie Bienenviren und Nosema-Sporen als weitere Gründe für Winterverluste (Berthoud et al., 2010; Dainat et al., 2012b; Genersch et al., 2010; Francis et al., 2013; Ravoet et al., 2013). Auch kann die Pestizidproblematik zwischen verschiedenen Ländern aufgrund der Unterschiede in der Zulassung für Präparate und der unterschiedlichen Notwendigkeit des Einsatzes variieren. Die Posthoc-Studie erlaubt es nun, österreichspezifische Aussagen über die Gründe von Winterverlusten zu treffen.

Es konnte gezeigt werden, dass für eine erfolgreiche Überwinterung der österreichischen Völker sowohl eine Reduktion des Varroamilben- als auch des Virenbefalls von Vorteil ist. Zwischen dem Absterben der Völker und dem Vorhandensein des Flügeldeformationsvirus (DWV) zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang. Die anderen Bienenviren ABPV und CBPV zeigten in dieser Studie keinen negativen Zusammenhang mit der Überwinterung der österreichischen Völker. Allerdings ist nicht auszuschließen, dass in anderen Jahren weitere, im Winter 2015/16 nicht ausschlaggebende Faktoren oder Erreger, zum Absterben der Bienenvölker beigetragen haben oder künftig beitragen werden. Für die in der vorliegenden Studie in den untersuchten Bienenbrotproben nachgewiesenen Rückstände und Rückstandskonzentrationen von Pestizidwirkstoffen konnten auf Basis der LD₅₀-Werte keine statistisch signifikanten negativen Effekte auf die Überwinterung der Bienenvölker nachgewiesen werden. Bezüglich eines möglichen Einflusses subletaler oder synergistischer Effekte auf die Überwinterung ist keine Aussage möglich, da diese im multivariaten Modell mangels verfügbarer Daten nicht mitberücksichtigt werden konnten.

Auf diese Ergebnisse aufbauend können weitere Fragestellungen bearbeitet und Maßnahmen für die praktische Umsetzung in der Imkerei abgeleitet werden. Beispiele dafür wären alternative Strategien zur Varroabekämpfung, Resistenzmanagement beim Einsatz von Varroaziden, Vorbeugungs- und Hygienemaßnahmen bei Völkerverlusten.

3b.5 Zusammenfassung

Ziel der Posthoc-Studie war es, mit Hilfe retrospektiver Untersuchungen an Probenmaterial (Bienen-, Bienenbrotproben) aus über den Winter abgestorbenen bzw. überlebenden Bienenvölkern, kritische Überlebensparameter und Risikofaktoren (Krankheitserreger, Parasiten, mögliche Rückstände bienengefährlicher Wirkstoffe) für Völkerverluste zu identifizieren. Die Grundlage dafür bildeten die im Zuge der Standvisiten an den lebenden Völkern gezogenen Bienen- und Bienenbrotproben des zweiten Standbesuches im Herbst 2015, da dieser zeitlich am nächsten zur Einwinterungsperiode lag.

Es wurden insgesamt 210 Völker für die Posthoc-Studie ausgewählt – 60 über den Winter abgestorbene und 150 erfolgreich überwinterte Völker. Dabei wurden alle toten Völker mit vollständigem Probensatz vom zweiten Standbesuch (Bienenprobe für Varroazählung, Bienenprobe für Krankheitserreger, Bienenbrotprobe für Rückstandsanalysen) in die Auswertungen aufgenommen, um ein detailliertes Bild des Gesundheitszustandes der abgestorbenen Völker kurz vor der Einwinte-

zung zu erhalten. Die untersuchte Gruppe von 150 überlebenden Völkern wurde nach der Auswinterung mit Hilfe eines Zufallsgenerators aus den 855 überlebenden Völkern mit vollständigem Probensatz ausgewählt.

An den Proben dieser 210 ausgewählten Völker wurden qualitative und quantitative Analysen des Nosemabefalles durchgeführt und bei positiven Proben eine molekularbiologische Differenzierung zwischen *Nosema ceranae* und *Nosema apis* abgeschlossen.

Für die drei Viruspezies ABPV, CBPV und DWV wurde sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Analyse der Proben vom zweiten Besuch durchgeführt. DWV-positive Proben wurden in die beiden Virustypen DWV-A und DWV-B differenziert.

Die Untersuchungen des Bienenbrotes erfolgten – wie in den letzten Jahren – durch das Labor PTRL Europe in Ulm (Deutschland). Der Einsatz von Multimethoden und ein breites Spektrum von rund 300 erfassten Analyten ermöglichten die Ermittlung einer allfälligen Exposition der Bienenvölker gegenüber Wirkstoffen aus unterschiedlichen Quellen (Pflanzenschutzmitteln, Bioziden, Tierarznei- oder Schädlingsbekämpfungsmitteln). Basierend auf den gemessenen Rückstandskonzentrationen der Einzelanalyten im Bienenbrot wurde ein „Hazard-Quotient Bienenbrot“ (HQ_{BB}) errechnet, der einen Maßstab für die Bienengefährlichkeit der Pestizidbelastung des analysierten Bienenbrots darstellt (Stoner & Eitzer, 2013; Traynor et al., 2016).

Nosema ceranae war die mit Abstand vorherrschende Nosema-Art. Sie war in allen 42 positiven Proben (20%) vom zweiten Besuch und allen 42 positiven Proben (26%) vom dritten Besuch vorhanden. *Nosema apis* war nur in jeweils einer der Proben vom zweiten und vom dritten Besuch nachweisbar. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen über den Winter abgestorbenen und erfolgreich überwinterten Völkern im Anteil der Nosema-positiven Proben (17% der toten Völker; 21% der lebenden Völker). Auch in der Sporenmenge pro Biene bestand kein signifikanter Unterschied zwischen toten und lebenden Völkern.

Wie die Virusuntersuchungen der Bienenproben vom Herbst 2015 auf ABPV, CBPV und DWV zeigten, bestanden im Anteil befallener Völker beträchtliche Unterschiede. ABPV war das am häufigsten nachweisbare Virus, gefolgt von DWV und CBPV. Dieses Muster war sowohl in der Gruppe der erfolgreich überwinterten Völker als auch in der Gruppe der abgestorbenen Völker vorhanden.

Für ABPV gab es zwischen toten und überlebenden Völkern keine signifikanten Unterschiede im Anteil positiver Proben. Auch die Anzahl der Viruskopien in den positiven Völkern unterschied sich nicht signifikant zwischen toten und lebenden Völkern.

Für DWV war der Anteil positiver Proben bei den über den Winter abgestorbenen Völkern signifikant größer als bei den überlebenden Völkern. In positiven Proben von über den Winter abgestorbenen Völkern wurden signifikant mehr Viruskopien pro ml Homogenat gemessen als in positiven Proben von Völkern, die den Winter überlebt hatten.

Für CBPV war bei den überlebenden Völkern der Anteil positiver Proben höher als bei den abgestorbenen. Worauf dieses unerwartete Ergebnis zurückzuführen ist, lässt sich aus den Daten des untersuchten Probenkollektivs nicht ableiten. Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Virusbelastung zwischen den positiven Proben von erfolgreich überwinterten und abgestorbenen Völkern.

Mehrfachinfektionen durch mehr als einen Erreger kamen in 90 der 210 untersuchten Bienenproben vor (43%). Der Anteil der abgestorbenen Völker war bei jedem Erreger in der Paarung mit

DWV am höchsten und in der Paarung mit CBPV am geringsten. Die mit Abstand höchsten Winterverluste (47%) wurden bei der Paarung von DWV und ABPV erreicht. Dabei starben Völker signifikant öfter ab, die mit ABPV und DWV infiziert gewesen sind als wenn sie nur mit ABPV infiziert waren.

Bei den Untersuchungen an 210 Bienenbrotproben aus Einzelvölkern waren in 42 Proben (20%) keine Rückstände der rund 300 untersuchten Analyten nachweisbar (20% aller lebenden Völker, 22% aller toten Völker ohne Rückstände). In den positiven Proben wurden insgesamt 48 Analyten nachgewiesen (Tabelle 3.40 mit Angabe der Wirkungstypen). Die drei am häufigsten nachgewiesenen Wirkstoffe waren in absteigender Reihenfolge Fludioxonil (62 positive Proben), Piperonylbutoxid (57 positive Proben) und tau-Fluvalinat (43 positive Proben). Mit Abstand folgten dann Esfenvalerat (22 positive Proben) und Thiacloprid (21 positive Proben). Bei dieser Reihenfolge überrascht, dass Piperonylbutoxid in 57 Proben nachgewiesen wurde. Da dieser Stoff zusammen mit Pyrethrum oder Pyrethroiden in Pflanzenschutzmitteln, aber auch in Biozidprodukten eingesetzt wird, stellt er einen Expositionsmarker dar, auch wenn Pyrethrum in keiner Probe und Pyrethroide nur in einer geringen Zahl der untersuchten Proben nachgewiesen wurden. Die meisten mit Piperonylbutoxid kontaminierten Proben stammten aus dem grünlanddominierten Landnutzungscluster C4 und dem nadelwalddominierten Landnutzungscluster C1.

Von den vier unter das EU-Teilverbot für bestimmte Kulturarten und Anwendungsformen fallenden Wirkstoffen waren Clothianidin und Thiamethoxam in keiner Probe nachweisbar, Imidacloprid in sieben und Fipronil in zwei Proben. Damit waren von den 210 untersuchten Völkern 7 Völker (= 3%) einer Exposition durch Imidacloprid und 2 Völker (= 1%) einer Exposition durch Fipronil ausgesetzt. Von den Metaboliten dieser Wirkstoffe war der Imidacloprid-Hydroxy-Metabolit in einer Probe nachweisbar und der Imidacloprid-Olefin-Metabolit in drei Proben. An Clothianidin-Metaboliten waren TZMU in 13 Proben und TZNG in einer Probe nachweisbar. Der Fipronilmetabolit Fipronilsulfon war in keiner Probe nachweisbar. Vereinzelt waren im Bienenbrot auch Analyten nachweisbar, die in der EU nicht oder nicht mehr als Wirkstoffe für Pflanzenschutz Zwecke zugelassen sind (Bioallethrin, Biphenyl, Bromopropylat, Chlorfenvinphos, DDD, DDT, Dichlofluanid, Permethrin Propargit, Quinalphos und 4,4-Methoxychlor).

In den fünf definierten Landnutzungsclustern zeigten sich gewisse Unterschiede, sowohl was die nachgewiesenen Wirkstoffe, deren Anzahl als auch die Zahl positiver Proben betrifft. Die Anzahl nachgewiesener Substanzen bewegte sich zwischen 8 (Cluster 4: grünlanddominiert) und 34 (Cluster 1: nadelwalddominiert). Die drei anderen Cluster lagen bei 20-27 nachgewiesenen Substanzen. Die hohe Anzahl im Cluster 1 ist sicher auch darauf zurückzuführen, dass in diesen Gebieten die größte Anzahl an Bienenvölkern steht und sich daher dort auch die größte Zahl an Beobachtungsständen befand. Die immer wieder geäußerte Meinung, im städtisch dominierten Gebiet wäre die Exposition gegenüber Pestiziden geringer als in anderen Gebieten, konnte nicht bestätigt werden. Dies gilt sowohl für die Zahl an nachgewiesenen Substanzen – mit 27 wurde hier der zweithöchste Wert erreicht –, als auch für die Art der Substanzen.

Für die in den Bienenbrotproben nachgewiesenen Wirkstoffe wurden die Eckdaten der Bienen-toxizität (LD_{50oral} , $LD_{50Kontakt}$) aus Literaturquellen erhoben (siehe Tabelle 3.36). Von den 386 positiven Nachweisen konnte für 379 Substanzen auf Basis der LD_{50} und der nachgewiesenen Konzentrationen für die Einzelsubstanzen der Hazard Quotient (HQ_{einzel}) errechnet werden. Dieser erreichte bei acht Substanzen mit insektizider Wirkung (Imidacloprid, Imidacloprid-Olefin, Cyfluthrin, Cypermethrin, Permethrin, Esfenvalerat, Fipronil und Quinalphos) für die jeweilige Einzelsubstanz einen Wert von über 50, was einer relevanten Pestizidbelastung entspricht. Bei jeweils einer Probe erreichte der aus dem Messwert der Substanzen Cyfluthrin und Imidacloprid

berechnete HQ_{einzel} einen Wert von über 1000. In diesen beiden Fällen war somit schon vor der Aufsummierung der gesamten im Bienenbrot enthaltenen Substanzen eine erhöhte Pestizidbelastung gegeben. Auf den Überwinterungserfolg blieb diese Kontamination ohne Einfluss und die zwei davon betroffenen Völker überlebten den Winter 2015/16.

Aus den Werten der im Bienenbrot nachgewiesenen Einzelsubstanzen wurde ein Gesamt-Hazard-Quotient (HQ_{BB}) errechnet. Zwischen den lebend ausgewinterten und den im Winter 2015/16 abgestorbenen Völkern bestand kein signifikanter Unterschied der Höhe des HQ_{BB} . Der in der vorliegenden Studie ermittelte Medianwert von 0,61 war etwa um den Faktor Tausend niedriger, als der HQ_{BB} -Mittelwert von 450, wie er in einer amerikanischen Studie bei Bestäubungsvölkern aus Gebieten mit landwirtschaftlicher Nutzung ermittelt worden war.

In einem getesteten multivariaten Modell war im Untersuchungszeitraum der Posthoc-Studie der Bienenbefall mit Varroamilben im Herbst 2015 der Haupteinflussfaktor für die Wintersterblichkeit 2015/16. Weitere getestete Einflussfaktoren (Hazard Quotient und DWV-Typ) zeigten keinen statistisch signifikanten Einfluss. Wahrscheinlich war der Effekt dieser Faktoren zu klein, um mit der vorliegenden Stichprobengröße das Signifikanzlevel zu erreichen. Dies kann auch dadurch bedingt sein, dass im Winter 2015/2016 die Völkerverluste den niedrigsten Wert seit Beginn der COLOSS-Studien im Jahr 2007 aufwiesen. Die Erfahrung des Imkers, die Volksstärke im Herbst und das Alter der Königin, die im multivariaten Modell der Beobachtungsstudie mit einem zehnfach so großen Probenkollektiv einen Einfluss gezeigt hatten, waren im Modell der Posthoc-Studie ohne Einfluss.

Bei der Gesamtinterpretation der Ergebnisse der Posthoc-Studie ist sowohl in Bezug auf die Prävalenzen der untersuchten Krankheitserreger und Parasiten als auch in Bezug auf die ermittelten Rückstände von Pestiziden zu berücksichtigen, dass sich die Daten nur auf die Erhebungsperiode Herbst 2015 beziehen. In der darauffolgenden Überwinterungsperiode wurden die niedrigsten Winterverluste seit Beginn der COLOSS-Studie im Jahr 2007/08 registriert. Um Unterschiede zwischen den Jahren zu erfassen wären über mehrere Jahre laufende Untersuchungsprogramme erforderlich. Dies gilt auch für die Frage einer Gleichgewichtsverschiebung im Auftreten unterschiedlich virulenter Virusstämme im Verlauf der Jahre, bzw. in Abhängigkeit des Varroabefalles und der durchgeführten befallsmindernden Maßnahmen.

Zusammenfassend ergab die Posthoc Studie im Großen und Ganzen ein positives Bild des Gesundheitszustandes der untersuchten Bienenvölker in Österreich. Die in der Posthoc-Studie vertretenen Völker waren frei von Vergiftungssymptomen und die Mehrzahl auch frei von klinischen Krankheitssymptomen.

In den 210 untersuchten Bienenproben, die im Herbst 2015 entnommen worden waren, war das für Bienen schädliche Flügelverkrüppelungsvirus (DWV) mit deutlich geringerer Häufigkeit nachweisbar als in früheren Erhebungen aus Österreich, bzw. europäischen Vergleichsdaten. Da eine Infektion mit dem DWV-Virus eng mit dem Auftreten von Varroose – dem Symptombild bei hohem Varroabefall – verknüpft ist, zeigt dieses Ergebnis, dass ein Großteil der Imker und Imkerinnen der Beobachtungsstudie die Varroamilbe im Jahr 2015/16 gut im Griff hatte. Dieser Befund wird durch die hohe Anzahl von Bienenproben ohne nachweisbaren Varroabefall gestützt (Tabellen 3.20, 3.21). Diese Hypothese wurde auch durch die Ergebnisse der Beobachtungsstudie erhärtet, in der nur bei einem geringen Prozentsatz der Bienenvölker hohe Varroabefallswerte aufgetreten sind.

Zwischen der Pestizidbelastung des Bienenbrottes der untersuchten Völker im Herbst 2015 und nachfolgenden Winterverlusten bei diesen Völkern konnte kein signifikanter Zusammenhang

festgestellt werden. Die Pestizidbelastung lag in den meisten Fällen deutlich unterhalb der bei Vergiftungsverdacht gemessenen Vergleichswerte. Auch der Hazard Quotient des Bienenbrottes war um einen Faktor 1000 geringer als er bei Völkern im Bestäubungseinsatz in landwirtschaftlichen Intensivkulturen in den Vereinigten Staaten gemessen worden war. Vereinzelt waren im Bienenbrot auch Analyten nachweisbar, die in der EU nicht oder nicht mehr als Wirkstoffe für Pflanzenschutz Zwecke zugelassen sind (Bioallethrin, Biphenyl, Brompropylat, Chlorfenvinphos, DDD, DDT, Dichlofluanid, Permethrin, Propargit, Quinalphos und 4,4-Methoxychlor). Als mögliche Kontaminationsquellen kommen in diesen Fällen andere Einsatzgebiete (z. B. Holzschutz, Parasiten- und Ungezieferbekämpfung) oder Altlasten in Frage. Diese Ergebnisse zeigen, dass ein systematisch durchgeführtes Bienenbrotmonitoring – zusätzlich zu einer umfassenden rückstandsanalytischen Untersuchung von Vergiftungsverdachtsfällen –, ein hilfreiches Werkzeug für die Ermittlung der Bienenexposition gegenüber eingesetzten Pestiziden unterschiedlicher Expositionsquellen darstellt.

Da im Rahmen des Projektes nur ein kleiner Teil der bei den drei Standbesuchen gezogenen Bienen- und Bienenbrotproben untersucht werden konnte, werden die verbliebenen Proben bis auf Weiteres tiefgekühlt in der AGES gelagert, damit sie für mögliche künftige vertiefende Projekte und Untersuchungen zum Vorkommen von Bienenpathogenen oder Umweltschadstoffen verfügbar sind.

Da sich sowohl in der Posthoc- als auch der Beobachtungsstudie die erfolgreiche Kontrolle der Varroamilbe als ausschlaggebender Faktor für die erfolgreiche Überwinterung der Bienenvölker herauskristallisiert hat, ergibt sich daraus die Möglichkeit, durch gezielte, schwerpunktmäßige Schulungsmaßnahmen Verbesserungen bei der Wirksamkeit der Varroabekämpfung zu erzielen und so Winterverlusten vorzubeugen.

(3c) Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen in gemeldeten Fällen von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht in den Jahren 2014 bis 2016

3c.1 Einleitung

Völkerverluste und Bienenschäden können sowohl während der Überwinterungsperiode als auch in der aktiven Phase der Bienenvölker (Frühjahr bis Herbst) auftreten. Neben den direkten negativen wirtschaftlichen Auswirkungen für den Imkereibetrieb (zum Beispiel Ertragsverluste, eine reduzierte Zahl verkaufsfähiger Völker, Schwärme, Königinnen und die mit der Pflege geschädigter Völker bzw. den erforderlichen Reinigungs- und Sanierungsmaßnahmen verbundene Mehrarbeit), ist eine Reduktion der Bestäubungskapazität für Kultur- und Wildpflanzen eine weitere Folge.

Von betroffenen ImkerInnen wird in derartigen Fällen immer wieder der Verdacht geäußert, die Völkerverluste und Bienenschäden könnten durch eine Vergiftung ausgelöst worden sein. Zur Absicherung einer möglichen Exposition gegenüber Pestiziden (Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel, etc.) ist eine Rückstandsuntersuchung unumgänglich. Im Rahmen des Projektes „Zukunft Biene“ wurden in Fällen von Völker- und Bienenverlusten mit Vergiftungsverdacht in den Jahren 2014-2016 die Kosten für diese Rückstandsuntersuchungen abgedeckt. Damit war sichergestellt, dass ImkerInnen aus Kostengründen nicht von der Meldung derartiger Schadensfälle abgehalten wurden. Gleichzeitig werden die Anforderungen gemäß Richtlinie 2010/21/EU zur Überprüfung der tatsächlichen Exposition von Honigbienen gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil abgedeckt. Außerdem wurde eine Bewertung der Wirksamkeit der in Österreich mit der Änderung des Pflanzenschutzmittelgesetzes 2011, BGBl. I Nr. 10/2011 vom 31. 7. 2013 (RIS, 2011) gesetzten Maßnahmen zum Bienenschutz ermöglicht.

Ziele des Moduls 3c:

- Zentrale Erfassung und Dokumentation der gemeldeten Fälle von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht;
- Abdeckung der Anforderungen gemäß RICHTLINIE 2010/21/EU DER KOMMISSION vom 12. März 2010 zur Änderung von Anhang I der Richtlinie 91/414/EWG des Rates hinsichtlich Sonderbestimmungen zu Clothianidin, Thiamethoxam, Fipronil und Imidacloprid, laut der zum Schutz von Nichtzielorganismen, insbesondere Honigbienen und Vögeln, bei der Anwendung zur Saatgutbehandlung bei der Applikation auf Saatgut und bei der Drillsaat die Einhaltung der im Anhang angeführten Auflagen zu beachten ist und die Mitgliedstaaten sicherzustellen haben, dass erforderlichenfalls Überwachungsprogramme zur Überprüfung der tatsächlichen Exposition von Honigbienen gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil in von Bienen für die Futtersuche oder von Imkern genutzten Gebieten eingeleitet werden;
- Gewinnung fundierter Daten zu einer möglichen Exposition der Bienen gegenüber anderen Pestizidwirkstoffen (Pflanzenschutzmittel, Biozide, Tierarzneimittel) bzw. deren Metaboliten und Altlasten früherer Anwendungen;
- Erfassung des Gesundheitsaspektes durch parallele Untersuchungen auf Krankheitserreger und Parasiten bei Winterverlusten von Bienenvölkern mit Vergiftungsverdacht, um Bienenkrankheiten als mögliche Ursachen ausschließen zu können. Waren die Winterverluste klar durch Varroose oder andere Umstände (zum Beispiel Weisellosigkeit, Futtermangel) verursacht, erfolgte keine Rückstandsanalyse.

3c.2 Material und Methoden

Die Untersuchungen erfolgten in den drei Projektjahren als passives Monitoring. Das heißt, nur in gemeldeten Fällen von Vergiftungsverdacht von Bienenvölkern wurden Untersuchungen durchgeführt. Bienenstände ohne Vergiftungsverdacht waren nicht Teil dieses Monitorings. Alle österreichischen ImkerInnen hatten die Möglichkeit, Fälle mit Vergiftungsverdacht zu melden und Proben kostenlos untersuchen zu lassen.

In die Untersuchungen einbezogen wurden auch drei der vier gemeldeten Fälle von Bienenfrevelverdacht aus dem Jahr 2014, sowie ein gemeldeter Bienenfrevelverdacht aus dem Jahr 2015. In diesen Fällen war von den betroffenen ImkerInnen der Verdacht geäußert worden, die Bienen seien absichtlich vergiftet worden (= „Bienenfrevel“).

3c.2.1 Dokumentation der Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht

Betroffene Imkereibetriebe meldeten Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht an die Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES und dokumentierten die Begleitumstände mit einem Frage- und Erhebungsbogen (siehe Anhang zu Modul 3c). Dieser war von der AGES-Website abrufbar, bzw. erfolgte eine Zusendung per Mail oder Post, wenn durch den Imker ein Abruf über Internet nicht möglich war.

3c.2.2 Probenmaterial und Probenahmen bei Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht

Das Probenmaterial für die Rückstandsuntersuchungen setzte sich aus Bienenbrot, toten bzw. geschädigten Bienen und Pollenhöschchen aus Pollenfallen zusammen. Die Entnahme erfolgte durch die ImkerInnen bzw. durch MitarbeiterInnen der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES (Frevel-, Frühjahrs-, Sommer-, Herbstschäden). Generell wurde betroffenen Imkern und Probenehmern empfohlen, nach Sicherstellung der Proben diese möglichst rasch einzufrieren und dort bis zur Einsendung an die Abteilung Bienenkunde der AGES zu lagern. Für die Einsendung selbst wurde der Versand per Botendienst, EMS-Service der Post oder persönliche Überbringung – möglichst unter Einhaltung der Tiefkühlkette durch Verwendung von Styropor-Versandboxen mit Tiefkühlakkus – empfohlen.

In einem Fall von hohen Völkerverlusten während der Überwinterung wurden die Proben durch einen Bienensachverständigen im Auftrag des Amtstierarztes entnommen und an die Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES überbracht.

Von AGES-MitarbeiterInnen vor Ort entnommene Proben wurden in mobilen Tiefkühlboxen in die Lagereinrichtungen der AGES transportiert und dort weiter tiefgekühlt gelagert. Wie Schott et al. (2017) experimentell am Beispiel Imidacloprid zeigen konnten, wird in vergifteten Bienen – die durch das Insektizid zwar gelähmt aber noch lebend sind – durch rasches Tiefkühlen der Wirkstoffabbau gestoppt.

3c.2.2.1 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht in der Überwinterungsperiode 2013/14

Die von den Imkern entnommenen Bienenbrotproben (in Einzelfällen auch Bienenproben) blieben bis zur Einsendung an die Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz in den Imkereibetrieben

tiefgekühlt gelagert. Nach Einlangen der Proben an der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz wurden die Proben registriert und erneut tiefgekühlt gelagert.

Der Großteil der Rückstandsanalysen bei abgestorbenen Wintervölkern erfolgte an Bienenbrot. Sofern Bienenbrotproben aus mehreren Völkern desselben Standes eingesandt worden waren, wurden gleich große Einzelproben aus den Waben der beprobten Völker eines Standes zu einer Sammelprobe vereinigt. War nur aus einem Volk eine Probe verfügbar, kam diese als Einzelprobe zur Rückstandsuntersuchung. Vom Analytiklabor erfolgte dann die Homogenisierung zur Untersuchungsprobe.

In Einzelfällen, zum Beispiel wenn kein Bienenbrot verfügbar war, erfolgten Rückstandsanalysen auch an Bienenproben aus über den Winter abgestorbenen Völkern.

Gesundheitsuntersuchungen

Waren Brut- und/oder Bienenproben verfügbar, wurden diese an der AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz, auf Krankheitserreger und Parasiten untersucht, um diese als mögliche Ursache für die Winterverluste ausschließen zu können. Untersuchte Parameter:

- *Varroa destructor* in Brut- und Bienenproben (Ergebnisangabe als Varroabefall in Prozent);
- *Nosema* spp. (lichtmikroskopische Untersuchung auf Sporen) in Bienenproben; bei positivem Befund erfolgte in den meisten Fällen eine Artbestimmung auf *N. apis* bzw. *N. ceranae* mittels PCR;
- *Paenibacillus larvae* (Amerikanische Faulbrut) in Brutproben: Im ersten Schritt wurden die Brutproben auf klinische Symptome der Amerikanischen Faulbrut untersucht. Waren Symptome vorhanden, erfolgte als zweiter Schritt die Abklärung mit mikrobiologischen (Anzucht auf Kulturplatten, Schrägagarröhrchen für Geißelzopftest) und chemischen (Katalasetest) Methoden. Bei positivem Befund erfolgte gemäß Bienenseuchengesetz eine Meldung an die zuständige Bezirksverwaltungsbehörde.

Die Ergebnisangabe bei den Krankheitserregern lautet: nachweisbar (pos.), nicht nachweisbar (n.n.), nicht untersucht (n.u.) oder nicht auswertbar (n.a.).

Aufgrund der Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen erfolgten in einigen wenigen Fällen keine Rückstandsuntersuchungen, da in den toten Wintervölkern mit Vergiftungsverdacht Amerikanische Faulbrut bzw. Symptome von Varroose (über 10% Bienen- oder Brutbefall, Mehrfachbefall von Brutzellen, DWV-Symptome) vorhanden waren und dies mit hoher Wahrscheinlichkeit die Ursache für das Absterben der Völker war. Rosenkranz et al. (2014) fanden im Rahmen des Deutschen Bienenmonitorings einen drastischen Anstieg der Verlustrate im Winter ab einem Varroabefall der Herbst- bzw. Winterbienen von mehr als 5%. Binder-Köllhofer (2011) stuft ab 5% Bienenbefall im Oktober ein Volk als in seiner Überlebensfähigkeit gefährdet ein.

3c.2.2.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2014

Untersuchtes Material: Je nach Verfügbarkeit wurden Bienen-, Bienenbrotproben und Pollenhöschchen aus Pollenfallen von Bienenständen mit Vergiftungsverdacht untersucht. Für die Bienenbrotuntersuchungen wurden Proben aus Bienenvölkern des betroffenen Standes entnommen und als Sammelprobe rückstandsanalytisch untersucht. Fallweise eingesandte andere Probenmatrices

(zum Beispiel 3 Pferdebohnen-Pflanzenproben) wurden rückstandsanalytisch nicht untersucht, da dies laut Projektplan nicht vorgesehen war.

In den meisten Fällen erfolgten die Probenahmen durch die betroffenen ImkerInnen selbst. In zwei Fällen mit einer größeren Zahl betroffener Bienenstände erfolgte die Probenahme durch MitarbeiterInnen der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz im Zuge von Erhebungen vor Ort. Letzteres war auch in einem vermuteten Frevefall in Niederösterreich mit dem Totalverlust von 24 Völkern der Fall, wo die Probenahme im Beisein des zuständigen Amtstierarztes und des Bienensachverständigen erfolgte.

3c.2.2.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Frühherbst 2014

Diese Periode umfasste die Monate September und Oktober 2014. Die Probenahme erfolgte analog zu 3c.2.2.2.

3c.2.2.4 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2014/15 bis Spätsommer/Frühherbst 2016

Die Erfassung der gemeldeten Fälle und die Probenahme erfolgten analog zum Vorjahr.

3c.2.3 Rückstandsanalysen

Die Untersuchungen an Bienen und Bienenbrot erfolgten – wie in den letzten Jahren – durch das Labor PTRL Europe GmbH, Eiselauer Weg 4, Geb./Bldg. 5, D-89081 Ulm, Deutschland. Details zu Analyten, Methoden, Bestimmungs- und Nachweisgrenzen sind in Tab. 3.45 und 3.46 ersichtlich. In den Tabellen und Abbildungen erfolgen alle Konzentrationsangaben in mg/kg. Entsprechend der verwendeten Methodenbezeichnung durch das Labor wurden die erfassten Analyten in Tab. 3.45 und Tab. 3.46 folgendermaßen gruppiert:

- „Neonicotinoide“ (siehe Tabelle 3.45; mit dieser Methode wurde auch Fipronil und der Metabolit Fipronilsulfon erfasst, obwohl diese als Vertreter der Phenylpyrazole nicht der chemischen Gruppe der Neonicotinoide angehören)
- „Metaboliten“ (Tabelle 3.45; ausgewählte Metaboliten der Neonicotinoide Imidacloprid und Clothianidin)
- „Spezielle Analyten“ (Tabelle 3.45)
- „Multi-Residue“ (komplette Analytliste siehe Tabelle 3.46)

Im weiteren Text werden die Analyten der Gruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi-Residue“ künftig unter dem Begriff „Sonstige Pestizide“ geführt.

Tabelle 3.45: Übersicht über Analytgruppen, Analyten, Methoden, Bestimmungs- (BG [LOQ]) und Nachweisgrenzen (NG [LOD]) für die Rückstandsuntersuchungen der Proben mit Vergiftungsverdacht aus den Jahren 2014, 2015 und 2016.

Analytgruppe (= Methoden- bezeichnung des Labors)	Analyten	Methode	BG (LOQ) [mg/kg]	NG (LOD) [mg/kg]
„Neonicotinoide“	Clothianidin	Adaptierung der QuEChERS Multi-Methode (Acetonitril/Wasser Verteilung, Zugabe von Salzen, Zentrifugation, dispersive Festphasenextraktion (SPE) zur Aufreinigung	0,001	0,0002
	Fipronil			
	Fipronil-sulfon			
	Imidacloprid			
	Thiacloprid			
	Thiamethoxam			
„Metaboliten“	Imidacloprid-Hydroxy	Extraktion mit Methanol/Wasser/Essigsäure, Zentrifugation, Aufreinigung mittels Chromabond XTR und über Silica-Gel-Säule	0,001	0,0002
	Imidacloprid-Olefin			
	TZNG			
	TZMU			
„Spezielle Analyten“	Methiocarb	Adaptierung der QuEChERS Multi-Methode (Acetonitril/Wasser Verteilung, Zugabe von Salzen, Zentrifugation, dispersive Festphasenextraktion (SPE) zur Aufreinigung	0,01	0,002
	Chlorantraniliprol			
	Imidacloprid-nitrosimin			
	Methiocarb-sulfoxid			
	Prothioconazol			
	Spirotetramat			
	Pyrethrine			
„Multi-Residue“	Komplette Analytliste der Gruppe „Multi-Residue“, siehe Tabelle 3.46 auf Folgeseiten	Adaptierung der QuEChERS Multi-Methode (Acetonitril/Wasser Verteilung, Zugabe von Salzen, Zentrifugation, dispersive Festphasenextraktion (SPE) zur Aufreinigung	0,01	0,002

Bei den gemessenen Analyten der Gruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi-Residue“ gab es zwischen den 3 Jahren geringfügige Unterschiede. Diese sind darauf zurückzuführen, dass vom Untersuchungslabor zum allergrößten Teil zertifizierte Standards verwendet wurden, die kommerziell bezogen wurden. Die Zusammensetzung dieser Mischstandards wurde teilweise vom Hersteller in den unterschiedlichen Jahren geringfügig verändert oder gewisse Substanzen wurden nicht mehr diesen Mischungen zugesetzt. Da diese mangels Verfügbarkeit nicht lückenlos durch Einzelstandards ersetzt werden konnten, ergeben sich zwischen den drei Untersuchungsjahren geringfügige Unterschiede im Analytspektrum.

Tabelle 3.46: Erfasste Analyten für die Untersuchungsjahre 2014, 2015 und 2016 in der Sammelgruppe „Sonstige Pestizide (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45; U = untersucht; / = nicht untersucht). Siehe Fortsetzungen der Tabelle 3.46 auf Folgeseiten; bezüglich Analytgruppen siehe Tabelle 3.45.

Analyten	Jahr		
	2014	2015	2016
2,3,5,6-Tetrachloroanilin	U	U	U
2,4-Methoxychlor	U	U	U
2-Phenylphenol	U	U	U
3,4-Dichloranilin	U	U	U
4,4-Methoxychlor	U	U	U
8,9-Avermectin	U	U	U
Acephat	U	U	U
Acequinocyl	U	U	/
Acetochlor	U	U	U
Acrinathrin	U	U	U
Alachlor	U	U	U
Aldicarb-sulfoxid	U	U	U
Aldoxycarb	U	U	/
Aldrin	U	U	U
Allidochlor	U	U	U
Anthraquinon	U	U	U
Atrazin	U	U	U
Azinphos-ethyl	U	U	U
Azinphos-methyl	U	U	U
Azoxystrobin	U	U	U
Benalaxyl	U	U	U
Bendiocarb	U	U	U
Benfluralin	U	U	U
Bifenthrin	U	U	U
Bioallethrin	U	U	U
Biphenyl	U	U	U
Bitertanol	U	U	U
Boscalid	U	U	U
Bromfenvinphos	U	U	U
Bromfenvinphos-methyl	U	U	U
Bromophos-ethyl	U	U	U
Bromophos-methyl	U	U	U
Brompropylat	U	U	U
Bromuconazol	U	U	U
Bupirimat	U	U	U
Buprofezin	U	U	U
Captafol	U	U	/
Captan	U	U	/
Carbaryl	U	U	/
Carbendazim	U	U	U

Carbofuran	U	U	U
Carbofuran-3-hydroxy	U	U	U
Carbophenothion	U	U	U
Carbosulfan	U	U	U
Carfentrazon-ethyl	U	U	U
Chlorbensid	U	U	U
Chlordan gamma	U	U	U
Chlordan-alpha	U	U	U
Chlorfenapyr	U	U	U
Chlorfenson	U	U	U
Chlorfenvinphos	U	U	U
Chlorobenzilat	U	U	U
Chloroneb	U	U	U
Chlorothalonil	U	U	U
Chlorpropham	U	U	U
Chlorpyrifos [= Chlorpyrifos-ethyl]	U	U	U
Chlorpyrifos-methyl	U	U	U
Chlorthal-dimethyl DCPA	U	U	U
Chlorthiophos	U	U	U
Chlozolinat	U	U	U
Clofentezin	U	U	U
Clomazon	U	U	U
Coumaphos	U	U	U
Cycloate	U	U	U
Cyfluthrin	U	U	U
Cyhalothrin-lambda	U	U	U
Cypermethrin	U	U	U
Cyproconazol	U	U	U
Cyprodinil	U	U	U
Cyromazin	U	U	U
DDD o,p	U	U	U
DDD p,p (TDE)	U	U	U
DDE o,p	U	U	U
DDE p,p	U	U	U
DDT o,p	U	U	U
DDT p,p	U	U	U
Deltamethrin	U	U	U
Demeton-S-methyl	U	U	U
Desmedipham	U	U	U
Diallate (cis)	U	U	U
Diallate (trans)	U	U	U
Diazinon	U	U	U
Dichlobenil	U	U	/
Dichlofluanid	U	U	/
Dichlorbenzophenon, p,p'-	U	U	U

Dichlorvos	U	U	U
Dicloran	U	U	/
Dicofol	U	U	U
Dieldrin	U	U	U
Difenoconazol	U	U	U
Diflubenzuron	U	U	U
Dimethachlor	U	U	U
Dimethoat	U	U	U
Dimethomorph	U	U	U
Diniconazol	U	U	U
Diphenamid	U	U	U
Disulfoton	U	U	U
Ditalimfos	U	U	U
Diuron	U	U	U
Edifenphos	U	U	U
Emamectin-benzoat	U	U	U
Endosulfan ether	U	U	U
Endosulfan-alpha	U	U	U
Endosulfan-beta	U	U	U
Endosulfan-sulfat	U	U	U
Endrin	U	U	/
Endrin-aldehyd	U	U	/
Endrin-keton	U	U	/
EPN	U	U	U
Epoxiconazol	U	U	U
Esfenvalerat	U	U	U
Ethalfuralin	U	U	U
Ethiofencarb	U	U	U
Ethion	U	U	U
Ethoxyquin	U	U	U
Ethylan	U	U	U
Etofenprox	U	U	U
Etridiazol	U	U	U
Etrimphos	U	U	U
Famoxadon	U	U	U
Fenamiphos	U	U	U
Fenarimol	U	U	U
Fenazaquin	U	U	U
Fenbuconazol	U	U	U
Fenchlorphos	U	U	U
Fenhexamid	U	U	U
Fenitrothion	U	U	U
Fenoxycarb	U	U	U
Fenpropathrin	U	U	U
Fenpropimorph	U	U	U

Fenpyroximat	U	U	U
Fenson	U	U	U
Fenthion	U	U	U
Fenvalerat	U	U	U
Fipronil	U	U	U
Flonicamid	U	U	U
Fluazifop-p-butyl	U	U	U
Fluazinam	U	U	U
Fluchloralin	U	U	U
Flucythrinat	U	U	U
Fludioxonil	U	U	U
Flufenoxuron	U	U	U
Fluquinconazol	U	U	U
Fluridone	U	U	U
Flusilazol	U	U	U
Flutolanil	U	U	U
Flutriafol	U	U	U
Folpet	U	U	U
Fonofos	U	U	U
Formetanat HCl	U	U	U
Formothion	U	U	U
HCH alpha	U	U	U
HCH beta	U	U	U
HCH delta	U	U	U
HCH gamma Lindan	U	U	U
Heptachlor	U	U	U
Heptachlorepoxyd-cis	U	U	U
Heptachlorepoxyd-trans	U	U	U
Heptenophos	U	U	U
Hexachlorbenzol	U	U	U
Hexaconazol	U	U	U
Hexazinon	U	U	U
Hexythiazox	U	U	U
Imazalil	U	U	U
Imidacloprid	U	U	U
Indoxacarb	U	U	U
Iodofenfos	U	U	U
Iprodion	U	U	U
Iprovalicarb	U	U	U
Isazophos	U	U	U
Isodrin	U	U	U
Isopropalin	U	U	U
Kresoxim-methyl	U	U	U
Lenacil	U	U	U
Leptophos	U	U	U

Linuron	U	U	U
Lufenuron	U	U	U
Malaoxon	U	U	/
Malathion	U	U	U
Mecarbam	U	U	U
Mepanipyrim	U	U	U
Mepronil	U	U	U
Metalaxyl	U	U	U
Metamitron	U	U	U
Metazachlor	U	U	U
Metconazol	U	U	U
Methacrifos	U	U	U
Methamidophos	U	U	U
Methiocarb	U	U	U
Methomyl	U	U	U
Methoxychlor	U	U	U
Methoxyfenozid	U	U	U
Metolachlor	U	U	U
Metribuzin	U	U	U
Mevinphos	U	U	U
MGK 264	U	U	U
Mirex	U	U	U
Myclobutanil	U	U	U
N-(2,4)-Dimethylphenylformamid	U	U	U
Nicosulfuron	U	U	U
Nitralin	U	U	U
Nitrofen	U	U	U
Nonachlor cis	U	U	U
Nonachlor trans	U	U	U
Norflurazon	U	U	U
Nuarimol	U	U	U
Omethoat	U	U	U
Oxadiazon	U	U	U
Oxadixyl	U	U	U
Oxamyl	U	U	U
Oxyfluorfen	U	U	U
Paclobutrazol	U	U	U
Paraoxon-methyl	U	U	U
Parathion	U	U	U
Parathion-methyl	U	U	U
Pebulate	U	U	U
Penconazol	U	U	U
Pencycuron	U	U	U
Pendimethalin	U	U	U
Pentachloranisol	U	U	U

Pentachlorbenzol	U	U	U
Pentachlorbenzotrill	U	U	U
Pentachloroanilin	U	U	U
Pentachlorothioanisol	U	U	U
Permethrin	U	U	U
Phenmedipham	U	U	U
Phenothrin	U	U	U
Phorat	U	U	U
Phosalon	U	U	U
Phosmet	U	U	U
Picoxystrobin	U	U	U
Piperonylbutoxid	U	U	U
Pirimicarb	U	U	U
Pirimiphos-ethyl	U	U	U
Pirimiphos-methyl	U	U	U
Pretilachlor	U	U	U
Prochloraz	U	U	U
Procymidon	U	U	U
Prodiamine	U	U	U
Profenofos	U	U	U
Profluralin	U	U	U
Propachlor	U	U	U
Propamocarb	U	U	U
Propanil	U	U	U
Propargit	U	U	U
Propiconazol	U	U	U
Propisochlor	U	U	U
Propoxur	U	U	U
Propyzamid	U	U	U
Prothiofos	U	U	U
Pymetrozin	U	U	U
Pyraclofos	U	U	U
Pyraclostrobin	U	U	U
Pyrazophos	U	U	U
Pyridaben	U	U	U
Pyridaphenthion	U	U	U
Pyrimethanil	U	U	U
Pyriproxyfen	U	U	U
Quinalphos	U	U	U
Quinoxyfen	U	U	U
Quintozen	U	U	U
Resmethrin	U	U	U
Rotenon	U	U	U
Spinosyn A	U	U	U
Spinosyn B	U	U	/

Spirodiclofen	U	U	U
Spiromesifen	U	U	U
Spiroxamin	U	U	U
Sulfotep	U	U	U
Sulprofos	U	U	U
tau-Fluvalinat	U	U	U
Tebuconazol	U	U	U
Tebufenozid	U	U	U
Tebufenpyrad	U	U	U
Tecnazen	U	U	U
Teflubenzuron	U	U	U
Tefluthrin	U	U	U
Terbufos	U	U	U
Tetrachlorvinphos	U	U	U
Tetraconazol	U	U	U
Tetradifon	U	U	U
Tetrahydrophthalimid (THPI)	U	U	U
Tetramethrin	U	U	U
Thiofanox	U	U	U
Thiophanate-methyl	U	U	U
Tolclofos-methyl	U	U	U
Tolyfluanid	U	U	U
Transfluthrin	U	U	U
Triadimefon	U	U	U
Triadimenol	U	U	U
Triallate	U	U	U
Triazophos	U	U	U
Tricyclazol	U	U	U
Trifloxystrobin	U	U	U
Triflumizol	U	U	U
Triflumuron	U	U	U
Trifluralin	U	U	U
Triphenylphosphat (TPP)	U	U	/
Triticonazol	U	U	U
Vamidotion	U	U	U
Vinclozolin	U	U	U
Zoxamid	U	U	U
Cymoxanil	/	/	U
Dichloran	/	/	U
Dichlorbenil	/	/	U
Dichlorfluanid	/	/	U
Acetamiprid	U	/	/
alpha-Cypermethrin	U	/	/
Gesamt	304	302	292

Das in Tabelle 3.46 auch gelistete Imidacloprid wurde mit der in Tabelle 3.45 angeführten Spezialmethode für Neonicotinoide mit der dort angegebenen Nachweis- und Bestimmungsgrenze gemessen (NG: 0,0002 mg/kg; BG: 0,001 mg/kg).

3c.3 Ergebnisse der Untersuchungen von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht

Die Ergebnisse der Untersuchungen von Vergiftungsverdachtsfällen bzw. Frevelverdachtsfällen sind für das jeweilige Untersuchungsjahr in getrennten Kapiteln dargestellt.

In den Tabellen zu den Ergebnissen der Rückstandsuntersuchungen sind Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon immer ausgewiesen, andere Wirkstoffe und Metaboliten nur dann, wenn sie zumindest in einer Probe der jeweiligen Periode nachweisbar waren.

3c.3.1 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2013/14

Für die Überwinterungsperiode 2013/14 wurden von 9 Betrieben für insgesamt 16 Bienenstände Völkerverluste mit Vergiftungsverdacht gemeldet. In diesen Fällen waren entweder ein großer Teil oder alle eingewinterten Völker abgestorben bzw. sehr stark geschwächt. Im Gesamten waren 62% der eingewinterten Völker dieser Stände abgestorben (Tabelle 3.47).

Tabelle 3.47: Gemeldete Fälle von Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht in der Überwinterungsperiode 2013/14.

Bundesland	Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker [%]
			Gesamtzahl auf Ständen	tot	geschwächt	normal	tot
B	3	9	224	129	33	62	58
NÖ	4	5	84	61	16	7	73
OÖ	2	2	27	18	5	4	67
Summe	9	16	335	208	54	73	62

3c.3.1.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2013/14

Laut Angaben der betroffenen ImkerInnen wurden bei den gemeldeten Vergiftungsverdachtsfällen der Überwinterungsperiode 2013/14 folgende Symptome beobachtet:

- tote oder geschwächte Wintervölker (Abbildung 3.69; Abbildung 3.70)
- Stöcke bienenleer bzw. erhöhter bis sehr hoher Wintertotenfall

- tote Bienen mit verkrampftem Körper
- vereinzelt tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel



Abbildung 3.69: Abgestorbenes Wintervolk 2013/14. Restbrut mit wenigen Bienen, Ruhrsymptomen, reichlich Futter und geringem Bientotenfall im Bodenbrett (Foto: ©Tierarzt A. Fischer, 11.2.2014).



Abbildung 3.70: Abgestorbenes Wintervolk 2013/14. Links: zur Varroabekämpfung auf die Rähmchenoberleisten aufgelegte APILIFE VAR-Plättchen; Mitte: reichliche Futtervorräte, bienenleere Waben; rechts: abgestorbene, verschimmelte Mini-Winterbientraube auf Wabe mit Futtervorräten (Eigenfotos: ©Imker).

Da bei mehr als der Hälfte der gemeldeten Fälle kein geeignetes Probenmaterial für Rückstands- bzw. Gesundheitsuntersuchungen zur Verfügung stand, konnte letztlich nur ein Teil der Stände auf Rückstände bzw. hinsichtlich Bienengesundheit untersucht werden.

3c.3.1.2 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2013/14

Bienenproben

Insgesamt wurden 8 Bienenproben untersucht (davon 2 Einzelproben, der Rest waren Sammelproben; Gesamtzahl repräsentierter Völker: 59). Der Varroabefall der Bienen lag zwischen 0% (1 Probe) und maximal 7%. *Nosema ceranae* war in 3 Proben nachweisbar (Tabelle 3.48).

Tabelle 3.48: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Bienenproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2013/14 (W = Winterverlust, n.n. = nicht nachweisbar, pos = positiv, Va% = Varroabefall in Prozent).

Periode	Land	Stände	Pool- Probennummer	Anzahl Einzelproben	Va%	<i>Nosema</i> spp.	<i>Nosema</i> <i>ceranae</i>
W	B	3	14043724-116	17	4	n.n.	
			14043724-118	16	2	n.n.	
			14043724-117	10	1	pos.	pos.
	NÖ	3	14030989-001	1	7	pos.	pos.
			14029315-034	9	4	n.n.	
			14008422-009	3	4	n.n.	
	OÖ	2	14056270-006	2	1	pos.	pos.
			14067699-001	1	n.n.	n.n.	
Summe		8		59			

Brutproben

Tabelle 3.49 zeigt das Ergebnis der untersuchten Brutproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2013/14. In den auswertbaren Proben (Anzahl Brutzellen > 20) lag der Prozentsatz varroabefallener Brutzellen zwischen 10% und 56%. In allen Fällen war ein Mehrfachbefall durch mehrere Muttermilben feststellbar. Der höchste Prozentsatz befallener Brutzellen wurde auf einem von 3 Ständen jenes Betriebes ermittelt, von dem uns die Bilder zu Abbildung 3.70 übermittelt worden waren. Offenbar erbrachte die durchgeführte Behandlung mit APILIFE-VAR eine völlig unzureichende Wirkung und die Völker starben trotz Behandlung ab.

In einem Betrieb war Amerikanische Faulbrut bei insgesamt 7 Völkern auf 2 verschiedenen Ständen nachweisbar (Tabelle 3.49).

Tabelle 3.49: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Brutproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2013/14 (AFB = Amerikanische Faulbrut, n.n. = nicht nachweisbar, n.a. = nicht auswertbar, pos. = positiv).

Bundesland	Betrieb/Stand	Gesamtzahl Völker am Stand	Anteil der Völker (%)			Proben Nr.	AFB	Varroa-Brutbefall (%)	
			tot	geschwächt	normal			Varroa Mehrfachbefall	
B	A/A-1	38	45	16	39	14043724-005	n.n.	n.a. < 10 Brutzellen	
						14043724-080	n.n.	34	ja
						14043724-083	n.n.	32	
						14043724-090	n.n.	56	
						14043724-099	n.n.	36	
						14043724-102	n.n.	40	
						14043724-105	n.n.	10	
B	A/A-2	68	35	18	47	14043724-008	pos.	nicht untersucht, da AFB	
						14043724-015			
						14043724-030			
						14043724-048	n.n.	n.a. < 20 Brutzellen	
						14043724-012			
						14043724-018			
						14043724-021			
						14043724-024			
						14043724-027			
						14043724-033			
						14043724-036			
						14043724-039			
						14043724-042			
						14043724-045			
B	A/A-3	32	38	16	46	14043724-062	pos.	nicht untersucht, da AFB	
						14043724-067			
						14043724-073			
						14043724-056	n.n.	50	ja
						14043724-002	n.n.	n.a. < 20 Brutzellen	
						14043724-050			
						14043724-059			
						14043724-064			
14043724-065									
NÖ	B/B-1	26	58	15	27	n.a. < 20 Brutzellen			
									14029315-013
									14029315-014
	C/C-1	4	75	25	0	14008422-003	n.n.	22	ja
						14008422-005	n.a. < 20 Brutzellen		

3c.3.1.3 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2013/14

Von 8 ImkerInnen (15 Ständen) wurden 11 Proben (2 Bienen-, 9 Bienenbrotproben) als Einzel- bzw. Sammelproben rückstandsanalytisch untersucht. Das Ergebnis ist in Tabelle 3.50 zusammengefasst.

Tabelle 3.50: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2013/14 (n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unter Bestimmungsgrenze). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46. TZNG = Metabolit von Clothianidin.

Bundesland	Standgemeinde	Stand	Material	Probe Nr.	Clothianidin (mg/kg)	Imidacloprid (mg/kg)	Thiamethoxam (mg/kg)	Fipronil (mg/kg)	Fipronilsulfon (mg/kg)	TZNG (mg/kg)
B	Nickelsdorf	Ni-Pö	Bienenbrot	14032190-011	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Lackendorf	La-Hau	Bienenbrot	14043724-119	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		La-KroÄ	Bienenbrot	14043724-120	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.
	Stoob	Sto	Bienenbrot	14043724-121	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Nickelsdorf	Ni	Bienenbrot	14032179-008	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	< BG	n.n.
	Deutsch Jahrndorf	Stau	Bienenbrot		n.n.	n.n.	n.n.			
		Obst	Bienenbrot		n.n.	n.n.	n.n.			
		Gste	Bienenbrot		n.n.	n.n.	n.n.			
Pama	Pam	Bienenbrot	n.n.	n.n.	n.n.					
NÖ	Vitis	Frei	Bienen	14029315-034	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Wr. Neustadt	Aka	Bienen	14030989-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG
	Stockerau	Schm-Au	Bienenbrot	14056275-010	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		Schm	Bienenbrot	14056275-009	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
OÖ	Moosbach	Hei	Bienenbrot	14067699-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Hochburg-Ach	Hau	Bienenbrot	14056270-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.

Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar.

Der TZNG-Metabolit von Clothianidin war in einer Probe aus Niederösterreich in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze nachweisbar.

Der Hydroxy- bzw. Olefinmetabolit von Imidacloprid, sowie der TZMU Metabolit von Clothianidin waren nicht nachweisbar.

Von Fipronil bzw. Fipronilsulfon waren Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze in 3 Bienenbrot-Sammelproben (2 aus dem Burgenland, 1 aus Oberösterreich) aus abgestorbenen Wintervölkern

nachweisbar (je eine Probe nur mit Fipronil bzw. Fipronilsulfon, eine Probe mit Fipronil und Fipronilsulfon).

„Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) waren in keiner Probe nachweisbar.

3c.3.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2014

Für den Zeitraum Frühjahr bis Sommer 2014 wurden von 30 Imkereibetrieben aus den Bundesländern Burgenland, Kärnten, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark, Tirol, Vorarlberg und Wien für insgesamt 34 Bienenstände Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet (Tabelle 3.51). Zwischen den Bundesländern zeigten sich große Unterschiede in der Zahl der Vergiftungsverdachtsmeldungen bzw. der Anzahl eingesandter Proben (Tabelle 3.51). Die größte Zahl betroffener Bienenstände wurde aus Ober- und Niederösterreich gemeldet.

Tabelle 3.51: Meldungen mit Vergiftungsverdacht im Frühjahr bis Sommer 2014.

Bundesland	Anzahl Betriebe*	Anzahl Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker % tot
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	
B	1	1	6	0	6	0	0,0
K	1	1	8	0	1	7	0,0
NÖ	10	11	136	1	113	22	0,7
OÖ	9	12	176	0	175	1	0,0
ST	3	3	47	1	46	0	2,1
T	4	4	45	0	36	9	0,0
V	1	1	8	0	8	0	0,0
W	1	1	3	1	2	0	33,3
SUMME	30	34	429	3	387	39	0,7

* davon rückstandsanalytisch untersucht: 27 Betriebe (31 Stände); 3 Betriebe (3 Stände) wurden nicht untersucht: 2 x zu wenig Bienen, 1 x Amerikanische Faulbrut.

Bezüglich der vermuteten Vergiftungsursache bzw. Expositionsquelle im Zusammenhang mit Pflanzenschutzmaßnahmen wurde von den ImkerInnen am Fragebogen am häufigsten „unbekannt“ angekreuzt (15 Nennungen), gefolgt von „Sonstige“ mit 14 Nennungen (darunter wurden dann zum Beispiel angeführt: Erbse, Senf, Ackerbohne, Gemüse, Buchsbaum, Maikäferbekämpfung). Weitere konkrete Nennungen betrafen Mais (5 x), Obst (3 x), Getreide (2 x) und mit je einer Nennung Raps, Kürbis, Wein und Forst.

3c.3.2.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2014

Laut Angaben der ImkerInnen wurden zum Zeitpunkt des Schadenseintrittes folgende Symptome auf den Ständen mit Vergiftungsverdacht beobachtet:

- starker Flugbienenverlust
- Rückgang der Flugtätigkeit, der Volksstärke bzw. des Bienenbesatzes im Honigraum
- flugunfähige Krabblers
- tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel
- erhöhter Bientotenfall (Abbildung 3.71, Abbildung 3.72)
- tote Bienen mit verkrampftem Körper
- Bienen mit Verhaltensstörungen (Zittern, Torkeln, Hüpfen)
- Austrag toter Brut
- tote Bienen mit Pollenhöschen



Abbildung 3.71: Bientotenfall 22./23.6.2014 zur Senfblüte (NÖ). Fipronil positiv (< BG), Thiacloprid positiv (< BG), Proben Nr. 14063178-001 (Eigenfoto: ©Imker).



Abbildung 3.72: Bientotenfall 23.4.2014 (NÖ). Proben Nr. 14044808, Rückstandsuntersuchung negativ (Foto: ©BSV Mader).

3c.3.2.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Frühjahr bis Sommer 2014

Aus dieser Periode wurden 52 Proben (30 Bienen-, 16 Bienenbrot- und 6 Höschepollenproben aus Pollenfallensammlungen) auf Rückstände untersucht.

Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar. Dies gilt auch für die untersuchten Metaboliten Imidacloprid-Hydroxy, Imidacloprid-Olefin und die Clothianidin-metaboliten TZNG und TZMU.

Fipronil bzw. Fipronilsulfon waren in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze in 2 Bienenproben (Tirol: Fipronilsulfon, Niederösterreich: Fipronil) nachweisbar.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) war Thiacloprid in insgesamt 4 Proben (2 Bienen-, 2 Bienenbrotproben), Azoxystrobin in 2 Bienenproben, tau-Fluvalinat in 1 Bienenbrotprobe und Tebuconazol in 3 Proben (2 Bienen-, 1 Bienenbrotprobe) nachweisbar.

In den in Tirol mit Pollenfallen gesammelten Höschepollenproben waren keine Rückstände nachweisbar.

Die Detailergebnisse der Rückstandsuntersuchungen für Bienen-, Bienenbrot und Höschepollenproben sind in den Tabellen 3.52, 3.53 und 3.54 aufgeschlüsselt.

Tabelle 3.52: Bienenproben – Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen bei Vergiftungsverdacht im Frühjahr-Sommer 2014 (n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unter Bestimmungsgrenze). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Bundesland	Standgemeinde	Poolung	Datum Probenahme	Clothianidin (mg/kg)	Imida-cloprid (mg/kg)	Thiamethoxam (mg/kg)	Fipronil (mg/kg)	Fipronil-sulfon (mg/kg)	Thia-cloprid (mg/kg)	Azoxy-strobin (mg/kg)	Tebu-conazol (mg/kg)
B	Deutsch Jahrdorf	14032179-025	18.07.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
NÖ	Albrechtsberg	14066077-001	23.06.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14066078-001	23.06.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Asparn	14058789-003	04.06.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,08
	Hofamt Priel	14050213-004	30.04.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Kapellen	14037562-021	08.04.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Klosterneuburg	14057642-001	18.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Lichtenau	14063178-001	13.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	< BG	n.n.	n.n.
		14063178-002	22.06.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0013	n.n.	n.n.
	Nußdorf	14044808-010	23./24.4.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Thaya	14074501-007	13./14.7.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Waidhofen	14056342-001	01.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,53	n.n.

Tabelle 3.52: (Fortsetzung)

Bundesland	Standgemeinde	Poolung	Datum Probenahme	Clothianidin (mg/kg)	Imidacloprid (mg/kg)	Thiamethoxam (mg/kg)	Fipronil (mg/kg)	Fipronil-sulfon (mg/kg)	Thiacloprid (mg/kg)	Azoxystrobin (mg/kg)	Tebuconazol (mg/kg)
OÖ	Laakirchen	14061206-001	06.06.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,07
	Moosdorf	14042577-001	März, April 2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Pasching	14056338-001	07.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14056344-015	07.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14056344-019	07.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Roitham	14067632-001	07.06.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,12	n.n.
	Ruppersthal	14067626-001	22.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	St. Peter	14094314-001	28.08.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Traun	14056344-023	07.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
14056344-027		07.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
ST	Altenmarkt	14081517-001	03.08.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Fernitz	14059630-010	13.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Friedberg	14066437-005	24.-26.6.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Murfeld	14058356-017	2.-8.5.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14058356-018	6.-27.4.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
T	Grins	14065682-001	30.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Stanz	14058792-001	06.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.	n.n.
		14058792-008	21.05.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
V	Klaus	14067637-005	18.-23.6.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
W	Wien	14050223-006	22./23.4.2014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tabelle 3.53: Bienenbrotproben – Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen bei Vergiftungsverdacht im Frühjahr-Sommer 2014 (n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unter Bestimmungsgrenze). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Bundesland	Standgemeinde	Poolung	Clothianidin (mg/kg)	Imidacloprid (mg/kg)	Thiamethoxam (mg/kg)	Fipronil (mg/kg)	Fipronilsulfon (mg/kg)	Thiacloprid (mg/kg)	tau-Fluvalinat (mg/kg)	Tebuconazol (mg/kg)	
B	Deutsch Jahrdorf	14032179-024	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
NÖ	Hofamt Priel	14050213-008	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Kapellen	14037562-022	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Klosterneuburg	14057642-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Nußdorf	14044808-011	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Thaya	14074501-008	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
OÖ	Eberstallzell	14056910-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.	
	Moosdorf	14042577-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Pasching	14056338-004	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
		14056344-025	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
		14056344-026	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	
	St. Peter	14094314-011	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	1,2	n.n.	
	Traun	14056344-024	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14056344-028	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
ST	Altenmarkt	14081517-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	Friedberg	14066437-004	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
W	Wien	14050223-007	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	

Tabelle 3.54: Höschenpollenproben – Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen bei Vergiftungsverdacht im Frühjahr-Sommer 2014 (n.n. = nicht nachweisbar). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) keine weiteren Analyten namentlich angeführt, da keine in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Bundesland	Stand-gemeinde/ Stand	Probe Nr.	Clothia-nidin (mg/kg)	Imida-cloprid (mg/kg)	Thiame-thoxam (mg/kg)	Fipronil (mg/kg)	Fipronil-sulfon (mg/kg)	*Sonstige Analyten (Pflanzenschutz-mittel, Biozide, Tierarzneimittel) (mg/kg)
T	Grins- Stand 1	14079653-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Stanz- Stand 3	14058792-003	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14058792-004	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14058792-006	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14058792-007	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		14058792-009	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

* (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45)

3c.3.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2014

Im Spätsommer bis Herbst (September, Oktober) 2014 meldeten 10 Betriebe aus 6 Bundesländern für 11 Bienenstände Völkerverluste (= abgestorbene Völker) und Bienenschäden (= geschwächte Völker) mit Vergiftungsverdacht (Tabelle 3.55). Auf diesen Bienenständen waren von insgesamt 406 eingewinterten Bienenvölkern bis Ende Oktober 2014 schon 292 Völker (= 72%) abgestorben. Die Verlustraten auf den Einzelständen schwankten zwischen 0% und 100%. Eine Meldung (Steiermark) betraf ausschließlich geschwächte Völker, deren Überwinterungsfähigkeit zweifelhaft war.

Tabelle 3.55: Gemeldete Fälle mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer bis Herbst 2014: Anzahl betroffener Betriebe, Stände, Völker und Volkszustand.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker % tot
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	
K	1*	1*	104	77	10	17	74
NÖ	3	3	25	7	1	17	28
OÖ	3	4	204	186	18	0	91
ST	1	1	24	0	24	0	0
T	1	1	31	5	9	17	16
V	1	1	18	17	1	0	94
SUMME	10	11	406	292	63	51	72

Rückstandsanalytisch untersucht: 9 Stände (*Von diesem Betrieb wurden nach der Meldung keine Proben eingeschickt!, 1 Stand Varroose).

3c.3.3.1 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2014

Die Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen in Fällen mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer bis Herbst 2014 sind in Tabelle 3.56 zusammengefasst.

Amerikanische Faulbrut war in keiner Brutprobe nachweisbar.

Bei den 4 untersuchbaren Bienenproben lag der Varroabefall zwischen 0% und 20%. Nosema-sporen waren in einer Probe nachweisbar, eine Artdifferenzierung mittels PCR wurde nicht durchgeführt.

Bei der Mehrzahl der Betriebe und Stände wurde ein hoher Varroabefall in der Restbrut der abgestorbenen Völker festgestellt – vielfach mit Mehrfachbefall, der vor allem bei hoher Varroabelastung auftritt. Die höchsten Werte und das Maximum von 64% wurden in dem Betrieb mit den höchsten Völkerausfällen ermittelt. Dies ist ein klares Indiz dafür, dass keine oder unzureichend wirksame Maßnahmen zur Varroabekämpfung nach Trachtschluss durchgeführt wurden.

Auch die von den ImkerInnen beobachteten Symptome an den Völkern (zum Beispiel: keine Bienen im Stock; totaler Zusammenbruch des Volkes; leere Bienenbeuten; kahl geflogen zur Zeit der Blüte der Begrünungen Senf, Phacelia; starke Räuberei) decken sich mit diesem Befund.

Ausnahmen mit niedrigen Völkerverlusten sind je ein Betrieb aus Niederösterreich (8 Völker am Stand, 1 Volk tot), wo in den untersuchten Restbrutwaben kein Varroabefall nachweisbar war, bzw. ein Betrieb aus Tirol (31 Völker am Stand, 5 Völker tot, 9 Völker geschwächt), bei dem in der untersuchten Bienenprobe kein Varroabefall nachweisbar war. Bei diesen beiden Betrieben hat offenbar die durchgeführte Varroabekämpfung nach Trachtschluss gewirkt. Möglicherweise waren die betroffenen Völker zum Zeitpunkt der Behandlung aber bereits zu stark geschädigt, sodass sie – trotz entsprechenden Behandlungserfolges – im Herbst abgestorben sind. Die Ausfallsrate von 12% bzw. 16% auf diesen zwei Ständen im Herbst vor der Einwinterung könnte auch durch Königinnenverlust infolge der durchgeführten Ameisensäureanwendung mit verursacht worden sein, doch liegen zu diesem Punkt keine Angaben vor.

3c.3.3.2 Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2014

Aus dieser Periode wurden von 9 Ständen 12 Proben (4 Bienen-, 8 Bienenbrotproben) auf Rückstände untersucht.

Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar. Dies gilt auch für die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy- und Olefinmetabolit) und Clothianidin (TZMU, TZNG).

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) waren nachweisbar: Thiacloprid (1 Bienen-, 4 Bienenbrotproben), Biphenyl (4 Bienenbrotproben), Cyprodinil (1 Bienenprobe), tau-Fluvalinat (3 Bienenbrotproben), Piperonylbutoxid (1 Bienenbrotprobe).

Die Abbildung 3.73 zeigt ein Beispiel für die vor Ort beobachteten Symptome.

Die Detailergebnisse der Rückstandsuntersuchungen nach Matrix und Bundesland sind in der Tabelle 3.57 aufgeschlüsselt.

Tabelle 3.56: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2014 (n.u. = nicht untersucht).

Bundesland	Standgemeinde	Material	LISA Nr.	Amerikanische Faulbrut	Va-Brut % (50 untersuchte Zellen)	Va-Bienen % (100 untersuchte Bienen)	Va-Mehrfachbefall	Nosema spp. (lichtmikroskopisch)	
NÖ	Göllersdorf	Bienen	15039005-001	/	/	2	/	neg	
			15039005-002	/	/	n.u., zu wenig Bienen			
	Pfaffenschlag	Bienen	14125470-001	/	/	1	/	neg	
			Brut	14125470-002	neg	0	/	n.u.	/
				14125470-003	neg	0	/	n.u.	/
	Strengberg	Brut	14125453-001	/	20	/	ja	/	
			14125453-002	/	30	/	ja	/	
	OÖ	Gaspolts-hofen	Brut	14128331-021	neg	8	/	ja	/
14128331-022				neg	6	/	nein	/	
14128331-023				neg	50	/	ja	/	
14128331-024				neg	22	/	ja	/	
14128331-025				neg	18	/	ja	/	
14128331-026				neg	28	/	ja	/	
14128331-027				neg	40	/	ja	/	
14128331-028				neg	22	/	ja	/	
Meggenhofen		Brut	14128331-001	neg	0	/	n.u.	/	
			14128331-002	neg	28	/	ja	/	
			14128331-003	neg	37	/	ja	/	
			14128331-004	neg	20	/	ja	/	
			14128331-005	neg	33	/	ja	/	
Unterberg-ham		Brut	14128331-011	neg	64	/	ja	/	
			14128331-012	neg	26	/	ja	/	
			14128331-013	neg	30	/	ja	/	
			14128331-014	neg	44	/	ja	/	
			14128331-015	neg	38	/	ja	/	
Pollham		Bienen	14124842-001	/	/	20	/	pos	
		Brut	14124842-002	/	32	/	n.u.	/	
			14124842-003	neg	10	/	n.u.	/	
St. Marien		Bienen	15034462-001	/	/	1	/	n.u. – zu wenig Bienen	
ST		Lannach	Bienen	14102632-001	/	/	n.u., zu wenig Bienen		
T	Aurach	Bienen	14098080-001	/	/	0	/	neg	
		Brut	14098080-002	neg	/	/	/	/	



Abbildung 3.73: Bienenschaden 29.9.2014 St. Marien (OÖ). Ergebnis Rückstandsuntersuchung: Thiacloprid positiv (Bienen: < BG, Bienenbrot: 0,076 mg/kg) (Eigenfoto: ©Imker Karan).

Tabelle 3.57: Bienen- und Bienenbrotproben – Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen in Vergiftungsverdachtsfällen im Spätsommer/Herbst 2014 (n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unter Bestimmungsgrenze). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Bundesland	Standgemeinde	Material	Poolung	Clothianidin (mg/kg)	Imidacloprid (mg/kg)	Thiamethoxam (mg/kg)	Fipronil (mg/kg)	Fipronilsulfon (mg/kg)	Thiacloprid (mg/kg)	Biphenyl (mg/kg)	Cyprodinil (mg/kg)	tau-Fluvalinat (mg/kg)	Piperonylbutoxid (mg/kg)
NÖ	Göllersdorf	Bienen	15039005-003	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	Pfaffenschlag	Bienen	14125470-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		Bienenbrot	14125470-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0028	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.
OÖ	Gaspolshofen	Bienenbrot	14128331-057	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	0,03	n.n.
	Meggenhofen	Bienenbrot	14128331-058	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.
			14128331-059	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	0,04	n.n.
	Pollham	Bienenbrot	14124842-004	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0027	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	St. Marien	Bienen	15034462-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		Bienenbrot	15034462-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,076	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
ST	Lannach	Bienenbrot	14102632-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,005	0,02	n.n.	2,5	0,03
T	Aurach	Bienen	14098080-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	n.n.
V	Dornbirn	Bienenbrot	15024458-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

3c.3.4 Völkerverluste und Bienenschäden mit Frevelverdacht im Jahr 2014

Der Begriff „Bienenfrevel“ bezeichnet eine absichtliche Schädigung von Bienenvölkern (rechtlich = boshafte Sachbeschädigung). In der Berichtsperiode 2014 wurden uns von 4 Betrieben (5 Ständen) aus den Bundesländern Steiermark, Wien, Niederösterreich und Tirol Bienenschäden und Völkerverluste mit Verdacht auf Bienenfrevel gemeldet (2 Stände für die Überwinterungsperiode 2013/2014, 3 Stände für das Frühjahr 2014, Tabelle 3.58).

Von den insgesamt 57 auf den Ständen befindlichen Völkern waren 14 nicht betroffen, 12 geschwächt und 31 tot. Drei ImkerInnen hatten nach dem Vorfall Anzeige bei der Polizei erstattet – der steirische Betrieb sowohl für die Ausfälle der Überwinterungsperiode 2013/2014 als auch für die Periode Frühjahr bis Sommer 2014. Da bei den angezeigten Fällen in der Steiermark und in Niederösterreich seitens der Behörden keine eigenen Rückstandsuntersuchungen beauftragt worden waren, wurden diese beiden Fälle mit Zustimmung des Projekt-Auftraggebers in das Projekt „Zukunft Biene“ zur Untersuchung aufgenommen.

Der aus Tirol gemeldete Fall wurde im Projekt nicht weiter untersucht, da er vom zuständigen Landeskriminalamt intensiv bearbeitet und auch rückstandsanalytisch abgeklärt wurde.

Tabelle 3.58: Gemeldete Völkerverluste und Bienenschäden mit Frevelverdacht im Jahr 2014 (W = Winterverlust, FS = Frühjahr – Sommer 2014).

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Anzahl Völker			
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal
ST	1	1a (W)	10	2	0	8
		1b (FS)	8	2	0	6
W*	1	1 (W)	4	4	0	0
NÖ	1	1 (FS)	23	23	0	0
T**	1	1 (FS)	12	0	12	0
Summe	4	5	57	31	12	14

*Rückstandsanalytisch nicht untersucht, da Varroose.

**Dieser Fall wurde im Projekt nicht weiter untersucht, sondern vom zuständigen Landeskriminalamt abgeklärt.

3c.3.4.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Frevelverdacht

Bei dem aus der Steiermark gemeldeten Frevelverdachtsfall war sowohl während der Überwinterung 2013/14 als auch im Frühjahr 2014 jeweils ein Teil (20% bzw. 25%) der am Stand befindlichen Völker abgestorben.

Im Gegensatz dazu waren bei dem Frevelverdachtsfall in Niederösterreich zur Zeit der Kirschblüte alle 23, jeweils in einer Einheit sitzenden Völker, von einem Tag auf den anderen komplett abgestorben. Vor dem Vorfall waren die Völker stark an Bienen und Brut, verfügten über gute Futter- und Pollenvorräte und hatten eingehängte Mittelwände ausgebaut. Teilweise war im Unterboden schon reichlich Unterbau – zum Teil mit verdeckelter Drohnenbrut – vorhanden (Abbildung 3.74). Nach dem Vorfall waren alle Bienen in den Stöcken tot und der gesamte hohe

Unterboden gefüllt mit toten Bienen. Diese quollen teilweise auch beim Flugloch heraus und waren am Flugbrett zu finden (Abbildung 3.75).

Von den abgestorbenen Bienenvölkern wurden Bienen- und Wabenproben für Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen entnommen, im Frevelverdachtsfall in NÖ zusätzlich Wabenproben für einen Kleinkäfig-Biotest auf bienenschädliche Stoffe.



Abbildung 3.74: Blick in ein abgestorbenes Volk (linkes Bild). Brutwabe mit geschlossener, gesunder Brutanlage mit Drohnen-Unterbau und reichlich Futter aus einem abgestorbenen Volk (rechtes Bild; Foto J. Mayr, 2014, ©AGES).



Abbildung 3.75: Blick in den hohen Unterboden eines abgestorbenen Volkes nach Entnahme des Fluglochrechens (linkes Bild) bzw. von oben nach Entnahme einiger Waben (rechtes Bild) (Foto: J. Mayr, 2014, ©AGES).

3c.3.4.2 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Frevelverdachtsfällen 2014

Der Frevelverdachtsfall aus Wien wurde nach der Gesundheitsuntersuchung nicht weiter untersucht, da diese Varroose (14% von Varroa befallene Brutzellen mit Mehrfachbefall in der Restbrut der abgestorbenen Wintervölker) als wahrscheinliche Ursache der Völkerverluste ergeben hatte und dadurch der Frevelverdacht entkräftet werden konnte.

Bei dem aus der Steiermark gemeldeten Fall war für den Frevelverdachtsfall während der Überwinterung 2013/14 nur eine Bienenprobe verfügbar. An dieser verlief die Untersuchung auf Nosemasporen negativ. Für den erneut gemeldeten Frevelverdachtsfall im Frühjahr 2014 konnte an zwei der vier untersuchten Brutproben ein Varroabefall von 2% bzw. von 4% ermittelt werden. Amerikanische Faulbrut war an den Brutstücken nicht nachweisbar.

Im Frevelverdachtsfall aus Niederösterreich war Amerikanische Faulbrut nicht nachweisbar, wie die am Tag der Entdeckung des Schadens im Auftrag des Amtstierarztes erfolgte Durchsicht der abgestorbenen Völker vor Ort durch den Bienensachverständigen zeigte. In den 5 untersuchten Bienenproben waren keine Varroamilben nachweisbar. Nosemasporen waren in 4 der 5 untersuchten Bienenproben nachweisbar. In zwei der fünf über den Bienensachverständigen eingesandten und untersuchten Brutproben war ein Varroabefall von 2% bzw. 6% nachweisbar. Die anderen 3 Brutproben waren ohne Varroabefall. Diese Befunde erklären somit keinesfalls das plötzliche Absterben aller Völker dieses Bienenstandes im Frühjahr 2014.

Der im Rahmen des Projektes als Frevelverdacht gemeldete Fall aus Tirol wurde von den dort zuständigen Polizeibehörden abgeklärt und bestätigt und wird hier nicht weiter berichtet, da uns dazu keine weiteren Details bekanntgegeben wurden.

3c.3.4.3 Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Frevelverdachtsfällen 2014

In den zwei aus dem Frevelverdachtsfall in der Steiermark untersuchten Bienenproben waren keine Rückstände nachweisbar (Tabelle 3.59).

Im Frevelverdachtsfall aus Niederösterreich hatte ein an der AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz gleich im Anschluss an den Schadensfall durchgeführter Biotest mit Wabenstücken aus abgestorbenen Völkern den klaren Nachweis von bienentoxischen Wirkstoffen auf den Waben erbracht, was zum Absterben der Testbienen führte (Tabelle 3.60-Test 1, 2, 3). Bei den 3 untersuchten Wabenproben waren Rückstände von lambda-Cyhalothrin (1 Probe: 0,01 mg/kg), Dichlorvos (zwei Proben: 3 mg/kg, 1 mg/kg), Piperonylbutoxid (zwei Proben: 0,03 mg/kg, 0,01 mg/kg) und von tau-Fluvalinat (2 Proben: jeweils 0,07 mg/kg) nachweisbar (Tabelle 3.59).

Die Rückstandsuntersuchungen von je einer Bienen- und Bienenbrot Sammelprobe (gepoolt jeweils aus 5 Bienen- bzw. 5 Bienenbrotproben verschiedener Völker) des betroffenen Standes verliefen negativ.

Das plötzliche und unerwartete Absterben aller Bienenvölker des betroffenen Bienenstandes ist aufgrund dieses Ergebnisses mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf die Einbringung der nachgewiesenen bienentoxischen Wirkstoffe lambda-Cyhalothrin und Dichlorvos in die Bienenvölker zurückzuführen. Der nachgewiesene Synergist Piperonylbutoxid steht wahrscheinlich mit dem Einsatz eines pyrethroidhaltigen Präparates in Verbindung.

Tabelle 3.59: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen in Fällen mit Frevelverdacht 2014 (n.n. = nicht nachweisbar, *Biotest-Kleinkäfigversuch, W = Winterverlust, FS = Völkerverluste Frühjahr – Sommer 2014). Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Bundesland	Betrieb	Stände	Material	Probe Nr.	Anzahl Subproben	Ergebnis Rückstandsanalyse (mg/kg)
ST	1	1-1-WV	Bienen	14059630-001	1	n.n.
		1-1-FS	Bienen	14059630-010	2	n.n.
W	1	1	Brut, Bienen, Bienenbrot	14023205	Keine Rückstandsuntersuchung, da hoher Varroabefall von 14 % (z. T. Mehrfachbefall) in Restbrut aus totem Volk	
NÖ	1	1	Bienen	14037562-021	5	n.n.
			Bienenbrot	14037562-022	5	n.n.
			Wabe E1	14037562-020	1	n.n.*
			Wabe	14037562-019	1	Dichlorvos: 1,0 Piperonylbutoxid: 0,01 tau-Fluvalinat: 0,07
			Wabe	14037562-017	1	lambda-Cyhalothrin: 0,01 Dichlorvos: 3,0 Piperonylbutoxid: 0,03 tau-Fluvalinat: 0,07
T	1	1	Keine AGES-Untersuchung, da Fall in Tirol von der zuständigen kriminaltechnischen Untersuchungstelle untersucht wurde!			

3c.3.4.4 Biotest kontaminierter Waben im Kleinkäfigversuch

Mit dem Kleinkäfigversuch sollte unabhängig von und zusätzlich zu der Rückstandsuntersuchung geprüft werden, ob sich auf den Waben aus dem geschädigten Bestand bienengefährliche Wirkstoffe befinden oder nicht. Diese Frage ist hinsichtlich der Möglichkeit zur Weiterverwendung der Waben im Betrieb und der erforderlichen Reinigungs- und Dekontaminationsmaßnahmen von entscheidender Bedeutung.

Zur Durchführung der einzelnen Tests wurden 3 Wabenstücke mit reichlich Futter- und Polleninhalte aus Volk 17 des geschädigten Standes (= Testgruppe, 3 Käfige) und 3 Stücke von Kontrollwaben mit reichlich Futter- und Polleninhalte aus dem Bestand der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES (= Kontrollgruppe, 3 Käfige) in kleine Holzkäfige (eine Seite verglast, eine Seite vergittert, Abbildung 3.76) eingebracht. In der Test- und der Kontrollgruppe wurden pro Käfig 10 Bienen eingesetzt. Diese stammten vom Wiener Bienenstand der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz und wurden von Brutwaben entnommen. Anschließend wurden die Käfige in einen Brutschrank (Temperatur 34-35°C, Dunkelheit) überführt. Die Tests wurden drei Mal unter Verwendung derselben Wabenstücke mit frischen Bienen wiederholt. Diese stammten immer aus dem gleichen Volk der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz.

Die Gesamtversuchsdauer pro Serie war bis zum Tod aller Bienen in der Testgruppe (Test 1 und 2). Bei Test 3 wurden die Beobachtungen 7 Tage darüber hinaus durchgeführt, um zu sehen, wie lange die Kontrollgruppe ohne größere Mortalität durchhalten würde.



Abbildung 3.76: Biotest-Kleinkäfigversuch 2014 nach Bienenfrevell: Käfig mit Testwabenstück und 10 Testbienen aus AGES-Bestand (Foto: R. Moosbeckhofer, ©AGES).

In Tabelle 3.60 (Test 1, Test 2, Test 3) sind die Ergebnisse zusammengefasst. Angegeben ist jeweils die Anzahl lebender Bienen pro Testgruppe, Käfig und Kontrolltermin. In den Käfigen mit den Wabenstücken aus dem abgestorbenen Volk 17 waren alle eingesetzten Bienen in den Tests 1 und 2 bereits nach einem Tag abgestorben, in den Kontrollkäfigen nicht. Im Test 3 war dies im Käfig „E1“ nach dem 2. Tag, in den Käfigen „E2“ und „E3“ zwischen dem 2. und 7. Tag der Fall. Auch im Test 3 war klar eine bienenschädigende Wirkung der Waben aus Volk 17 nachweisbar, verglichen mit den Kontrollkäfigen mit Waben aus AGES-Bestand. Die Vergiftungssymptome äußerten sich in Verhaltensstörungen (Zittern, Torkeln, Bewegungsunfähigkeit, Absturz von den Waben) und endeten mit dem Tod.

Tabelle 3.60: Test 1 (Testgruppe = Käfig mit Wabenstücken aus Vergiftungsverdacht, Kontrollgruppe = Käfig mit neutralen Wabenstücken aus AGES-Bestand). *Wahrscheinlicher Grund für die 2 toten Bienen in Kontrollgruppe: Futterhonig ausgeronnen, dadurch Tiere zum Teil stark verklebt.

Test 1		Anzahl lebender Bienen		
Datum		23.04.2014		24.04.2014
Uhrzeit		14:40	16:30	07:40
Test- Gruppe	E1	10	10	0
	E2	10	10	0
	E3	10	10	0
Kontroll- Gruppe	K1	10	10	10
	K2	10	10	10
	K3*	10	10	8*

Tabelle 3.60: Test 2 (Testgruppe = Käfig mit Wabenstücken aus Vergiftungsverdacht, Kontrollgruppe = Käfig mit neutralen Wabenstücken aus AGES-Bestand). *Zahlen in Klammer = Anzahl lebender Tiere mit Vergiftungssymptomen.

Test 2		Anzahl lebender Bienen				
Datum		24.04.2014			25.04.2014	28.04.2014
Uhrzeit		10:30	14:10	16:30	08:10	8:00
Test-Gruppe	E1	10	1 (1)	0	0	0
	E2	10	10	9 (1*)	0	0
	E3	10	10	7 (3*)	0	0
Kontroll-Gruppe	K1	10	10	10	10	2
	K2	10	10	10	10	2
	K3	10	10	10	10	0

Tabelle 3.60: Test 3 (Testgruppe = Käfig mit Wabenstücken aus Vergiftungsverdacht, Kontrollgruppe = Käfig mit neutralen Wabenstücken aus AGES-Bestand).

Test 3		Anzahl lebender Bienen								
Datum		28.04.2014		29.04.2014		30.04.2014		05.05.2014	08.05.2014	12.05.2014
Uhrzeit		13:30	16:20	08:00	15:30	08:00	16:00	16:20	08:15	14:00
Test-Gruppe	E1	10	10	7	1	0	0	0	0	0
	E2	10	10	10	10	10	9	0	0	0
	E3	10	10	10	10	10	10	0	0	0
Kontroll-Gruppe	K1	10	9 ^B	9	9	9	9	9	9	9
	K2	10	10	10	10	10	10	9	9	9
	K3	10	10	10	10	10	10	10	10	10

^B Eine Biene der Kontrollgruppe hat beim Füllen des Käfigs gestochen und ist danach im Käfig gestorben.

3c 3.5 Gemeldete Fälle von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht 2015

3c 3.5.1 Überwinterungsperiode 2014/2015

Von 9 Imkereibetrieben wurde für 14 Bienenstände Vergiftungsverdacht aus den Bundesländern Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark und Kärnten gemeldet (siehe Tabelle 3.61). Von den 278 auf diesen Ständen befindlichen Völkern waren im Verlauf der Überwinterung 180 Völker abgestorben (= 64,7%). 61 Völker waren bei der Auswinterung schwach und nur 37 von normaler Volksstärke. Von dem mit 4 Ständen am schwersten betroffenen Betrieb in Kärnten war kein geeignetes Probenmaterial für Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen verfügbar, daher konnten in diesem Fall keine Untersuchungen durchgeführt werden.

Tabelle 3.61: Gemeldete Fälle von Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht in der Überwinterungsperiode 2014/15.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker %
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	tot
B	1	1	15	10	0	5	66,7
NÖ	2	4	69	42	14	13	60,9
OÖ	4	4	85	46	37	2	54,1
ST	1	1	5	5	0	0	100,0
K*	1	4	104	77	10	17	74,0
SUMME	9**	14**	278	180	61	37	64,7

* kein geeignetes Probenmaterial für Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen verfügbar

** davon rückstandsanalytisch untersucht: 8 Betriebe (10 Stände).

3c 3.5.1.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2014/2015

Die Symptome abgestorbener Völker (siehe Abbildung 3.77) ähnelten meist wieder jenen aus den Vorjahren für diese Periode (Vergleiche Abschnitt 3c 3.1.1).



Abbildung 3.77: Überwinterung 2014/15 – abgestorbenes Wintervolk: Wintertraube mit wenigen toten Bienen und vereinzelt verdeckelten Brutzellen, geringe Futtermittelvorräte auf Brutwaben. Rückstandsanalyse: Bienen und Bienenbrot negativ, das heißt keine Rückstände nachweisbar, Proben Nr. 15033820-006 und 15033820-007 (Eigenfoto: ©Imker).

Eine Ausnahme bildete der in Abbildung 3.78 dargestellte Fall mit völlig anderer Symptomatik. Hier waren von ursprünglich 30 Völkern am 3.12.2014 drei Völker abgestorben und die anderen 27 waren schwach. Aufgrund des gleichzeitigen und unvermittelten Auftretens der beobachteten Symptome an den Völkern kommt auch ein Bienenfrevell als mögliche Ursache dieses Schadens in Betracht.



Bienenschaden
Aistersheim (OÖ)
3.12.2014:
30 Standvölker: 3 tot,
27 geschwächt
Rückstandsuntersuchung:
Bienen
Cypermethrin: 0,01mg/kg
Piperonylbutoxid: 10 mg/kg
Cyprodinil: 0,01 mg/kg
Bienenbrot:
Biphenyl: 0,02 mg/kg
Piperonylbutoxid: 0,05 mg/kg
Poolnummer: 14128331-060

Abbildung 3.78: Geschädigte Wintervölker 2014/15. Sehr hoher Bientotenfall im Bodenbrett (Foto: Josef Mayr, ©AGES).

3c 3.5.1.2 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2014/2015

Bienenproben

Der Varroabefall an den Bienen lag in den 18 untersuchten Proben zwischen 0% und maximal 12% (siehe Tabelle 3.62).

Nosemasporen waren lichtmikroskopisch in 8 der insgesamt 21 untersuchten Proben nachweisbar. Zwei positive Proben wurden hinsichtlich der Art nicht weiter differenziert. Für die restlichen 6 positiven Proben ergab die nachfolgende PCR-Untersuchung einen positiven Nachweis für *Nosema ceranae*. *Nosema apis* war nicht nachweisbar (Tabelle 3.62).

Tabelle 3.62: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Bienenproben aus Winterverlusten 2014/15 mit Vergiftungsverdacht (n.u. = nicht untersucht, / = keine PCR da *Nosema* spp. negativ, n.n. = nicht nachweisbar, pos = positiv, neg = negativ, Va-Bienen% = Varroabefall Bienen in Prozent).

Bundesland	Stand	Material	LISA Nr.	Va-Bienen % (100 untersuchte Bienen)	<i>Nosema</i> spp. (Lichtmikroskop)	<i>Nosema ceranae</i> (PCR)	<i>Nosema apis</i> (PCR)
B	Hei	Bienen	15034284-001	n.u., da zu wenig Bienen			
			15034284-002	5	neg	/	/
NÖ	Groß	Bienen	15027044-001	12	neg	/	/
	Insel		15027044-005	7	pos	pos	neg
	Neu1		15027044-009	7	neg	/	/
	Stand 2		15040482-002	/	neg	/	/
			15040482-003	2	neg	/	/
OÖ	Haus	Bienen	15036400-002	0	neg	/	/
	Biehü	Bienen	15016935-003	n.u., da zu wenig Bienen	neg	/	/
	Hof	Bienen	14128331-043	0	pos	pos	neg
			14128331-044	0	pos	n.u.	n.u.
			14128331-045	3	pos	pos	neg
			14128331-046	1	pos	n.u.	n.u.
			14128331-047	8	neg	/	/
			14128331-048	0	pos	pos	neg
			14128331-049	1	pos	pos	neg
			14128331-050	8	neg	/	/
	Stand 1	Bienen	15022549-002	3	n.u.	/	/
			15022549-003	5	pos	pos	neg
			15022549-004	n.u., da zu wenig Bienen			
			15022549-005	n.u., da zu wenig Bienen			
			15022549-011	11	neg	/	/
15022549-012			2	neg	/	/	
15022549-016			n.u., da zu wenig Bienen				
ST	Sern	Bienen	15033820-001	n.u., da zu wenig Bienen	neg	/	/
			15033820-002	n.u., da zu wenig Bienen	neg	/	/

Brutproben

Tabelle 3.63 zeigt das Ergebnis der untersuchten Brutproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2014/15. Die Proben stammten aus 3 Bundesländern (B, OÖ, ST) von 7 Bienenständen. Amerikanische Faulbrut war in keiner der 10 untersuchten Brutproben nachweisbar. In den 11 auswertbaren Brutproben (Anzahl Brutzellen \geq 50) lag der Prozentsatz varroabefallener Brutzellen zwischen 0% und 60%. In vielen Fällen war ein Mehrfachbefall durch mehrere Muttermilben feststellbar.

Tabelle 3.63: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Brutproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2014/15 (W = Winterverlust, AFB = Amerikanische Faulbrut, neg = negativ, Va-Brutbefall = Varroa-Brutbefall, / = nicht untersucht, n.a. = nicht auswertbar).

Periode	Bundesland	Stand	Material	LISA Nr.	AFB	Va-Brut % (50 untersuchte Zellen)	Varroa-Mehrfachbefall
W	B	Hei	Brut	15034284-003	neg	n.a., da zuwenig Brutzellen	
	NÖ	St 2	Brut	15040482-004	/	n.a., da zuwenig Brutzellen	
				15040482-005	/	16	ja
				15040482-006	/	26	ja
	OÖ	Hau	Brut	15036400-001	neg	60	ja
		Biehü	Brut	15016935-001	neg	18	ja
		Hof	Brut	14128331-038	neg	0	nein
				14128331-039	neg	10	ja
				14128331-040	neg	4	nein
				14128331-041	neg	6	nein
		14128331-042	neg	2	nein		
Sta 1	Brut	15022549-010	neg	18	ja		
ST	Ser	Brut	15033820-003	neg	6	nein	

3c.3.5.1.3 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2014/2015

Von 8 Imkern mit 10 Ständen wurden 20 Sammelproben (11 Bienen, 9 Bienenbrotproben), die aus 50 Einzelproben gebildet worden waren, rückstandsanalytisch untersucht.

Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar (Tabelle 3.64). TZNG, ein Metabolit von Clothianidin, war in einer Bienenprobe nachweisbar.

Aus der Sammelgruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) konnten Thiacloprid (1 Probe), Biphenyl (4 Proben), Cypermethrin (1 Probe), Cyprodinil (5 Proben), tau-Fluvalinat (4 Proben) und Piperonylbutoxid (2 Proben) nachgewiesen werden.

Besonders auffällig ist das Ergebnis von Probe Nr. 14128331-060, die aus einem Bienenstand mit auffällig hohem Bientotenfall bei allen Völkern des Standes stammte (siehe Abbildung 3.78). Die hohe Konzentration des Synergisten Piperonylbutoxid (10 mg/kg) – in Kombination mit

Cypermethrin (0,01mg/kg) – könnte in diesem Fall möglicherweise auf einen Bienenfrevell zurückzuführen sein. Die anderen auf diesem Bienenstand in Bienen und Bienenbrot nachgewiesenen Wirkstoffe (Biphenyl, Cyprodinil, tau-Fluvalinat) dürften beim aufgetretenen Bienen-schaden eine eher untergeordnete Rolle gespielt haben.

Tabelle 3.64: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Winterverlusten (W) mit Vergiftungsverdacht 2014/15 (n.n. = nicht nachweisbar; Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Periode	Bundesland	Material	Poolung	Clothianidin	Imidacloprid	Thiamethoxam	Fipronil (mg/kg)	Fipronilsulfon	TZNG	Thiacloprid	Biphenyl	Cypermethrin	Cyprodinil	tau-Fluvalinat	Piperonylbutoxid		
W	B	Bienen	15034284-006	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.		
		Bienenbrot	15034284-004	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
	NÖ	Bienen	15027044-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
			15027044-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,04	n.n.	n.n.	
			15027044-009	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	n.n.
			15040482-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	n.n.
			15040482-003	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		Bienenbrot	15027044-013	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15027044-014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15027044-015	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0059	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	15040482-007	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,08	n.n.		
	OÖ	Bienen	14128331-060	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	0,01	n.n.	10,00	
			15016935-003	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	
			15022549-017	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
			15036400-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,15	n.n.
		Bienenbrot	14128331-061	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	0,05
			15022549-018	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,14	n.n.
			15036400-004	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,40	n.n.
	ST	Bienen	15033820-006	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0018	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
		Bienenbrot	15033820-007	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	

3c.3.5.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2015

Für den Zeitraum Frühjahr bis Sommer 2015 wurden von 14 Imkereibetrieben aus den Bundesländern Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark und Vorarlberg für insgesamt 14 Bienenstände Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet (Tabelle 3.65). Da einer dieser Betriebe in 2 Bundesländern betroffen war, ist er sowohl in Niederösterreich als auch in Oberösterreich in der Tabelle als Betrieb angeführt.

Nicht in die Meldestatistik aufgenommen wurde ein Fall aus Vorarlberg, bei dem für einen Bienenstand mit insgesamt nur einem Standvolk eine Schädigung desselben gemeldet worden war und bei dem die übermittelte Bienenmenge für Untersuchungen nicht ausreichte.

Zwischen den Bundesländern, aus denen Meldungen einlangten, zeigten sich Unterschiede in der Zahl der Vergiftungsverdachtsmeldungen (Tabelle 3.65). Die größte Zahl betroffener Bienenstände wurde aus Niederösterreich gemeldet. Tote Völker wurden nur von einem der 14 Betriebe gemeldet (2 von 3 Völkern am Stand waren abgestorben). In den anderen Fällen wurde für alle oder einen Teil der Völker eine Schwächung (= Reduktion der Volksstärke) gemeldet.

Tabelle 3.65: Meldungen mit Vergiftungsverdacht im Frühjahr bis Sommer 2015.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker % tot
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	
B	2	2	24	0	24	0	0,0
NÖ	5	5	171	0	171	0	0,0
OÖ	3	3	21	0	13	8	0,0
ST	2	2	16	0	9	7	0,0
V	2	2	3	2	1	0	66,7
SUMME	14*	14	235	2	218	15	0,9

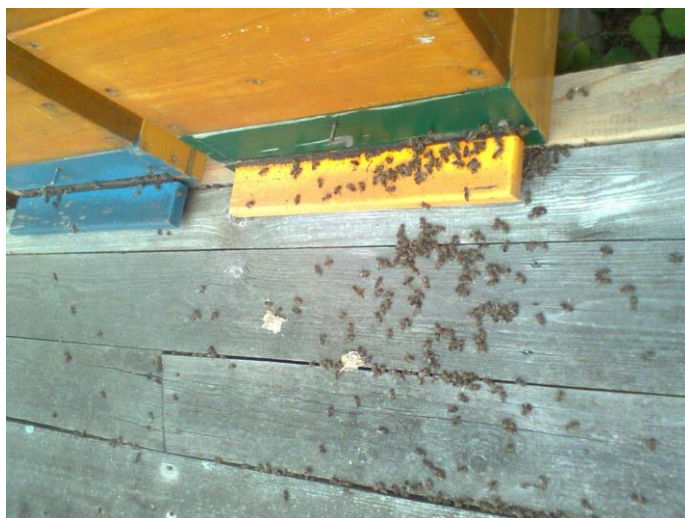
* Da derselbe Betrieb in OÖ und NÖ betroffen war, ist er in beiden Bundesländern als eigener Betrieb angeführt (siehe Text oben).

Bezüglich der vermuteten Vergiftungsursache wurde von den Imkern für die 14 Bienenstände am Fragebogen am häufigsten „Unbekannt“ angekreuzt (7 Nennungen), gefolgt von Pflanzenschutzmaßnahmen bei Getreide (6x), Raps (4x), Mais (2x), Wein (1x), „Sonstige“ (1x). Da pro Bienenstand auch Mehrfachnennungen möglich waren, ist die Zahl der Nennungen höher als die Zahl der Stände. Die ebenfalls im Fragebogen zur Auswahl stehenden Kulturen Forst, Obst und Kürbis wurden in keinem Fall als vermutete Vergiftungsursache angegeben.

3c.3.5.2.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2015

Die Symptome auf den Bienenständen waren wieder ähnlich denen des Vorjahres (Vergleiche Abschnitt 3c.3.2.1).

Die Abbildungen 3.79 bis 3.82 zeigen die auf den Bienenständen aufgetretenen Symptome. Zusätzlich ist das Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen angeführt.



Bienenschaden Pöllau (Stmk):

Beginn: 16.5.2015,
Ende: 20.5.2015
Seehöhe: 700 m
Am Stand: 14 Völker, davon 7
geschwächt, keines tot

Maisanbau im Flugkreis

Ergebnis
Rückstandsuntersuchung:

Bienen

Clothianidin: 0,0094 mg/kg

(Lisa-Nr. 150586628-4),

Bienenbrot

n.n.

(Lisa-Nr. 150586628-5)

Abbildung 3.79: Erhöhter Bientotenfall zur Zeit des Maisanbaues (Eigenfoto: ©Imker).



Totenfall war bis zu 3 m vor dem Flugloch!

Bienenschaden Vorchdorf (OÖ):

4.6.2015

Ergebnis

Rückstandsuntersuchung:

Bienen

Chlorpyrifos-ethyl: 0,01mg/kg

Azoxystrobin: 0,05 mg/kg

Bienenbrot

Thiaclopid: 0,014 mg/kg

tau-Fluvalinat: 0,08 mg/kg

Azoxystrobin: 0,05 mg/kg

(Lisa-Nr. 15064887-001, -005)

Abbildung 3.80: Erhöhter Bientotenfall vor der Flugfront (Eigenfoto: ©Imker).



Bienenschaden Naarn (OÖ):

19.5.2015

Ergebnis

Rückstandsuntersuchung:

Bienen

Fipronil: < BG

Thiaclopid: 0,0026 mg/kg

Bienenbrot

Thiaclopid: 0,014 mg/kg

Pendimethalin: 0,03 mg/kg

tau-Fluvalinat: 0,08 mg/kg

(Lisa-Nr. 15062728-001, -008)

Abbildung 3.81: Geschädigte und tote Bienen im Gras vor dem Flugloch (Eigenfoto: ©Imker).



**Bienenschaden
Mistelbach (NÖ):**

3.5.2015

Ergebnis

Rückstandsuntersuchung:

Bienenbrot

Thiacloprid: 0,0071 mg/kg

tau-Fluvalinat: 0,05 mg/kg

Pendimethalin: 0,02 mg/kg

Biphenyl: 0,02 mg/kg

(Lisa-Nr. 15050001-005)

Abbildung 3.82: Rückgang der Volkstärke im Brut- und Honigraum zur Zeit der Rapsblüte (Fotos: Josef Mayr, ©AGES).

3c.3.5.2.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Frühjahr bis Sommer 2015

Aus dieser Periode wurden von den 14 Bienenständen 29 Proben (14 Bienen-, 9 Bienenbrotproben, 6 Waben- bzw. Mittelwandproben) auf Rückstände untersucht.

Clothianidin (0,0094 mg/kg) und dessen Metaboliten TZNG (0,0063 mg/kg) und TZMU (< BG) waren in einer Bienenprobe aus der Steiermark nachweisbar (siehe Abbildung 3.79). Diese am 16.5.2015 nach Beginn des Bienenschadens entnommene Probe geschädigter Bienen stammte aus einem Gebiet mit Maisanbau im Flugkreis des Bienenstandes. Seitens der über diesen Nachweis in Kenntnis gesetzten zuständigen Landesbehörden konnten – trotz dazu erfolgter Erhebungen im betreffenden Gebiet – keine konkreten Ergebnisse zur Expositionsquelle bzw. zur Expositionsursache erzielt werden. Da das Clothianidin nur in der Bienenprobe, aber nicht in der Bienenbrotprobe gefunden wurde, ist von einer direkten Exposition der sammelnden Bienen auszugehen.

Fipronil war in Spuren unter der Bestimmungsgrenze in einer Bienenprobe aus Oberösterreich nachweisbar. Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar, ebensowenig Fipronilsulfon (= Metabolit von Fipronil) oder der Hydroxy- bzw. Olefinmetabolit von Imidacloprid.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) waren nachweisbar: Thiacloprid in insgesamt 6 Proben (2 Bienen-, 4 Bienenbrotproben), Azoxystrobin in 2 Proben (1 Bienen-, 1 Bienenbrotprobe), Biphenyl in 3 Proben (2 Bienen-, 1 Bienenbrotprobe), Chlorpyrifos-ethyl in 4 Proben (3 Bienen-, 1 Bienenbrotprobe), Cypermethrin in 2 Proben (1 Bienen-, 1 Bienenbrotprobe), Cyfluthrin (1 Bienenprobe), Cyprodinil

(1 Bienenprobe), Demeton-S-methyl (1 Bienenprobe), Dichlorvos (1 Bienenprobe), Esfenvalerat (1 Bienenprobe), Famoxadon (1 Bienenprobe), Fenhexamid in 3 Proben (2 Bienen-, 1 Bienenbrotprobe), Fenoxycarb (1 Bienenprobe), Fenvalerat (1 Bienenprobe), tau-Fluvalinat (5 Bienenbrotproben), Hexythiazox (1 Bienenprobe), Metalaxyl (1 Bienenprobe), Pendimethalin (2 Bienenbrotproben), Piperonylbutoxid (2 Bienenproben), Pirimiphos-ethyl (3 Bienenproben), Pirimiphos-methyl (2 Bienenproben), Pyrimethanil (1 Bienenprobe).

Besonders auffallend ist der hohe Wert von 8 mg/kg an Chlorpyrifos-ethyl in einer Probe toter Bienen aus Vorarlberg, die aus einem Bienenschaden vom 23.5.2015 stammte. Das Gleiche gilt für eine Probe toter Bienen aus Oberösterreich vom 10.6.2015, in der eine Konzentration von 13 mg/kg an Piperonylbutoxid nachweisbar war (siehe Abbildung 3.36). In diesem Fall war Bienenfrevell als Ursache der Völkerverluste vermutet und angezeigt worden.

Die Detailergebnisse der Rückstandsuntersuchungen für Bienen sind in Tabelle 3.66 und für Bienenbrot in Tabelle 3.67 nach Bundesländern aufgeschlüsselt.

Tabelle 3.66: Bienenproben Frühjahr – Sommer 2015: Einzelergebnisse der Rückstandsuntersuchungen (n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unter Bestimmungsgrenze; Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Periode	Land	Material	Poolung	Clothianidin	Imidacloprid	Thiamethoxam	Fipronil	Fipronilsulfon	TZNG	TZMU	Thiacloprid	Azoxystrobin	Biphenyl	Chlorpyrifos-ethyl	Cypermethrin	Cyfluthrin	Cyprodinil	Demeton-S-methyl	Dichlorvos	Esfenvalerat	Famoxadon	Fenhexamid	Fenoxycarb	Fenvalerat	Hexythiazox	Metalaxyl	Piperonylbutoxid	Pirimiphos-ethyl	Pirimiphos-methyl	Pyrimethanil			
FS	B	Bienen	15064941-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.		
	NÖ	Bienen	15052470-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
			15062742-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15062742-003	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15064952-011	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15064952-015	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15066498-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
	OÖ	Bienen	15062728-001	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0026	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
			15064887-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15066503-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	0,02	0,03	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	13	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15074554-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,07	0,03	0,01	n.n.	n.n.
	ST	Bienen	15058628-004	0,0094	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0063	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
			15068714-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	0,01	n.n.
	V	Bienen	15064960-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	8	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,26	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Tabelle 3.67: Bienenbrotproben Frühjahr – Sommer 2015: Einzelergebnisse der Rückstandsuntersuchungen (FS = Frühjahr/Sommer, n.n. = nicht nachweisbar, < BG = unter Bestimmungsgrenze; Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Jahr	Periode	Land	Material	Poolung	Clothianidin	Imidacloprid	Thiamethoxam	Fipronil	Fipronilsulfon	TZNG	TZMU	Thiacloprid	Azoxystrobin	Biphenyl	Chlorpyrifos-ethyl	Cypermethrin	Fenhexamid	tau-Fluvalinat	Pendimethalin			
2015	FS	B	Bienen-brot	15064873-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	0,07	0,47	n.n.			
				15064941-008	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	
		NÖ	Bienen-brot	15050001-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0071	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	0,02	
				15052470-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	
				15062742-002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,09	n.n.
				15064952-012	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
		OÖ	Bienen-brot	15062728-008	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0140	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,08	0,03	
				15064887-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0140	0,05	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,08	n.n.	
		ST	Bienen-brot	15058628-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	

3c.3.5.2.3 Gemeldete Brutschäden mit Vergiftungsverdacht durch kontaminierte Mittelwände im Frühjahr – Sommer 2015

Nach der Mittelwandgabe im April 2015 meldete ein Erwerbsimkereibetrieb einen hohen Brutausfall bis zum Schlupf der Bienen in ursprünglich voll bestifteten Waben bestimmter Mittelwandchargen (Abbildung 3.83). Der Imker vermutete, dass Rückstände in den Mittelwänden (MW) vorhanden wären, die zum Absterben der Brut bzw. zu deren Ausräumung führten. Das von ihm eingesandte Untersuchungsmaterial umfasste Mittelwände unterschiedlicher Chargen (MW-Standardwachs, MW-Problemwachs), sowie ausgebaute Wabenstücke aus betroffenen Völkern. Letztere waren am 26.5.2015 aus den Völkern entnommen worden.

Das Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen der insgesamt 5 untersuchten Sammelproben ergab eine mehrfache Kontamination mit verschiedenen Wirkstoffen (Tabelle 3.68).



Abbildung 3.83: Brutausfall auf einer ursprünglich voll bestifteten, frisch ausgebauten Mittelwand. Die Lücken in der Brutfläche markieren die im Verlauf der Brutentwicklung ausgefallenen Brutzellen (Eigenfoto: ©Imker).

Tabelle 3.68: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen von Wachs- und Mittelwandproben eines Vergiftungsverdachtalles im Frühjahr – Sommer 2015 (MW = Mittelwand, n.n. = nicht nachweisbar). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46; alle Konzentrationsangaben in mg/kg.

Poolung	Material	Imidacloprid	Thiacloprid	Bromopropylat	Biphenyl	lambda Cyhalothrin	Chlorbenzilat	Chlorpyrifos-methyl	Cyhalothrin	DDT p.p	tau-Fluvalinat	Hexythiazox	Lindan	Piperonylbutoxid
15059825-001	MW-Standardwachs	n.n.	n.n.	0,10	0,01	0,02	0,03	n.n.	n.n.	0,01	0,47	n.n.	0,02	0,08
15059825-002	MW-Problemwachs	0,0018	n.n.	0,02	n.n.	0,02	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	0,44	0,01	n.n.	0,02
15059825-003	Wabenproben; ausgebauter MW mit stehengebliebenen Zellen	n.n.	0,003	0,01	n.n.	0,02	n.n.	0,02	0,02	n.n.	0,34	n.n.	n.n.	0,02
15059825-010	Wabenstück A	n.n.	0,072	0,01	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,31	n.n.	n.n.	0,03
	Wabenstück B													
	Wabenstück C													
15059825-011	Wabenstück (dunkel): Stk 1/1	n.n.	0,011	0,01	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	n.n.	n.n.
	Wabenstück (dunkel): Stk 1/2													
	Wabenstück (dunkel): Stk 1/3													

Sowohl „MW-Standardwachs“ als auch „MW-Problemwachs“ und Wabenproben enthielten bienengefährliche und andere Wirkstoffe. Eine Beteiligung von manchen der nachgewiesenen Wirkstoffe – insbesondere der bienengefährlichen (zum Beispiel Chlorpyrifos-methyl, lambda-Cyhalothrin, Cyhalothrin, Imidacloprid, Lindan) – an den beobachteten Brutaussfällen während der Entwicklung vom Eistadium bis zum Schlupf der erwachsenen Bienen, kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Möglicherweise trug auch der in vier der fünf untersuchten Proben nachweisbare Synergist Piperonylbutoxid – in Kombination mit den Pyrethroiden - zur Entstehung der Brutschäden bei. Piperonylbutoxid (Honigbiene: LD_{50contact} > 11 µg/Biene; LD_{50oral}: keine Angabe verfügbar; Quelle: ECOTOX knowledgebase) wird als Synergist (= Wirkungsverstärker) zusammen mit Pyrethrum oder Pyrethroiden eingesetzt.)

Bezüglich der möglichen Herkunft der nachgewiesenen Wirkstoffe sind – je nach Wirkstoff – verschiedene Quellen in Betracht zu ziehen:

- Bei einem Teil der nachgewiesenen Wirkstoffe dürfte es sich um Reste von Altlasten handeln (zum Beispiel DDT, Lindan), andere könnten aus einer lange zurückliegenden Phase der Parasitenbekämpfung in der Imkerei stammen (zum Beispiel Chlorbenzilat zur Tracheenmilbenbekämpfung, Bromopropylat zur Varroabekämpfung).

- Andere nachgewiesene Wirkstoffe kommen in zugelassenen Pflanzenschutzmitteln zum Einsatz (zum Beispiel Chlorpyrifos-methyl, lambda-Cyhalothrin, Imidacloprid, Thiacloprid, tau-Fluvalinat), bzw. sind diese auch in der EU genehmigte Wirkstoffe in Biozidprodukten (Imidacloprid, Thiacloprid, lambda-Cyhalothrin) oder Pflanzenschutzmitteln und Biozidprodukten (Piperonylbutoxid).

Mögliche Quellen der Rückstände von tau-Fluvalinat könnten Wirkstoffrückstände im Wachs und daraus produzierten Mittelwänden sein, die aus bereits länger zurückliegenden bzw. aktuellen Anwendungen von Apistan zur Varroabekämpfung resultieren. Das tau-Fluvalinat könnte aber auch aus einer Pflanzenschutzmittelanwendung stammen. Laut Pflanzenschutzmittelregister (Stand: 15.12.2015) gibt es ein zugelassenes Präparat mit diesem Wirkstoff für den Einsatz im Acker- und Gemüsebau für verschiedene Indikationen.

Da Wachs einen Kreislauf von der Mittelwand zur Wabe und wieder zur Mittelwand durchläuft, können fettlösliche Wirkstoffe in der Imkerei und über die Wachsverarbeitung lange Zeit mitgeschleppt werden.

- Offen bleibt die Frage, in wie weit nachgewiesene Wirkstoffe möglicherweise über den Einsatz von dafür ungeeigneten Biozidprodukten zur Schädlingsbekämpfung in Wachs- und Wabenlagerräumen in das Wachs gelangt sein könnten.
- Der in einer Waben-Sammelprobe nachgewiesene Wirkstoff Cyhalothrin hat laut EU-Pesticides Database gemäß Reg. (EC) No 1107/2009 den Status „not approved“ für Pflanzenschutzanwendungen (http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=active_substance_detail&language=EN&selectedID=1218, Abfrage: 4.2.2016). Er findet sich auch nicht auf der Liste zugelassener Biozidwirkstoffe der ECHA (https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/biocidal-active-substances?p_p_id=echarevbiocides_WAR_echarevbiocidesportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&echarevbiocides_WAR_echarevbiocidesportlet_javax.portlet.action=searchBiocidesAction; Abfrage 15.2.2018).

3c.3.5.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2015

Im Spätsommer bis Herbst (September, Oktober) 2015 meldeten 3 Betriebe für 3 Bienenstände Bienenschäden (= geschwächte Völker) mit Vergiftungsverdacht (Tabelle 3.69). Auffällig war, dass es keine Totalverluste von Völkern gab, sondern von den 24 eingewinterten Bienenvölkern bis Ende Oktober 2015 insgesamt 20 Völker mehr oder weniger stark geschwächt waren. Proben aller Stände wurden rückstandsanalytisch untersucht.

Tabelle 3.69: Meldungen mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer – Herbst 2015.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker tot %
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	
NÖ	2	2	15	0	15	0	0
OÖ	1	1	9	0	5	4	0
SUMME	3	3	24	0	20	4	0

3c.3.5.3.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer bis Herbst 2015

Von den betroffenen Imkereibetrieben wurden zum Teil folgende Symptome der Völker gemeldet: krabbelnde, flugunfähige Bienen (siehe Abbildung 3.84), stark erhöhter Bientotenfall (siehe Abbildung 3.85), tote Bienen mit verkrampftem Körper, tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel, zittrige, benommene Bienen vor dem Flugloch.



Ergebnis der Rückstandsanalysen

Bienen: **Clothianidin (<BG)**,
Biphenyl (0,15 mg/kg); [Probe Nr.
15085506-032]

Bienenbrot: **Imidacloprid (<BG)**,
Biphenyl (0,03 mg/kg), Fenvalerat
(0,1 mg/kg), Pirimiphos-methyl (0,01
mg/kg); [Probe Nr. 15085506-041]

Abbildung 3.84: Bienenschaden mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer/Herbst 2015. Krabbelnde, flugunfähige Bienen vor den Fluglöchern. Probe Nr. 15085506-032 (Foto: Josef Mayr, ©AGES, 28.9.2015).



Ergebnis der Rückstandsanalysen

Bienen: Biphenyl (0,05 mg/kg);
[Probe Nr. 15119780-001]

Bienenbrot: **Clothianidin (0,001
mg/kg)**, Biphenyl (0,03 mg/kg),
lambda-Cyhalothrin (0,06 mg/kg);
[Probe Nr. 15119780-002]

Abbildung 3.85: Bienenschaden mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer/Herbst 2015. Stark erhöhter Bientotenfall (1 Liter tote Bienen bei diesem Volk) vor den Fluglöchern. Probe Nr. 15119780-001 (Eigenfoto: ©Imker).

3c.3.5.3.2 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2015

Gesundheitsuntersuchungen konnten nicht durchgeführt werden, da entweder keine Bienenproben eingesandt worden waren (2 Fälle) oder alle verfügbaren Bienen aufgrund der geringen eingesandten Menge für die Rückstandsuntersuchungen verwendet wurden (1 Fall).

3c.3.5.3.3 Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2015

Aus dieser Periode wurden 3 Einzelproben (2 x Bienen, 1 x Bienenbrot) und 2 Sammelproben (bestehend aus 9 bzw. 4 Bienenbrot-Einzelproben) auf Rückstände untersucht (Tabelle 3.70).

Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar.

Clothianidin war in den Proben aus NÖ in zwei Proben aus zwei verschiedenen Bienenständen nachweisbar (einmal in Bienenbrot: 0,001 mg/kg, das andere Mal in geschädigten Bienen in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze). Auf einem dieser Stände war auch Imidacloprid in einer Bienenbrotprobe in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze nachweisbar.

Tabelle 3.70: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2015 (n.n. = nicht nachweisbar; alle Konzentrationsangaben in mg/kg; H = Spätsommer/Herbst). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Jahr	Periode	Bundesland	Material	Pooling	Clothianidin	Imidacloprid	Thiamethoxam	Fipronil	Fipronilsulfon	Biphe-nyl	lambda Cyhalothrin	Fenvalerat	Pirimiphos-methyl
2015	H	NÖ	Bienen	15119780-001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	n.n.	n.n.
			Bienenbrot	15119780-002	0,001	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	0,06	n.n.	n.n.
			Bienen	15085506-032	< BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,15	n.n.	n.n.	n.n.
			Bienenbrot	15085506-041	n.n.	< BG	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	0,1	0,01
		OÖ	Bienenbrot	15100713-005	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) waren in einem Fall aus NÖ lambda-Cyhalothrin (Bienenbrot: 0,06 mg/kg) und Biphenyl (Bienen: 0,05 mg/kg; Bienenbrot: 0,03 mg/kg) nachweisbar. Im anderen Fall Biphenyl in der Bienenprobe (0,15 mg/kg) und der Bienenbrotprobe (0,03 mg/kg), sowie Fenvalerat (0,1 mg/kg) und Pirimiphos-methyl (0,01 mg/kg) jeweils in der Bienenbrotprobe.

3c.3.5.4 Völkerverluste und Bienenschäden mit Frevelverdacht im Jahr 2015

Im Jahr 2015 wurde uns von einem Betrieb für einen Bienenstand aus Oberösterreich Verdacht auf Bienenfrevel gemeldet. Alle 31 Völker waren am 10.6.2015 plötzlich abgestorben vorgefunden worden. Alle Bienen in den Stöcken waren tot und der gesamte hohe Unterboden damit gefüllt. Die toten Bienen quollen teilweise auch beim Flugloch heraus und waren am Flugbrett und davor zu finden. (Abbildung 3.86).



Abbildung 3.86: Verdacht auf Bienenfrevel Sommer 2015. Sehr starker Bientotenfall am Flugloch und davor (Bild links) sowie im Bodenbrett (Bild rechts, Ansicht von hinten nach Entfernung des Putzkeiles). Ergebnis der Rückstandsanalyse: Bienenprobe: Chlorpyrifos-ethyl (0,01 mg/kg), Cypermethrin (0,02 mg/kg), Cyfluthrin (0,03 mg/kg), Piperonylbutoxid (13 mg/kg); Wabenprobe: Thiacloprid (0,019 mg/kg).

Der betroffene Imker hatte nach dem Vorfall Anzeige bei der Polizei erstattet. Der Vorfall wurde zusätzlich von einem beigezogenen Bienensachverständigen dokumentiert. Von diesem wurden von den abgestorbenen Bienenvölkern Bienen- und Wabenproben für Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen entnommen. Da seitens der durch Anzeige informierten Behörden keine eigenen Rückstandsuntersuchungen beauftragt worden waren, wurde – wie bereits im Vorjahr praktiziert – dieser Fall mit Zustimmung des Projekt-Auftraggebers (Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft) in das Projekt „Zukunft Biene“ zur Untersuchung aufgenommen.

3c.3.5.4.1 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen im Frevelverdachtsfall 2015

Die Brutprobe war ohne Symptome von Amerikanischer Faulbrut. In der Bienenprobe waren keine Varroamilben und keine Nosemasporen nachweisbar. Symptome von DWV waren nicht feststellbar.

3c.3.5.4.2 Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen im Frevelverdachtsfall 2015

In der Bienenprobe waren Chlorpyrifos-ethyl, Cypermethrin, Cyfluthrin und eine auffällig hohe Konzentration des Synergisten Piperonylbutoxid nachweisbar. In der Wabenprobe waren Rückstände von Thiacloprid zu finden (Tabelle 3.71).

Tabelle 3.71: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen in einem Fall von Frevelverdacht 2015 (n.n. = nicht nachweisbar; alle Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) nur jene Analyten angeführt, die in einer Konzentration > BG nachgewiesen werden konnten. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Material	Poolung	Thiacloprid	Chlorpyrifos-ethyl	Cypermethrin	Cyfluthrin	Piperonyl-butoxid
Bienen	15066503-001	n.n.	0,01	0,02	0,03	13
Waben	15066503-003	0,019	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.

Das plötzliche und unerwartete Absterben aller Bienenvölker des betroffenen Bienenstandes ist aufgrund dieses Ergebnisses mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf die absichtliche Einbringung der nachgewiesenen bienentoxischen Wirkstoffe in die Bienenvölker zurückzuführen. Der nachgewiesene Synergist Piperonylbutoxid steht wahrscheinlich mit dem Einsatz der Pyrethroide Cypermethrin und Cyfluthrin in Verbindung. Das ebenfalls nachgewiesene Thiacloprid und das Chlorpyrifos-ethyl könnten von durchgeführten Pflanzenschutzmaßnahmen oder einer Biozidanwendung im Flugkreis der Bienen herrühren.

3c.3.6 Gemeldete Fälle von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht 2016

3c.3.6.1 Überwinterungsperiode 2015/2016

Von 6 Imkereibetrieben wurde für 7 Bienenstände Vergiftungsverdacht aus den Bundesländern Burgenland, Kärnten, Niederösterreich und Oberösterreich gemeldet (siehe Tabelle 3.72). Von den 106 auf diesen Ständen befindlichen Völkern waren im Verlauf der Überwinterung 70 Völker abgestorben (= 66%). 16 Völker waren bei der Auswinterung schwach und nur 20 von normaler Volksstärke. Auf drei Einzelständen betrug die Ausfallsquote zwischen 80% und 100%.

Tabelle 3.72: Gemeldete Fälle von Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht in der Überwinterungsperiode 2015/16.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker %
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	tot
B*	2	3	38	18	7	13	47,4
K	1	1	20	16	4	0	80,0
NÖ	2	2	32	22	5	5	68,8
OÖ	1	1	16	14	0	2	87,5
SUMME	6	7	106	70	16	20	66,0

* rückstandsanalytisch untersucht: 1 Betrieb (2 Stände); Proben anderer Stände wurden nicht untersucht, da die Gesundheitsuntersuchungen einen hohen Varroabefall – bzw. in einem Fall auch Amerikanische Faulbrut – als wahrscheinliche Ursache der Winterverluste ergeben hatten.

3c.3.6.1.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2015/2016

Die Symptome abgestorbener Völker ähnelten meist wieder jenen aus den Vorjahren für diese Periode (Vergleiche Abschnitt 3c 3.1.1).

3c.3.6.1.2 Ergebnis der Gesundheitsuntersuchungen in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Überwinterungsperiode 2015/2016

Bienenproben

Der Varroabefall an den Bienen lag in den 7 untersuchten Proben zwischen 0% und maximal 23%. Nosemasporen waren lichtmikroskopisch in keiner dieser Proben nachweisbar (siehe Tabelle 3.73).

Tabelle 3.73: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Bienenproben aus Winterverlusten 2015/16 mit Vergiftungsverdacht (n.u. = nicht untersucht, / = keine PCR da *Nosema* spp. negativ, n.n. = nicht nachweisbar, pos = positiv, neg = negativ, Va-Bienen% = Varroabefall Bienen in Prozent).

Bundesland	Stand	Material	LISA Nr.	Va-Bienen % (100 untersuchte Bienen)	<i>Nosema</i> spp. (Lichtmikroskop)	<i>Nosema ceranae</i> (PCR)	<i>Nosema apis</i> (PCR)
B	Hai	Bienen	16045002-001	0	neg	/	/
	Hai	Bienen	16045002-002	0	neg	/	/
	Zu	Bienen	16045002-004	n.a. (Mäusekot)	n.a.(Mäusekot)	/	/
	Zu	Bienen	16045002-005	5	neg	/	/
K	Go	Bienen	16057559-001	10	neg	/	/
	Go	Bienen	16057559-002	10	neg	/	/
NÖ	Ga	Bienen	16053588-001	/*	/*	/*	/*
	Ga	Bienen	16053588-002	/*	/*	/*	/*
	Ga		16053588-003	/*	/*	/*	/*
	Hei		16057568-008	13	neg	/	/
OÖ	Sch	Bienen	16031998-001	23	neg	/	/

/* nicht untersucht, da Brutproben Amerikanische Faulbrut hatten.

Brutproben

Tabelle 3.74 zeigt das Ergebnis der untersuchten Brutproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2015/16. Die Proben stammten aus 2 Bundesländern (B, NÖ) von 5 Bienenständen. Amerikanische Faulbrut war auf einem Stand aus Niederösterreich in den 3 untersuchten Brutproben nachweisbar. Dieser Fall wurde gemäß Bienenseuchengesetz an die zuständige Behörde gemeldet. Aufgrund des klinischen Auftretens von Amerikanischer Faulbrut erfolgten bei diesen Brutproben und den korrespondierenden Bienenproben keine weiteren Untersuchungen.

In den 2 auswertbaren Brutproben (Anzahl Brutzellen \geq 50) lag der Prozentsatz varroabefallener Brutzellen zwischen 12% und 26%. In beiden Fällen war ein Mehrfachbefall durch mehrere Muttermilben feststellbar.

Tabelle 3.74: Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Brutproben aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2015/16 (W = Winterverlust, AFB = Amerikanische Faulbrut, neg = negativ, pos = positiv, Va-Brutbefall = Varroa-Brutbefall, / = nicht untersucht, n.a. = nicht auswertbar).

Bundesland	Stand	Material	LISA Nr.	AFB	Va-Brut % (50 untersuchte Zellen)	Varroa-Mehrfachbefall
B	Hai	Brut	16045002-003	/**	/**	/**
	Zu	Brut	16045002-006	neg	n.a. (10 Zellen)	
	An	Brut	16027225-001	neg	12	ja
NÖ	Ga	Brut	16053588-004	pos	/*	/*
		Brut	16053588-005	pos	/*	/*
		Brut	16053588-006	pos	/*	/*
		Brut	16053588-007	pos	/*	/*
	Hei	Brut	16057568-001	neg	25	ja

/** nicht untersucht, da kein geeignetes Material verfügbar

/* nicht auf Varroabefall untersucht, da Brutproben Amerikanische Faulbrut hatten.

3c.3.6.1.3 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Überwinterungsperiode 2015/16

Rückstandsanalytisch untersucht wurden Bienenbrot- bzw. Bienenproben von 2 Bienenständen eines Betriebes. Dabei handelte es sich um 1 Bienensammelprobe (Bienen aus 2 toten Völkern) und zwei Bienenbrotproben (eine Sammelprobe mit Material aus 6 toten Wintervölkern und eine Einzelprobe mit Material aus einem toten Wintervolk).

Bei den anderen Bienenständen konnten aufgrund der Ergebnisse der Bienengesundheitsuntersuchung mit hoher Wahrscheinlichkeit ein zu hoher Varroabefall, bzw. in einem Fall aus Niederösterreich auch Amerikanische Faulbrut als Ursachen für die aufgetretenen Winterverluste ermittelt werden. Gemäß Projektplan erfolgten in diesen Fällen keine Rückstandsuntersuchungen.

Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon, sowie die Clothianidinmetaboliten TZNG und TZMU, waren in keiner Probe nachweisbar (Tabelle 3.75).

Die Untersuchung auf andere Wirkstoffe und Metaboliten verlief bei der Bienenprobe des einen Standes ebenfalls negativ. In den untersuchten Bienenbrotproben des anderen Standes war eine größere Zahl von Wirkstoffen nachweisbar, darunter auch bienengefährliche Insektizide (z. B. Chlorpyrifos-ethyl, Chlorpyrifos-methyl, Malathion). Deren Nachweis im Bienenbrot ist ein Indiz für eine stattgefunden Exposition der Sammelbienen während des Pollensammelns, bzw. des Sammelns von kontaminiertem Pollen blühender Pflanzenbestände. Falls eine Aufnahme des kontaminierten Bienenbrotes durch Ammenbienen oder Bienenlarven stattgefunden hat, ist auch für diese eine Exposition anzunehmen. Ob die gemessenen Konzentrationen an Chlorpyrifos-ethyl und Chlorpyrifos-methyl ursächlich zum Absterben der betreffenden Völker geführt haben, kann nicht beurteilt werden, da weder die Zeitpunkte der Exposition noch des Absterbens der Bienenvölker bekannt sind. Außerdem gibt es für Rückstände in Bienenbrot keine Daten, aus denen sich – analog zu den LD₅₀-Werten für Bienen – toxikologische Endpunkte ableiten lassen würden.

Bei THPI (Tetrahydrophthalimid) dürfte es sich um ein Abbauprodukt von Captan bzw. Folpet handeln, zwei zugelassenen fungiziden Wirkstoffen. Details sind in Tabelle 3.75 zusammengefasst.

Tabelle 3.75: Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Winterverlusten 2015/16 mit Vergiftungsverdacht (n.n. = nicht nachweisbar; alle Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind neben den in der EU-Richtlinie angeführten Wirkstoffen Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) noch die Clothianidinmetaboliten TZNG und TZMU aufgelistet. Andere Analyten nur bei positivem Rückstandsnachweis (= Wirkstoffkonzentration über der Nachweis- bzw. über der Bestimmungsgrenze. Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Analyt (Wirkstoff bzw. Metabolit; mg/kg)	Probe Nr.		
	16045002-008	16016048-031	16045002-007
	Bienen	Bienenbrot	Bienenbrot
Clothianidin	n.n.	n.n.	n.n.
Imidacloprid	n.n.	n.n.	n.n.
Thiamethoxam	n.n.	n.n.	n.n.
Fipronil	n.n.	n.n.	n.n.
Fipronilsulfon	n.n.	n.n.	n.n.
TZNG	n.n.	n.n.	n.n.
TZMU	n.n.	n.n.	n.n.
Thiacloprid	n.n.	<BG	n.n.
Azoxystrobin	n.n.	0,03	n.n.
Boscalid	n.n.	0,07	n.n.
Chlorpyrifos-ethyl	n.n.	0,01	n.n.
Chlorpyrifos-methyl	n.n.	0,01	n.n.
Cyprodinil	n.n.	0,01	n.n.
Difenoconazol	n.n.	n.n.	0,01
Fludioxonil	n.n.	<BG	<BG
tau-Fluvalinat	n.n.	0,05	0,1
Malathion	n.n.	0,01	n.n.
Pendimethalin	n.n.	0,02	n.n.
Piperonylbutoxid	n.n.	0,2	0,1
Prochloraz	n.n.	<BG	n.n.
Pyraclostrobin	n.n.	0,01	n.n.
Pyrimethanil	n.n.	0,5	n.n.
Spiroxamin	n.n.	0,01	n.n.
Tebuconazol	n.n.	0,04	n.n.
Tetrahydrophthalimid	n.n.	n.n.	0,06
Trifloxystrobin	n.n.	0,3	0,01

3c.3.6.2 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2016

Für den Zeitraum Frühjahr bis Sommer 2016 wurden von 26 Imkereibetrieben aus den Bundesländern Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich und Steiermark für insgesamt 39 Bienenstände Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet (Tabelle 3.76). Da einer dieser Betriebe in 2 Bundesländern betroffen war, ist er sowohl in der Steiermark als auch in Niederösterreich in der Tabelle als Betrieb angeführt.

Nicht mit eingerechnet wurden 2 über den Amtstierarzt aus Kärnten gemeldete Fälle, für die uns danach keine Angaben zum Bienenstand und zur Völkerzahl bekanntgegeben wurden und auch kein Fragebogen rückübermittelt worden war.

Zwischen den Bundesländern, aus denen Meldungen einlangten, zeigten sich Unterschiede in der Zahl der Vergiftungsverdachtsmeldungen (Tabelle 3.76). Die größte Zahl betroffener Bienenstände wurde aus Niederösterreich, die größte Zahl betroffener Völker aus dem Burgenland gemeldet. Tote Völker wurden von 4 Betrieben in geringer Zahl gemeldet (Maximum: 5 von 17 Völkern am Stand waren abgestorben). In den anderen Fällen wurde für alle oder die Mehrzahl der Völker eine Schwächung (= Reduktion der Volksstärke) gemeldet.

Tabelle 3.76: Meldungen mit Vergiftungsverdacht im Frühjahr bis Sommer 2016.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker % tot
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	
B	6	14	960	0	960	0	0
NÖ	13	18	422	6	398	18	1,4
OÖ	5	5	24	4	13	7	16,7
ST	2	2	21	0	21	0	0
SUMME	26	39	1427	10	1392	25	0,7

Anmerkung: Bei 6 in der Tabelle enthaltenen Ständen erfolgten keine Rückstandsuntersuchungen: Von 4 Ständen waren keine Proben verfügbar; Proben von 2 weiteren Ständen hatten einen sehr hohen Varroabefall (Brutbefall 28 %, bzw. 45 Varroamilben in der Probe von 50 g toten Bienen), der mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit die Ursache für den beobachteten Bienenschaden war.

Bezüglich der vermuteten Vergiftungsursache wurde von den Imkern für die 38 Bienenstände am Fragebogen am häufigsten „Unbekannt“ angekreuzt (22 Nennungen), gefolgt von Pflanzenschutzmaßnahmen bei Getreide (4x), Raps (4x), „Sonstige“ (4x Senf), Mais (3x), Obst (3x) und Wein (2x). Da pro Bienenstand auch Mehrfachnennungen möglich waren, ist die Zahl der Nennungen höher als die Zahl der Stände. Die ebenfalls im Fragebogen zur Auswahl stehenden Kulturen Forst und Kürbis wurden in keinem Fall als vermutete Vergiftungsursache angegeben.

3c.3.6.2.1 Beobachtete Symptome in Fällen mit Vergiftungsverdacht – Frühjahr bis Sommer 2016

Die Symptome auf den Bienenständen waren wieder ähnlich denen des Vorjahres (erhöhter Bientotenfall, Krabbler, Rückgang der Volksstärke im Brut- und Honigraum; vgl. Abschnitt 3c.3.2.1).

Die Abbildungen 3.87 bis 3.92 zeigen die auf den Bienenständen aufgetretenen Symptome. Zusätzlich ist das Ergebnis der Rückstandsuntersuchungen angeführt.



Bienenschaden Bezirk Mistelbach (NÖ):

Beginn: 8.6.2016

4 Stände mit 126 Völkern betroffen, alle geschwächt; Bienenproben von 2 Ständen verfügbar und rückstandsanalytisch untersucht:

Ergebnis Rückstandsuntersuchung:

Bienen

Lisa-Nr. 16072749-001:

Thiacloprid: 0,002 mg/kg

Chlorpyrifos-ethyl: 5 mg/kg

Cyprodinil: 0,06 mg/kg

Lisa-Nr. 16072749-002:

Thiacloprid: 0,0018 mg/kg

Chlorpyrifos-ethyl: 5 mg/kg

Cyprodinil: 0,01 mg/kg

Abbildung 3.87: Stark erhöhter Bientotenfall nach Pflanzenschutzmaßnahme in blühendem Körnersenf (Eigenfoto: ©Imker).



Bienenschaden Bezirk Leibnitz (ST):

Beginn: 6.4.2016,

Am Stand: 3 Völker, alle geschwächt, keines tot

Maisanbau im Flugkreis

Ergebnis

Rückstandsuntersuchung:

Bienen (Lisa-Nr. 16057547-006)

Clothianidin: 0,0085 mg/kg

Imidacloprid: < BG

Bienenbrot (Lisa-Nr. 16057547-005)

Clothianidin: 0,012 mg/kg

Boscalid: < BG

Abbildung 3.88: Stark erhöhter Bientotenfall zur Zeit der Maisaussaat (Eigenfoto: ©Imker).



Bienenschaden Bezirk Scheibbs (NÖ)

Beginn: 22.5.2016

Am Stand: 16 Völker, alle geschwächt

Ergebnis Rückstandsuntersuchung:

Bienen (Lisa-Nr. 16057613-001)

Pendimethalin: < BG

Pyraclostrobin: < BG

Piperonylbutoxid: 0,01 mg/kg

Bienenbrot (Lisa-Nr. 16057613-002)

Imidacloprid: < BG

Methiocarb: 0,01 mg/kg

Piperonylbutoxid: 0,03 mg/kg

Azoxystrobin: < BG

Abbildung 3.89: Massenhaft flugunfähige, krabbelnde Bienen vor Fluglöchern (Eigenfoto: ©Imker).



Bienenschaden Bezirk Wels Land (OÖ)

Beginn: 27.3.2016

Am Stand: 4 Völker, alle geschwächt

Ergebnis Rückstandsuntersuchung:

Bienen (Lisa-Nr. 16057585-001)

Piperonylbutoxid: 0,01 mg/kg

Azoxystrobin: 0,01 mg/kg

Metalaxyl: 0,01 mg/kg

Propiconazole: 0,2 mg/kg

Tebuconazol: 0,2 mg/kg

Bienenbrot (Lisa-Nr. 16057585-002)

lambda Cyhalothrin: 0,01 mg/kg

Propargit: 0,01 mg/kg

Pendimethalin: 0,01 mg/kg



Abbildung 3.90: Starker Bientotenfall, zum Teil mit Pollenhöschen, vor Fluglöchern (Eigenfoto: ©Imker).



**Bienenschaden Bezirk Urfahr
Umgebung (OÖ)**

Beginn: 8.5.2016

Am Stand: 5 Völker, alle geschwächt

Ergebnis Rückstandsuntersuchung:

Bienen (Lisa-Nr. 16057578-005)

Thiacloprid: 0,001 mg/kg

Bienenbrot (Lisa-Nr. 16057578-006)

Thiacloprid: 0,044 mg/kg

Azoxystrobin: < BG

Myclobutanil: 0,03 mg/kg

Tebuconazol: 0,07 mg/kg

Abbildung 3.91: Massenhaft flugunfähige, krabbelnde Bienen vor Fluglöchern (Eigenfoto: ©Imker).



**Bienenschaden Bezirk Neusiedl/See
(B)**

Beginn: 24.5.2016

Am Stand: 55 Völker, alle geschwächt

Ergebnis Rückstandsuntersuchung:

Bienen (Lisa-Nr. 16057475-001)

Negativ – keine Rückstände
nachweisbar.

Bienenbrot (Lisa-Nr. 16057475-005)

Thiacloprid: 0,035 mg/kg

tau-Fluvalinat: 0,04 mg/kg

Piperonylbutoxid: < BG

Boscalid: 0,06 mg/kg

Myclobutanil: 0,02 mg/kg

Tebuconazol: 0,03 mg/kg

Teflubenzuron: <BG

Abbildung 3.92: Massenhaft flugunfähige, krabbelnde Bienen vor den Fluglöchern (Foto: Josef Mayr, ©AGES).

3c.3.6.2.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Frühjahr bis Sommer 2016

Aus dieser Periode wurden 55 Proben (27 Bienen-, 28 Bienenbrotproben) auf Rückstände untersucht. Die Ergebnisse sind für Bienen- und Bienenbrot in Tabelle 3.77 und Tabelle 3.78 für die Einzelproben und in zusammengefasster Form für die beiden Matrizes in den Abbildungen 3.93 und 3.94 dargestellt.

Thiamethoxam war in keiner Probe nachweisbar. Clothianidin war auf einem Bienenstand in der Steiermark in einer Sammelprobe geschädigter Bienen (0,0085 mg/kg) und einer Bienenbrotprobe (0,012 mg/kg) nachweisbar (siehe Abbildung 3.88). Die Bienenprobe enthielt weiters Spuren von Imidacloprid (< BG), die Bienenbrotprobe Boscalid (< BG). Die Bienenproben waren am 6., 7. und 8. 4. 2016, die Bienenbrotprobe am 7.4.2016 entnommen worden. Dieser Stand liegt in einem bereits aus den Vorjahren bekannten Problemgebiet mit Maisanbau.

Seitens der über diesen Nachweis in Kenntnis gesetzten zuständigen Landesbehörden war es nicht möglich – trotz dazu erfolgter Erhebungen im betreffenden Gebiet – die Expositionsquelle oder die Expositionsursache herauszufinden. Der Clothianidinmetabolit TZMU war in 2 Bienenbrotproben in Spuren nachweisbar (Burgenland: < BG; Niederösterreich: < BG). Der Clothianidinmetabolit TZNG war in keiner Bienenbrot- und in keiner Bienenprobe nachweisbar.

Imidacloprid war in 2 Bienenproben (Steiermark: < BG; Burgenland: 0,11 mg/kg) und 3 Bienenbrotproben (Oberösterreich: < BG; Niederösterreich: 2 x < BG) nachweisbar. Die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefinmetabolit, Imidacloprid-nitrosimin) waren in keiner Probe nachweisbar. Der ebenfalls zur Gruppe der Neonicotinoide gehörende Wirkstoff Thiacloprid war in 6 Bienen- und 15 Bienenbrotproben nachweisbar.

Fipronil bzw. dessen Metabolit Fipronilsulfon waren in Proben von 2 Bienenständen aus Oberösterreich nachweisbar: Stand 1 (Bienenprobe: Fipronil: 0,1 mg/kg; Fipronilsulfon: 0,055 mg/kg; Bienenbrotprobe: Fipronil: 0,014 mg/kg, Fipronilsulfon: < BG); Stand 2 (Bienenprobe: Fipronilsulfon: 0,0028 mg/kg).

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) waren eine Reihe unterschiedlicher Wirkstoffe nachweisbar. Darunter befanden sich auch zwei in der EU nicht zugelassene Wirkstoffe: Das Akarizid Propargit (6 positive Proben: 3 Bienen-, 3 Bienenbrotproben von 6 Imkern aus 6 Bezirken der Bundesländer NÖ und OÖ; das Insektizid Permethrin (2 Bienenbrotproben von 2 Imkern aus 2 Bezirken der Bundesländer NÖ und B).

Besonders hervorzuheben sind die positiven Nachweise für Chlorpyrifos-ethyl (je 5 mg/kg in zwei Bienenproben von zwei Bienenständen im Weinviertel (NÖ, Bezirk Mistelbach) mit schweren Bienenverlusten nach Pflanzenschutzmaßnahmen in blühendem Körnersenf. In diesen beiden Fällen dürften nach den uns vorliegenden Informationen Restbestände an Spritzbrühe mit bienengefährlichem Wirkstoff aus einer vorangegangenen Anwendung in einer anderen Kultur (Engerlingsbekämpfung im Weinbau) im Spritzmitteltank verblieben und im Zuge der Folgeanwendung – zusammen mit Thiacloprid und dem Fungizid Cyprodinil – auf den blühenden Körnersenf ausgebracht worden sein. In den toten Bienen waren nur diese 3 Wirkstoffe nachweisbar (Details, siehe Tab. 3.48). Der eingetretene Bienenschaden auf den betroffenen Ständen ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf diesen Anwendungsfehler zurückzuführen.

Chlorpyrifos-ethyl war auch noch in einer Bienenbrotprobe aus dem Burgenland (Bezirk Oberpullendorf) nachweisbar (0,01 mg/kg).

Weitere vereinzelt nachgewiesene insektizide Wirkstoffe und Akarizide waren in Bienenproben Methiocarb (2 Proben) und der Synergist Piperonylbutoxid (2 Proben); in Bienenbrotproben Methiocarb (1 Probe), lambda-Cyhalothrin (2 Proben), Cypermethrin (2 Proben), Cyfluthrin (2 Proben), Chlorfenvinphos (1 Probe), tau-Fluvalinat (7 Proben), der Synergist Piperonylbutoxid (10 Proben) und das nach Einschleppung der Varroamilbe ab 1980 für einige Jahre in Form des zugelassenen Präparates FolbexVA eingesetzte Akarizid Bromopropylat (1 Probe).

Der Herbizidwirkstoff Linuron war sowohl in der Bienen- (0,04 mg/kg) als auch in der Bienenbienenbrotprobe (0,04 mg/kg) eines Standes im Burgenland nachweisbar.

Daneben waren in Bienen- und Bienenbrotproben noch eine Reihe von Fungiziden nachweisbar (Details siehe Tabelle 3.77 und 3.78).

Tabelle 3.77: Bienenproben Frühjahr – Sommer 2016: Einzelergebnisse der Rückstandsuntersuchungen (n.n. = nicht nachweisbar; < BG = unter Bestimmungsgrenze; alle Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind alle 27 untersuchten Probenangeführt; von den Analyten nur jene, die nachgewiesen werden konnten (Konzentration \geq BG bzw. Spuren <BG). Gesamtliste erfasster Analyten siehe Tabellen 3.45 und 3.46.

Analyt (mg/kg)	Proben-Nummer																					Anzahl positiver Proben							
	16072749-002	16072749-001	16058215-001	16058215-007	16057540-001	16057615-001	16055257-001	16057475-001	16079146-001	16057547-006	16059460-001	16057418-001	16057613-001	16057585-001	16066399-001	16057504-001	16057406-001	16045001-009	16057450-001	16057450-004	16057450-016		16057450-008	16057450-012	16059300-001	16059300-002	16059300-004	16057578-005	
Clothianidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0085	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Imidacloprid	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Fipronil	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Fipronilsulfon	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,055	n.n.	0,0028	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Thiacloprid	0,0018	0,002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,001	6	
Azoxystrobin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	0,09	n.n.	0,07	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3	
Chlorpyrifos-ethyl	5	5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Cyproconazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Cyprodinil	0,01	0,06	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3	
Flufenoxuron	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Fludioxonil	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Fluazinam	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Linuron	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,04	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Metalaxyl	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	0,01	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4	
Methiocarb	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Pendimethalin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Penconazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	1	
Piperonylbutoxid	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Picoxystrobin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	<BG	2	
Propargit	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3	
Propiconazole	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3	
Pyraclostrobin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Spiroxamin	n.n.	n.n.	<BG	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4	
Tebuconazol	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,2	n.n.	0,01	n.n.	0,01	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	5	
Triflumuron	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	

Tabelle 3.78: Bienenbrotproben Frühjahr – Sommer 2016: Einzelergebnisse der Rückstandsuntersuchungen (n.n. = nicht nachweisbar; < BG = unter Bestimmungsgrenze; alle Konzentrationsangaben in mg/kg). In der Tabelle sind alle 28 untersuchten Proben angeführt; von den Analyten nur jene, die nachgewiesen werden konnten (Konzentration >=BG bzw. Spuren <BG). Gesamtliste erfasster Analyten s. Tabellen 3.45 und 3.46.

Analyt (mg/kg)	Proben-Nummer																											Anzahl positiver Proben			
	16058215-011	16058215-012	16055257-002	16057475-005	16079146-002	16057547-005	16059460-005	16057418-002	16057613-002	16075313-005	16057585-002	16082975-007	16082975-003	16016052-031	16057424-002	16057504-012	16057527-006	16057504-013	16057504-014	16057406-002	16045001-010	16057450-021	16057450-018	16057450-017	16057450-020	16057450-019	16059300-010		16057578-006		
Clothianidin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,012	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Imidacloprid	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	4	
Fipronil	n.n.	n.n.	0,014	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Fipronilsulfon	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
TZMU	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	2	
Thiacloprid	0,0098	<BG	n.n.	0,0035	0,0072	n.n.	n.n.	0,002	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0047	n.n.	0,0026	n.n.	n.n.	0,0012	n.n.	0,0022	0,041	<BG	0,076	0,011	0,0015	0,044	15			
Azoxystrobin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	<BG	n.n.	<BG	<BG	0,05	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	0,03	<BG	10		
Bromopropylat	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Boscalid	n.n.	0,02	n.n.	0,06	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	0,4	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	6	
lambda Cyhalothrin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Chlorfenvinphos	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Chlorpyrifos-ethyl	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	1	
Cypermethrin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Cyfluthrin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
Cyprodinil	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3	
Difenoconazol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Dimetomorph	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2
Fenpropiomorph	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,08	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	n.n.	n.n.	2
Fludioxonil	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2	
tau-Fluvalinat	n.n.	n.n.	n.n.	0,04	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,04	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	n.n.	n.n.	0,1	0,2	0,01	0,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	7	
Fluazinam	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Iprovalicarb	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2
Linuron	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Methiocarb	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Myclobutanil	n.n.	n.n.	0,01	0,02	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,04	0,02	0,02	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	0,02	n.n.	0,03	n.n.	0,03	n.n.	11	
Pendimethalin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Permethrin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2
Piperonylbutoxid	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	<BG	n.n.	n.n.	0,1	0,03	0,07	0,02	0,01	n.n.	0,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,07	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,04	n.n.	n.n.	10	
Prochloraz	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Propargit	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	3
Prothiofos	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3
Spiroxamin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	0,02	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	5
Tebuconazol	n.n.	n.n.	n.n.	0,03	0,01	n.n.	n.n.	0,01	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,02	0,05	n.n.	0,03	n.n.	n.n.	0,02	0,02	n.n.	0,01	0,02	0,02	0,03	0,07	n.n.	n.n.	13	
Teflubenzuron	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1
Trifloxystrobin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<BG	n.n.	<BG	<BG	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3

In Abbildung 3.93 sind die Ergebnisse der Rückstandsanalysen bei den Bienenproben für Analyten mit positivem Nachweis zusammengefasst. Die 4 Wirkstoffe mit dem häufigsten Nachweis in den 27 untersuchten Proben waren Thiacloprid (6 Proben), Tebuconazol (5 Proben), Metalaxyl und Spiroxamin (je 5 Proben).

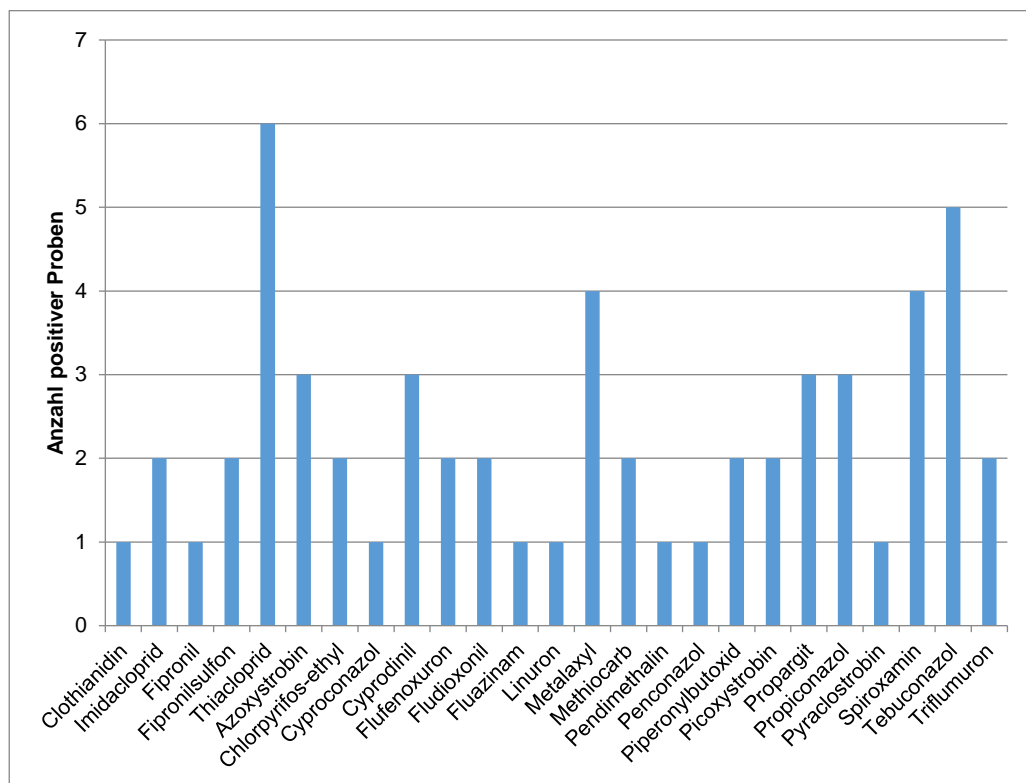


Abbildung 3.93: Bienenproben mit positivem Analytennachweis – Vergiftungsverdacht Frühjahr-Sommer 2016 (Gesamtzahl untersuchter Proben: 27).

In Abbildung 3.94 sind die Ergebnisse der Rückstandsanalysen bei den Bienenbrotproben für Analyten mit positivem Nachweis zusammengefasst. Die 5 Wirkstoffe mit dem häufigsten Nachweis in den 28 untersuchten Proben waren Thiacloprid (15 Proben), Tebuconazol (13 Proben), Myclobutanil (11 Proben), Azoxystrobin (10 Proben) und Piperonylbutoxid (10 Proben).

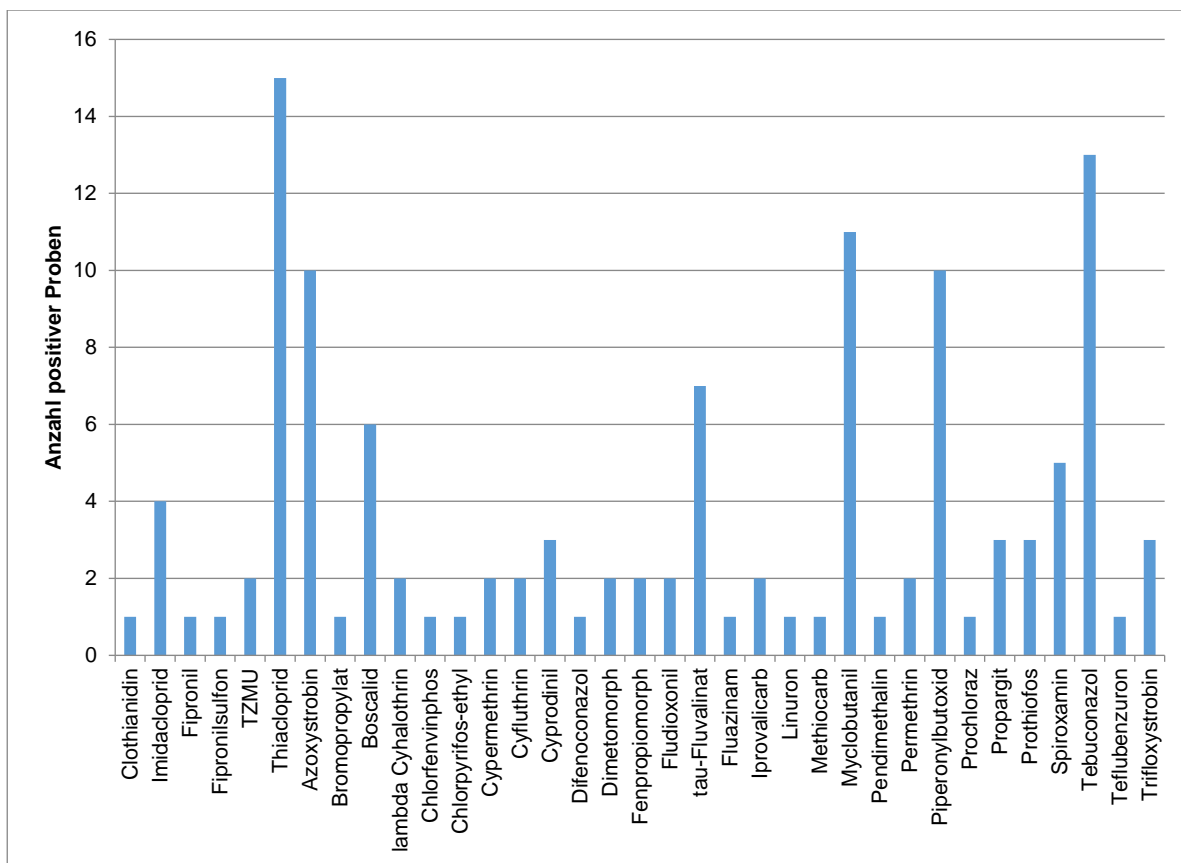


Abbildung 3.94: Vergiftungsverdacht Frühjahr-Sommer 2016 – Bienenbrotproben mit positivem Analytennachweis (Gesamtzahl untersuchter Proben: 28).

3c.3.6.3 Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht – Spätsommer bis Herbst 2016

Im Spätsommer bis Herbst (September, Oktober) 2016 meldete 1 Betrieb aus Niederösterreich (Bezirk Korneuburg) für einen Bienenstand mit 5 Völkern einen Bienenschaden (= tote oder geschwächte Völker) mit Vergiftungsverdacht (Tabelle 3.79). Als Symptom wurde das plötzliche Absterben des stärksten Volkes angegeben; später waren weitere 3 Völker abgestorben. Futtermangel wurde seitens der Betriebsführung ausgeschlossen.

Tabelle 3.79: Meldungen mit Vergiftungsverdacht im Spätsommer – Herbst 2016.

Bundesland	Anzahl Betriebe	Bienenstände	Völker [Anzahl]				Völker tot %
			Gesamtzahl am Stand	tot	geschwächt	normal	
NÖ	1	1	5	4	1	0	80

3c.3.6.3.1 Ergebnisse der Gesundheitsuntersuchungen an Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen – Spätsommer bis Herbst 2016

Die Gesundheitsuntersuchung der aus Niederösterreich eingesandten Bienenprobe von Volk 3 ergab lichtmikroskopisch einen Befall mit *Nosema* spp. (eine molekularbiologische Artdifferenzierung erfolgte nicht) und einen Varroabefall von 4%. Eine Brutprobe zur Beurteilung des Varroa-Brutbefalles bzw. zur Untersuchung auf Brutkrankheiten stand nicht zur Verfügung.

3c.3.6.3.2 Ergebnisse der Rückstandsuntersuchung der Probe aus dem Vergiftungsverdachtsfall – Spätsommer bis Herbst 2016

In der eingesandten Bienenprobe waren Piperonylbutoxid und Propiconazol – jeweils in Spuren unter der Bestimmungsgrenze – nachweisbar. Alle anderen untersuchten Analyten waren nicht nachweisbar.

3c.3.7 Nachgewiesene Wirkstoffe und deren Häufigkeiten in den Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen der Jahre 2014 bis 2016

In Abbildung 3.95 sind die in den 194 untersuchten Proben (95 Bienenproben, 84 Bienenbrotproben, 9 Waben- und Mittelwandproben, 6 Pollenhöschchenproben) nachgewiesenen Analyten für die gesamte Projektlaufzeit nach ihrer Häufigkeit in absteigender Reihenfolge dargestellt. Zusätzlich ist ausgewiesen, ob die nachgewiesene Konzentration über oder gleich der Bestimmungsgrenze („>= BG“) oder im Bereich zwischen Bestimmungs- und Nachweisgrenze („< BG“) gelegen war. Die Summe aus beiden ergibt dann die Anzahl positiver Proben.

Die Angabe „< BG“ wurde vom Rückstandslabor für die Analyten Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil, Fipronilsulfon, Thiacloprid, TZMU, TZNG für alle 3 Jahre ausgewiesen, für die in Tabelle 3.16 gelisteten Analyten der Gruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi-Residue“ nur für das Jahr 2016. In den Jahren 2014 und 2015 war durch das Labor für die beiden letztgenannten Gruppen nur dann die Angabe eines positiven Rückstandsergebnisses erfolgt, wenn die Konzentration des Analyten gleich oder höher als die Bestimmungsgrenze war (>= BG). Konzentrationen zwischen Nachweis- und Bestimmungsgrenze (<BG) waren in diesen beiden Jahren

nicht berichtet worden, Dementsprechend sind in der Grafik in diesen beiden Jahren zu diesen Analytengruppen in den als positiv ausgewiesenen Proben keine Nachweise < BG enthalten – im Gegensatz zu 2016.

Der in Vergiftungsverdachtsfällen mit Abstand am häufigsten nachgewiesene Wirkstoff war Thiacloprid (42 x). Er war in 22 % der untersuchten Proben nachweisbar. Danach folgten tau-Fluvalinat (29 x), Piperonylbutoxid (25 x), Tebuconazol (22 x), Azoxystrobin (18 x), Biphenyl (16 x), Cyprodinil (14 x), Myclobutanil (11 x), Spiroxamin (10 x), lambda-Cyhalothrin (9 x), Chlorpyrifos-ethyl (8 x), Imidacloprid (8 x).

Zwischen den 3 Versuchsjahren zeigten sich Unterschiede im Spektrum und der Anzahl nachgewiesener Analyten (Abbildung 3.96). Die Gründe dafür sind unterschiedlich. Während für die in der EU-Richtlinie 2010/21/EU angeführten Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil, sowie für die Metaboliten Fipronilsulfon, TZNG, TZMU und auch für Thiacloprid in allen 3 Versuchsjahren in der Grafik alle positiven Werte über der Nachweisgrenze (NG = 0,0002 mg/kg) enthalten sind – in diesen Fällen war uns vom Labor bei positiven Nachweisen zwischen Nachweis- und Bestimmungsgrenze (BG = 0,001 mg/kg) das Ergebnis „<BG“ übermittelt worden –, war dies nur im Jahr 2016 bei den in der Tab 3.45 in den Gruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi-Residue“ angeführten Analyten der Fall. Für die Jahre 2014 und 2015 waren uns vom Labor für diese Analytengruppen nur Meßwerte von Rückstandskonzentrationen ab der Bestimmungsgrenze übermittelt worden. Dementsprechend sind in diesen Fällen auch keine Nachweise < BG in der Grafik enthalten.

Für die Jahre 2014 und 2015 sind als mögliche Ursachen für die Unterschiede in der Zahl positiver Proben auch die unterschiedlichen Witterungsbedingungen in Betracht zu ziehen. Im Frühjahr 2014 gab es kühles Wetter mit einer nur geringen Anzahl an Flugtagen und daraus resultierend eine geringere Wahrscheinlichkeit einer Exposition, als im wesentlich wärmeren Frühjahr 2015. Zusätzlich hat die untersuchte Matrix einen gewissen Einfluss auf die nachweisbaren Analyten. Zum Beispiel fanden sich 2015 durch die höhere Anzahl untersuchter Wachs-, Mittelwand und Wabenproben häufiger Rückstände des als Varroabekämpfung- und Pflanzenschutzmittel eingesetzten fettlöslichen Wirkstoffes tau-Fluvalinat als im Jahr 2014.

In Abbildung 3.96 wurden in der „EU Pesticides database“ für die Verwendung als Pflanzenschutzmittel als „not approved“ gelistete Analyten mit dem Zeichen # gekennzeichnet (<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN>).

Da aber manche dieser Stoffe auch als Biozide für verschiedene Verwendungszwecke eingesetzt wurden bzw. werden, kommen auch derartige nicht landwirtschaftliche Anwendungen als mögliche Quellen für die nachgewiesenen Rückstände in Betracht.

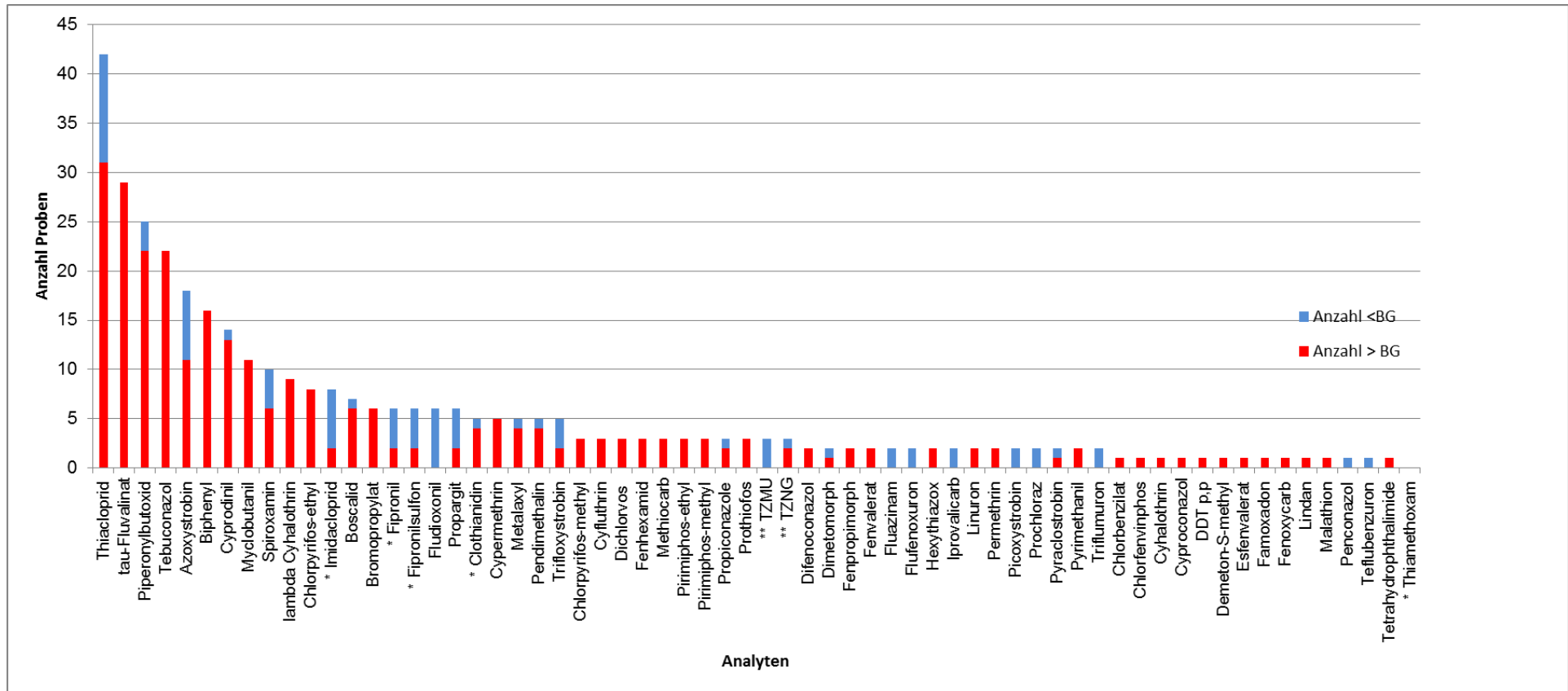


Abbildung 3.95: Nachgewiesene Analyten in Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen 2014-2016 (Gesamtzahl rückstandsanalytisch untersuchter Proben = 194: 95 Bienen-, 84 Bienenbrot-, 9 Waben- und Mittelwandproben, 6 Pollenhöschchenprobe)

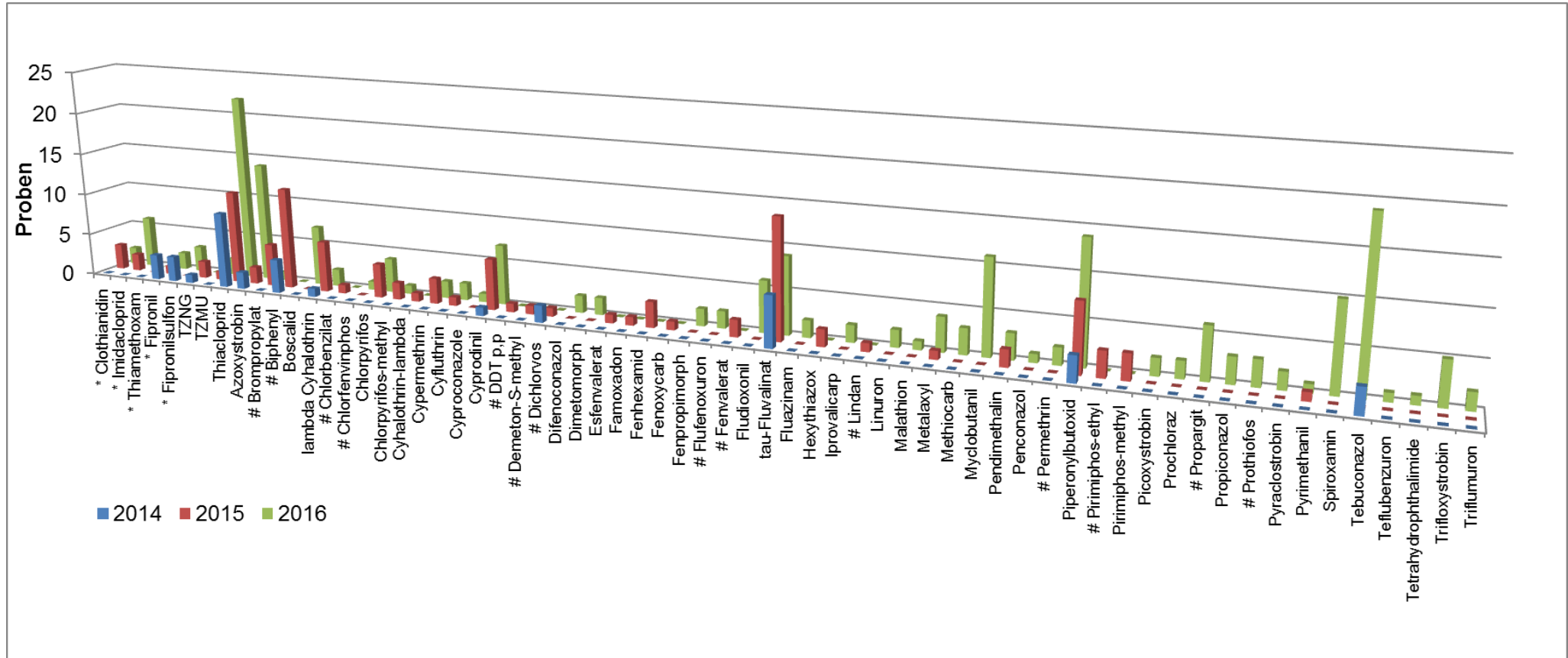


Abbildung 3.96: Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen an Bienen-, Bienenbrot-, Pollenhöschchen- und Wachsproben aus Fällen mit Vergiftungsverdacht 2014-2016 (* gelistet in RL 2010/21 EU; # in EU nicht als Pflanzenschutzmittel zugelassener Wirkstoff [einige davon sind aber Bestandteile von Bioziden oder Tierarzneimitteln]); Details zu Werten in Grafik siehe Text; Es sind nur Proben mit positivem Rückstandsnachweis [$> \text{NG}$] angeführt; Gesamtzahl rückstandsanalytisch untersuchter Proben = 194).

3c.3.8 Unterschiede im nachgewiesenen Analytenspektrum in den Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen 2014, 2015 und 2016 in Abhängigkeit von der untersuchten Matrix

Für die in der EU-Richtlinie 2010/21/EU angeführten Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam und Fipronil, sowie für die Metaboliten Fipronilsulfon, TZNG und TZMU wurden die Proben mit positivem Rückstandsnachweis (Nachweisgrenze = 0,0002 mg/kg) für die untersuchten Matrices aufgeschlüsselt (Tabelle 3.80). Insgesamt wurden 194 Proben untersucht.

Thiamethoxam war in keiner Probe nachweisbar. Die anderen genannten Analyten waren in Bienen-, Bienenbrot-, Waben- und Mittelwandproben vereinzelt nachweisbar. In den 6 untersuchten Proben von Pollenhöschchen aus Pollenfallen waren diese nicht nachweisbar

Tabelle 3.80: Ergebnisse der Untersuchungen in Vergiftungsverdachtsfällen 2014-2016 inklusive Frevelverdachtsfälle auf die in der Richtlinie 2010/21/EU angeführten Wirkstoffe nach untersuchter Matrix. (Fipronilsulfon ist ein Metabolit von Fipronil; TZNG und TZMU sind Metaboliten von Clothianidin.)

Material	Gesamtzahl untersuchte Proben	Anzahl Proben über Nachweisgrenze						
		Clothianidin	Imidacloprid	Thiamethoxam	Fipronil	Fipronilsulfon	TZNG	TZMU
Bienen	95	3	2	0	3	3	3	1
Bienenbrot	84	2	5	0	3	3	0	2
Waben, Mittelwände	9	0	1	0	0	0	0	0
Höschchenpollen	6	0	0	0	0	0	0	0
Summe	194	5	8	0	6	6	3	3
Anteil positiver Proben (%)		2,6	4,1	0	3,1	3,1	1,5	1,5

Abbildung 3.97 zeigt eine zusammenfassende Darstellung für die Matrices Bienen und Bienenbrot (in Summe 175 Proben).

Ausschließlich in Bienen nachweisbare insektizide oder insektizide und akarizide Wirkstoffe waren der Clothianidinmetabolit TZNG, Esfenvalerat, Fenoxycarb und die in der EU nicht als Pflanzenschutzmittel zugelassenen Wirkstoffe Demeton-S-methyl, Dichlorvos, Flufenoxuron und Pirimiphos-ethyl, sowie der von der EU genehmigte, aber in Österreich nicht als Pflanzenschutzmittel zugelassene Wirkstoff Triflumuron. Bei diesem Wirkstoff handelt es sich auch um einen Biozidwirkstoff, der zur Produktgruppe 18 (Insektizide, Akarizide und Produkte gegen andere Arthropoden) gehört. Der Wirkstoff Triflumuron ist jedoch für den Einsatz als Biozid nicht genehmigt, die entsprechende Durchführungsbeschluss der Kommission wurde am 29.09.2015 veröffentlicht (siehe Link: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32015D1736>). Aus diesem Beschluss geht leider nicht hervor, ob es für triflumuronhaltige Biozidprodukte, die zum Zeitpunkt der Veröffentlichung in Verkehr sind, Abverkaufs- und Aufbrauchsfristen gibt und wenn ja, wie lange diese sind. In 4 EU-Staaten (ES, HU, IT, PT) ist Triflumuron auch als Pflanzenschutzmittel zugelassen.

Ausschließlich in Bienenbrot nachweisbare insektizide Wirkstoffe waren lambda-Cyhalothrin, Chlorpyrifos-methyl, Malathion und die in der EU nicht als Pflanzenschutzmittel zugelassenen Wirkstoffe Bromopropylat, Chlorfenvinphos, Permethrin und Prothiofos.

Eine Reihe von anderen insektiziden bzw. akariziden Wirkstoffen war sowohl in toten oder geschädigten Bienen als auch im Bienenbrot nachweisbar. Dazu zählten Clothianidin, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon, der Clothianidinmetabolit TZMU, Thiacloprid, Chlorpyrifos-ethyl, Cypermethrin, Cyfluthrin, tau-Fluvalinat, Methiocarb, Piperonylbutoxid, Pirimiphos-methyl, Hexythiazox und die in der EU nicht als Pflanzenschutzmittel zugelassenen Wirkstoffe Biphenyl, Fenvalerat und Propargit. Da manche dieser Stoffe auch in Bioziden und Tierarzneimitteln verwendet werden können, ist für diese die Frage nach der tatsächlichen Expositionsquelle auf Basis der uns verfügbaren Informationen nicht eindeutig zu beantworten.

Bei den Fungiziden ist die Situation ähnlich. Bestimmte Wirkstoffe waren in einer größeren Zahl von Proben sowohl in toten oder geschädigten Bienen als auch in Bienenbrot nachweisbar (zum Beispiel: Azoxystrobin, Cyprodinil, Fludioxonil, Pendimethalin, Spiroxamin, Tebuconazol), andere ausschließlich in Bienenbrot (zum Beispiel: Boscalid, Myclobutanil, Trifloxystrobin). Einige Fungizide waren jeweils in wenigen Proben nur in toten oder geschädigten Bienen nachweisbar (zum Beispiel Metalaxyl, Cyproconazol, Famoxadon, Penconazol, Picoxystrobin, Propiconazol).

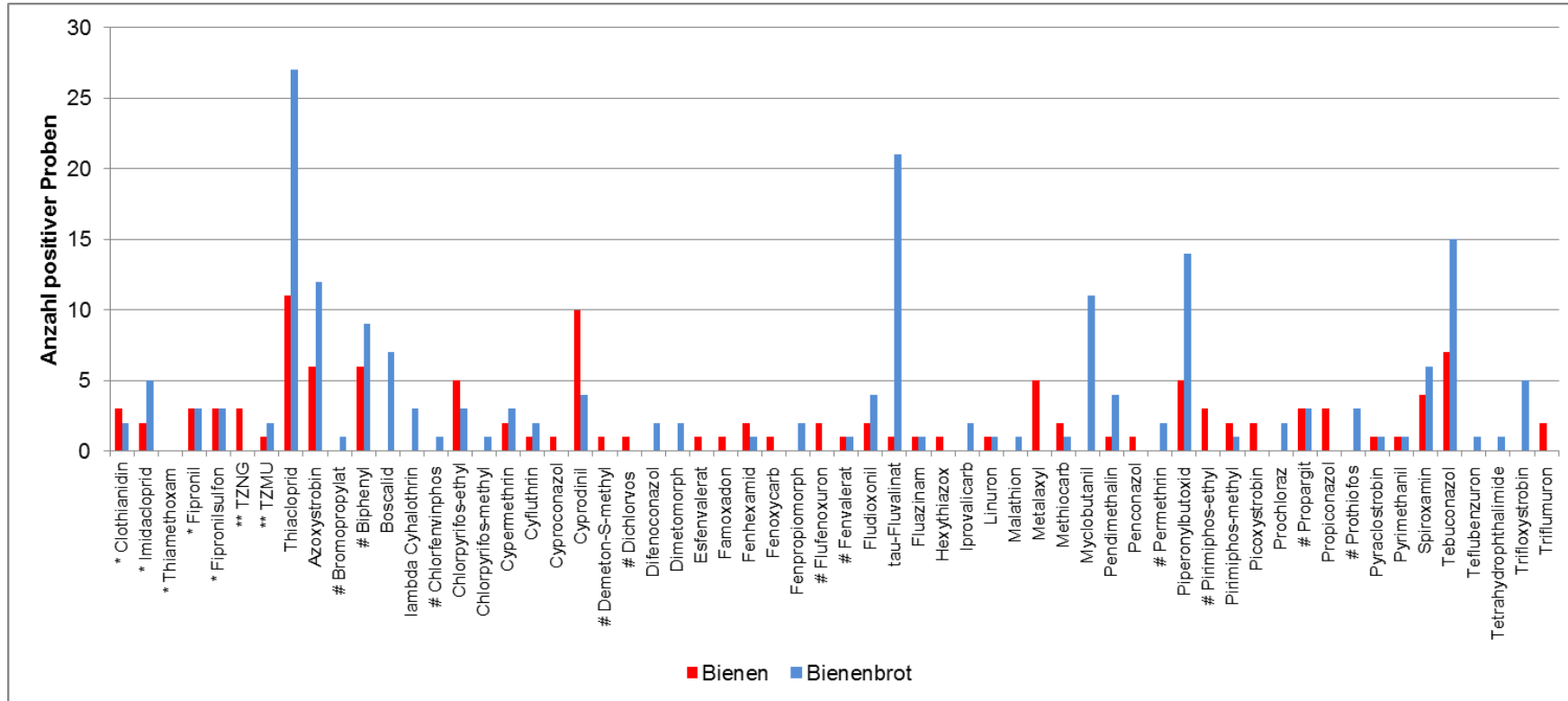


Abbildung 3.97: Rückstandsnachweise in Bienen- und Bienenbrot 2014-2016 (Anzahl untersuchter Proben = 179 (95 Bienen-, 84 Bienenbrotproben)).

3c.3.9 Exposition der mit Vergiftungsverdacht gemeldeten Bienenstände gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil

Gemäß Richtlinie 2010/21/EU haben die Mitgliedstaaten für die genannten Wirkstoffe sicherzustellen, dass erforderlichenfalls Überwachungsprogramme zur Überprüfung der tatsächlichen Exposition von Honigbienen gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Fipronil und Imidacloprid in von Bienen für die Futtersuche oder von Imkern genutzten Gebieten eingeleitet werden.

In der vorliegenden Arbeit wird für einen Bienenstand eine Exposition dann als gegeben erachtet, wenn einer oder mehrere der genannten Wirkstoffe (inklusive des Metaboliten Fipronilsulfon) in einer Probe des betreffenden Standes rückstandsanalytisch nachweisbar waren. Die Nachweisgrenze der verwendeten Methode lag bei 0,0002 mg/kg, die Bestimmungsgrenze bei 0,001 mg/kg.

Im Untersuchungszeitraum des Projektes „Zukunft Biene“ betrug der Anteil exponierter Bienenstände – jeweils bezogen auf die Gesamtzahl der mit Vergiftungsverdacht gemeldeten Bienenstände – 15% von 59 Ständen im Jahr 2014, 18% von 28 Ständen im Jahr 2015 und 19% von 36 Ständen im Jahr 2016 (Tabelle 3.81). Die Prozentangaben beziehen sich auf alle untersuchten Bienenstände aus Vergiftungsverdachts- und Frevelverdachtsfällen des betreffenden Jahres.

Im Mehrjahresvergleich der bisher in Österreich mit gleicher Methodik und bei gleicher Nachweisgrenze durchgeführten Untersuchungen auf Bienenständen mit Vergiftungsverdacht zeigt sich eine starke und signifikante Abnahme exponierter Bienenstände im Hinblick auf die in der Richtlinie 2010/21/EU genannten Wirkstoffe (Tabelle 3.81). Ausgehend von 93% exponierten Bienenständen im Jahr 2009 reduzierte sich dieser Anteil bis zum Jahr 2010 signifikant auf 71% (Chi^2 ; $P = 0,04$) und bis zu den Jahren 2011 und 2012 erneut signifikant auf 52% bzw. 51 % (Chi^2 ; $P = 0,01$). Ausgehend vom Niveau der Jahre 2011 und 2012 war für die Periode 2013-2016 eine neuerliche signifikante Reduktion (Chi^2 ; $P = 0,001$) des Anteiles exponierter Bienenstände zu beobachten (2013: 19%; 2014: 16%; 2015: 18%; 2016: 19%). Zeitlich fällt die Ausbildung dieser Plateauphase mit dem vollen Wirksamwerden des EU-Teilverbotes dieser Wirkstoffe in bestimmten Kulturarten zusammen.

Da – mit Ausnahme von Fipronil – die genannten Wirkstoffe in bestimmten Kulturarten weiterhin als Pflanzenschutzmittel für unterschiedliche Ausbringungsarten zugelassen sind, Imidacloprid, Clothianidin, Thiamethoxam und Fipronil in der EU auch genehmigte Wirkstoffe für Biozide sind, bzw. es in Österreich auch zugelassene Biozidprodukte mit derartigen Wirkstoffen gibt (zum Beispiel Ameisenbekämpfungsmittel mit Fipronil in Zuckerformulierung zum Streuen und Gießen im Freiland, bzw. als Gel „mit einer süßen Honigttau-Flüssigformel“, die auch außerhalb von Wohn- und Gewerbegebäuden genutzt werden darf), besteht für Bienen offenbar nach wie vor eine gewisse Exposition aus unterschiedlichen Quellen. Die Exposition gegenüber diesen Wirkstoffen ist jedoch wesentlich niedriger (Tabelle 3.81) als zu Zeiten der weit verbreiteten Verwendung von damit behandeltem Saatgut vor dem Inkrafttreten der Anwendungsbeschränkungen für bestimmte Kulturarten ab Ende November 2013 aufgrund von EU-Vorgaben.

Tabelle 3.81: Mit Vergiftungsverdacht gemeldete und auf Rückstände untersuchte Bienenstände und deren Status in Bezug auf eine Exposition gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil bzw. Fipronilsulfon. Da trotz kostenloser Untersuchung weder von allen Ständen, auf denen Vorfälle mit Vergiftungsverdacht beobachtet wurden, Meldungen abgegeben wurden, noch Daten zu der Zahl der Bienenstände in Österreich vorliegen, ist keine valide Relation der Anzahl der Vergiftungsverdachtsfälle zu der Gesamtzahl der Bienenstände möglich (Tabelle Seite 1: Anzahl der ImkerInnen und Bienenvölker Österreichs).

Projekt	Jahr	Anzahl (inklusive Frevelverdachtsfälle)				Signifikanz- Prüfung
		Exponiert	Nicht exponiert	Summe	%- exponiert	Chi ² -Test im Vergleich zum Vorjahr (df = 1)
MELISSA ¹	2009	25	2	27	93	-
	2010	66	27	93	71	Chi ² = 4.22 ; P = 0.040
	2011	71	66	137	52	Chi ² = 7.65 ; P = 0.006
Expositions- monitoring ^{2,3}	2012	21	20	41	51	Chi ² = 0.00 ; P = 1.000
	2013	14	60	74	19	Chi ² = 11.52 ; P = 0.001
Zukunft Biene	2014	9	49	58	16	Chi ² = 0,08; P = 0,779
	2015	5	23	28	18	Chi ² = 0.00 ; P = 1.000
	2016	7	29	36	19	Chi ² = 0.00 ; P = 1.000

¹ Girsch & Moosbeckhofer (2012), ² Girsch & Moosbeckhofer (2013),

³ Moosbeckhofer & Mayr (2014)

3c.4 Diskussion

In Österreich wurden gemeldete Fälle von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht seit dem Jahr 2009 systematisch erfasst und rückstandsanalytisch untersucht.

- 2009-2011: „Untersuchungen zum Auftreten von Bienenverlusten in Mais- und Rapsanbaugebieten Österreichs und möglicher Zusammenhänge mit Bienenkrankheiten und dem Einsatz von Pflanzenschutzmitteln“ (Akronym: MELISSA; Girsch und Moosbeckhofer (2012).
https://www.dafne.at/dafne_plus_homepage/download.php?t=ProjectReportAttachment&k=2661
- 2012: „Überwachungsprogramm zur Überprüfung der tatsächlichen Exposition von Honigbienen gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Fipronil und Imidacloprid in von Bienen für die Futtersuche oder von Imkern genutzten Gebieten“ (Akronym: CIFT-HOBIENEXPO; Girsch und Moosbeckhofer (2013).
https://www.ages.at/download/0/0/2acb00e8e0f7c6477a511b052482ab4985d771fb/fileadmin/AGES2015/Themen/Umwelt_Bilder/Bienen/Monitoringprojekt_Bienen_Abschlussbericht_2012.pdf (2013); „Untersuchungen zur Identifizierung einer möglichen Exposition von Honigbienen gegenüber den Wirkstoffen Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil unter Feldbedingungen“ (Akronym: Bienexpo 13; Moosbeckhofer und Mayr (2014).
https://www.ages.at/fileadmin/_migrated/content_uploads/v1-Abschlussbericht_Bienenexposition-Ueberwachungsprogramm_2013__Bienexpo_13_.pdf

Im Projekt „Zukunft Biene“ wurden im Modul 3c „Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen in gemeldeten Fällen von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht in den Jahren 2014-2016“ diese Untersuchungen fortgesetzt.

Im Gegensatz zu den Jahren 2009 bis 2012 ergab sich ab dem Jahr 2014 für die mögliche Exposition der Bienen gegenüber bestimmten Pflanzenschutzmitteln eine völlig neue Situation. Einerseits waren mit der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 485/2013 der Kommission vom 24. Mai 2013 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 540/2011 die Bedingungen für die Genehmigung der Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid geändert worden. Andererseits war ein Teilverbot der Anwendung und des Verkaufs von Saatgut, das mit diesen Pflanzenschutzmittelwirkstoffen behandelt worden war, in Kraft getreten. Auch für Fipronil waren Beschränkungen der EU-Kommission für die Verwendung und Aussaat von damit gebeiztem Saatgut mit 31.12.2013 in Kraft getreten (Durchführungsverordnung (EU) Nr. 781/2013 der Kommission vom 14. August 2013).

Im Hinblick auf eine Bewertung der Auswirkungen dieses in Österreich ab dem 1. Oktober 2013 für drei Jahre gültigen Teilverbots für bestimmte Wirkstoffe und Kulturarten sind die Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen des vorliegenden Monitorings aus dem Projekt „Zukunft Biene“ von besonderem Interesse. Einerseits erlauben sie in Vergiftungsverdachtsfällen eine Abschätzung der aktuellen Exposition unter Feldbedingungen, andererseits wird ein Vergleich mit der Situation vor Inkrafttreten dieser Maßnahmen möglich.

Im Jahr 2014 war das auffälligste Ergebnis des Bienen-Gesundheits- und Expositionsmonitorings in Vergiftungsverdachtsfällen (inklusive der Fälle mit Verdacht auf Bienenfrevel), dass die in der Richtlinie 2010/21/EU genannten Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid in den 81 untersuchten Proben nicht nachweisbar waren. Dies gilt sowohl für die Proben aus abgestorbenen Völkern der Überwinterungsperiode 2013/14 als auch für Proben aus geschädigten Völkern

im Zeitraum von der Auswinterung im Frühjahr 2014 bis zur Einwinterung im Spätsommer – Herbst 2014. Von den untersuchten Metaboliten waren der Hydroxy- und der Olefinmetabolit von Imidacloprid nicht nachweisbar, auch nicht der TZMU-Metabolit von Clothianidin. Der TZNG-Metabolit von Clothianidin war in Spuren (< BG) in einer Probe aus Winterverlusten 2013/14 nachweisbar. Fipronil und dessen Metabolit Fipronilsulfon waren in 3 Proben aus Winterverlusten 2013/2014 und in 2 Proben aus dem Zeitraum Frühjahr – Sommer 2014 in Spuren (< BG) nachweisbar.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ – diese umfasst die in 3c.2.3 „Material und Methode“ in Tabelle 3.45 und 3.46 unter „spezielle Analyten“ und Analyten der „Multi-Residue-Methode“ gelisteten Stoffe –, waren Thiacloprid, tau-Fluvalinat, Azoxystrobin, Tebuconazol, Biphenyl, Cyprodinil und Piperonylbutoxid in einer unterschiedlichen Anzahl von Bienen- bzw. Bienenbrotproben nachweisbar.

Im Jahr 2015 war Thiamethoxam in den 54 untersuchten Proben (Bienen, Bienenbrot, Mittelwände, Waben) aus gemeldeten Vergiftungsverdachtsfällen aus dem Zeitraum der Überwinterung 2014/15 bis zur Einwinterung im Spätsommer/Herbst 2015 nicht nachweisbar. In Einzelfällen nachweisbar waren Clothianidin (3 Proben: < BG bis 0,0094 mg/kg, Periode: Frühjahr-Sommer und Spätsommer/Herbst), Imidacloprid (2 Proben: < BG bis 0,018 mg/kg, Bienenbrot aus Spätsommer/Herbst bzw. Mittelwandprobe aus Frühjahr) und Fipronil (1 Probe: < BG, Bienenprobe aus Frühjahr-Sommer). Von den untersuchten Metaboliten waren der Hydroxy- und der Olefinmetabolit von Imidacloprid nicht nachweisbar, auch nicht der Metabolit Fipronilsulfon. Der TZNG-Metabolit von Clothianidin war in 2 Proben (0,002 mg/kg, 0,006 mg/kg) und der TZMU-Metabolit in 1 Probe in Spuren (< BG) nachweisbar.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vgl. Tabelle 3.45) war im Jahr 2015 eine größere Vielfalt an Wirkstoffen nachweisbar als im Jahr 2014. Dies könnte auf Unterschiede im Witterungsverlauf und Schädlingsaufkommen zwischen den beiden Untersuchungsjahren – bzw. den Wegfall bestimmter Neonicotinoide in einigen Kulturarten und deren erforderliche Substitution durch andere Wirkstoffe zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen –, zurückzuführen sein.

Hervorzuheben ist der Nachweis von Fenvalerat in einer Bienenprobe (0,04 mg/kg), da laut EU-Pesticides Database dieser Stoff gemäß Reg. (EC) No 1107/2009 den Status „not approved“ hat (http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance_detail&language=EN&selectedID=1218; Abfrage: 3.2.2016). Er findet sich auch nicht unter den von der EU für Biozide genehmigten Wirkstoffen in der Liste der ECHA.

Ein im Frühjahr 2015 aufgetretenes Sonderproblem war die gemeldete Schädigung von Bienenbrut durch Mittelwände, die mit bienengefährlichen Wirkstoffen kontaminiert waren. Die Mittelwände waren laut Auskunft des betroffenen Imkereibetriebes aus unterschiedlichen Chargen von eigenem, bzw. auch von zugekauftem Wachs, erzeugt worden. Die Vielfalt nachgewiesener Wirkstoffe weist auf unterschiedliche Kontaminationsquellen und auf unterschiedliche Zeitpunkte eines Stoffeintrages bzw. einer Stoffeinbringung hin. Zum Beispiel könnten Chlorbenzilat und Bromopropylat aus verarbeitetem rückstandsbelastetem Altwachs stammen, das durch früher zugelassene Mittel zur Bekämpfung der Tracheenmilbe (Folbex) bzw. der Varroamilbe (FolbexVA) kontaminiert worden war. Aufgrund ihrer Fettlöslichkeit bleiben diese Stoffe in Spuren im Wachs sehr lange erhalten (Wallner, 1999). Auch die Verarbeitung von damit kontaminiertem Importwachs zu Mittelwänden kommt als mögliche Ursache dieser Rückstände in Frage. Andere nachgewiesene Stoffe, wie Imidacloprid, Thiacloprid, lambda-Cyhalothrin, Chlorpyrifos-methyl und Piperonylbutoxid deuten auf jüngere Kontaminationen von Wachs und Waben hin. Diese könnten aus

Pflanzenschutzmittelanwendungen, aber auch aus der Anwendung ungeeigneter Biozide zur Schädlings- und Wachsmottenbekämpfung in Wabenlagerräumen stammen.

Aus mit den nachgewiesenen bienengefährlichen Wirkstoffen (Imidacloprid, lambda-Cyhalothrin, Chlorpyrifos-methyl) kontaminiertem Wachs hergestellte Mittelwände haben – in Abhängigkeit der Wirkstoffkonzentration im Wachs – mit hoher Wahrscheinlichkeit das Potential, auch Schäden an der Brut zu verursachen und die in diesem Fall in der Praxis beobachteten Symptome des Ausräumens größerer Brutflächen auszulösen.

Der in diesem Fall in einer Waben-Sammelprobe nachgewiesene Wirkstoff Cyhalothrin hat laut EU-Pesticides Database gemäß Reg. (EC) No 1107/2009 für Pflanzenschutzmittelanwendungen den Status „not approved“ (<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1218>; Abfrage: 4.2.2016). Er findet sich auch nicht auf der Liste zugelassener Biozidwirkstoffe der ECHA (<https://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/biocidal-active-substances>; Abfrage 15.2.2018). Bezüglich der Kontaminationsquelle ist in diesem Fall leider keine Aussage möglich, da die Gewinnungsjahre der für die Mittelwandherstellung verwendeten Wachschargen nicht bekannt sind und sich infolgedessen auch keine Rückschlüsse auf die damalige Zulassungssituation dieses Wirkstoffes zur Verwendung in Pflanzenschutzmitteln, Bioziden oder Tierarzneimitteln machen lassen.

Für die Überwinterungsperiode 2015/16 ergaben die Rückstandsanalysen von 3 Proben aus zwei Bienenständen mit gemeldetem Vergiftungsverdacht keinen Nachweis von Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam, Fipronil, Fipronilsulfon, sowie den Clothianidinmetaboliten TZNG und TZMU. Die angeführten Wirkstoffe scheiden damit als Ursache für die Winterverluste mit hoher Wahrscheinlichkeit aus.

Von anderen insektiziden Wirkstoffen waren in der Bienenbrot-Sammelprobe eines Standes Chlorpyrifos-ethyl, Chlorpyrifos-methyl und Malathion in einer Konzentration von je 0,01 mg/kg nachweisbar. Obwohl die gemessenen Konzentrationen für jeden dieser 3 Wirkstoffe deutlich unter der LD₅₀ lagen, kann deren Beteiligung an den Völkerverlusten auf diesem Stand nicht ausgeschlossen werden, da mit Sicherheit von einer höheren Anfangsbelastung zur Zeit des Polleneintrages im Herbst 2015 auszugehen ist. Außerdem fanden sich in derselben Sammelprobe noch eine Reihe weiterer Wirkstoffe über der Nachweisgrenze (Azoxytobin, Boscalid, Cyprodinil, tau-Fluvalinat, Pendimethalin, Piperonylbutoxid, Pyraclostrobin, Pyrimethanil, Spiroxamin, Tebuconazol, Trifloxystrobin), bzw. in Spuren unter der Nachweisgrenze (Thiacloprid, Fludioxonil, Prochloraz). Da Piperonylbutoxid als Synergist zusammen mit Pyrethrinen und synthetischen Pyrethroiden im Pflanzenschutz, aber auch in Biozidprodukten eingesetzt wird, ist dessen Nachweis ein indirektes Indiz für eine stattgefundene Exposition gegenüber Pyrethrinen und Pyrethroiden, auch wenn diese in der Probe nicht mehr nachweisbar waren. Eine mögliche Expositionsquelle könnten pyrethrinhaltige Pflanzenschutzmittel gewesen sein, die den Synergisten Piperonylbutoxid enthielten und im Obst-, Zierpflanzen- und Gemüsebau eingesetzt wurden. Die im Pflanzenschutzmittelverzeichnis gelisteten Vorratsschutzmittel mit diesen beiden Stoffen scheiden mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit als Kontaminationsquelle aus, da sie – aufgrund der Anwendung in geschlossenen Räumen oder Behältern – nicht mit Bienen in Berührung kommen können. Möglicherweise kamen auch im Ackerbau Pyrethroide zusammen mit dem Synergisten Piperonylbutoxid zum Einsatz. Eine Exposition gegenüber den genannten Stoffen durch den Einsatz von Biozidprodukten an für Bienen zugänglichen oder von Bienen beflogenen Stellen kommt ebenfalls in Frage.

In der Periode Frühjahr bis Sommer 2016 waren in den 55 untersuchten Proben aus Vergiftungsverdachtsfällen Thiamethoxam, der Clothianidinmetabolit TZNG, sowie die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefin-, Nitrosimin-Metabolit) in keiner Probe nachweisbar.

Auffällig war allerdings der einzige Nachweis von Clothianidin auf einem Bienenstand in der Steiermark in einer Sammelprobe geschädigter Bienen (0,0085 mg/kg) und einer Bienenbrotprobe (0,012 mg/kg). Die Bienenprobe enthielt weiters Spuren von Imidacloprid (< BG), die Bienenbrotprobe von Boscalid (< BG). In diesem Fall ist der aufgetretene Bienenschaden mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf die nachgewiesene Exposition mit den Wirkstoffen Clothianidin und Imidacloprid zurückzuführen.

Der Clothianidinmetabolit TZMU war in 2 Bienenbrotproben (Niederösterreich, Burgenland) in Spuren nachweisbar. Imidacloprid war in 2 Bienenproben (Steiermark, Burgenland) und 3 Bienenbrotproben (Ober-, Niederösterreich) nachweisbar.

Der ebenfalls zur Gruppe der Neonicotinoide gehörende Wirkstoff Thiacloprid war in 6 Bienen- und 15 Bienenbrotproben nachweisbar. Damit war dieses Insektizid sowohl 2016 als auch in Summe über alle 3 Projektjahre gerechnet, der am häufigsten nachgewiesene Wirkstoff in diesen zwei Matrices.

Beachtenswert ist der Nachweis von Fipronil bzw. dessen Metabolit Fipronilsulfon in Proben von 2 Bienenständen aus Oberösterreich: Stand 1 (Bienenprobe: Fipronil: 0,1 mg/kg; Fipronilsulfon: 0,055 mg/kg; Bienenbrotprobe: Fipronil: 0,014 mg/kg, Fipronilsulfon: < BG); Stand 2 (Bienenprobe:

Fipronilsulfon: 0,0028 mg/kg). Die gemessene Rückstandskonzentration in der Bienenprobe aus Stand 1 lag beim Zehnfachen der $LD_{50-contact}$, in der Bienenbrotprobe bei rund 30 % der oralen LD_{50} . In der Bienenprobe aus Stand 2 lag die Konzentration bei 50 % der LD_{50} für die orale Aufnahme von Fipronilsulfon. (Eine Kontakt- LD_{50} für Fipronilsulfon war nicht verfügbar.) Daraus ist der Schluss zu ziehen, dass in diesen beiden Fällen die aufgetretenen Bienenschäden mit Sicherheit auf die Einwirkung von Fipronil bzw. dessen Metaboliten Fipronilsulfon zurückzuführen waren. Besonders auffällig ist, dass am Stand 1 sowohl die Bienen als auch das Bienenbrot belastet waren, was als Hinweis für die Aufnahme einer fipronilhaltigen Lösung und für den gleichzeitigen Eintrag von fipronilbelastetem Pollen zu werten ist.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vergleiche Tabelle 3.45) waren eine Reihe unterschiedlicher Wirkstoffe nachweisbar. Darunter befanden sich auch die folgenden zwei, in der EU nicht zu Pflanzenschutz Zwecken zugelassenen Wirkstoffe:

- Das Akarizid Propargit (6 positive Proben: 3 Bienen-, 3 Bienenbrotproben von 6 Imkern aus 6 Bezirken der Bundesländer Nieder- und Oberösterreich). Ungeklärt ist die Frage der Art und möglichen Herkunft der Kontamination. Die positiven Nachweise in Bienenproben könnten durch Direktkontakt verursacht worden sein, jene im Bienenbrot sowohl durch Direktkontakt als auch durch damit kontaminierte Mittelwände bzw. Waben.

In der Literatur finden sich Angaben über positive Nachweise für Propargit in Wachswaben aus Belgien (Ravoet et al., 2015) und in Bienenbrotproben des aus dem Deutschen Bienenmonitoring (Rosenkranz et al., Berichte 2014 und 2015). Aus der Türkei gibt es dazu Angaben von Kurultay et al. (2016). Demnach wird Propargit manchmal zur Varroabekämpfung eingesetzt und fand sich in 11 von 57 untersuchten Wabenproben in einer Konzentration von über 50 µg/kg. Möglicherweise ist die aus Deutschland im Zusammenhang mit Wachsverfälschungen (Spiwok, 2016) bekannt gewordene Kontamination von Mittelwänden und Waben mit Propargit (Gann M., 2016) auf die Verwendung von Bienenwachs türkischer oder anderer Herkunft zur Mittelwandherstellung zurückzuführen.

- Das Insektizid und Akarizid Permethrin (2 positive Bienenbrotproben von 2 Imkern aus 2 Bezirken der Bundesländer NÖ und B). Da für das Insektizid und Akarizid Permethrin kein Einsatz in der Imkerei in Österreich bekannt ist, kommen als mögliche Kontaminationsquellen nur andere Verwendungen in Frage (Bekämpfung von Ektoparasiten bei Haustieren, Holzschutzmittel, Ausrüstung von Textilien, Biozidprodukte). Wie die Bienen damit in Kontakt gekommen sind, bleibt aber unklar. In Gebieten mit einem Vorkommen des Kleinen Bienenstockkäfers (*Aethina tumida*) wird dieser Wirkstoff in Form einer Bodenbehandlung zur Abtötung im Boden befindlicher Larven, Puppen und schlüpfender Jungkäfer eingesetzt (Baxter et al. 1999; Cuthbertson et al., 2013). Da in Österreich der Kleine Bienenstockkäfer noch nicht vorkommt, ist diese Einsatzart als Kontaminationsquelle auszuschließen.

Besonders hervorzuheben sind für das Jahr 2016 die positiven Nachweise für Chlorpyrifos-ethyl in zwei Bienenproben von zwei Bienenständen im Weinviertel (NÖ, Bezirk Mistelbach) mit schweren Bienenverlusten nach Pflanzenschutzmaßnahmen in blühendem Körnersenf. Die gemessene Konzentration von je 5 mg/kg entspricht der 10-fachen $LD_{50-Kontakt}$ (= 0,059 µg Aktivsubstanz/Biene; EU Pesticides Database).

In diesen beiden Fällen dürften nach den uns vorliegenden Informationen Restbestände an Spritzbrühe mit bienengefährlichem Wirkstoff aus einer vorangegangenen Anwendung in einer anderen Kultur (Engerlingsbekämpfung im Weinbau) im Spritzmitteltank verblieben und im Zuge der Folgeanwendung – zusammen mit Thiacloprid und dem Fungizid Cyprodinil – auf den blühen-

den Körnersenf ausgebracht worden sein. In den toten Bienen waren nur diese 3 Wirkstoffe nachweisbar. Der eingetretene Bienenschaden auf den betroffenen Ständen ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf diesen Anwenderfehler zurückzuführen.

Chlorpyrifos-ethyl war auch noch in einer Bienenbrotprobe aus dem Burgenland (Bezirk Oberpullendorf) nachweisbar (0,01 mg/kg).

Weitere, vereinzelt nachgewiesene insektizide Wirkstoffe waren in

- Bienenproben: Methiocarb (2 Proben) und der Synergist Piperonylbutoxid (2 Proben);
- Bienenbrotproben: Methiocarb (1 Probe), lambda-Cyhalothrin (2 Proben), Cypermethrin (2 Proben), Cyfluthrin (2 Proben), Chlorfenvinphos (1 Probe), tau-Fluvalinat (7 Proben), der Synergist Piperonylbutoxid (10 Proben) und das zu Beginn der Varroabekämpfung für einige Jahre in Form des zugelassenen Präparates FolbexVA eingesetzte Akarizid Bromopropylat (1 Probe).

Eine Reihe von Fungiziden war sowohl in Bienen- als auch in Bienenbrotproben nachweisbar.

Jene mit der größten Nachweishäufigkeit waren in

- Bienenproben Tebuconazol (5 Proben), Metalaxyl und Spiroxamin (je 5 Proben);
- in Bienenbrotproben Tebuconazol (13 Proben), Myclobutanil (11 Proben), Azoxystrobin (10 Proben).

Im Spätsommer-Herbst 2016 wurde nur ein Fall mit Vergiftungsverdacht gemeldet. In der eingesandten Bienenprobe waren Piperonylbutoxid und Propiconazol – jeweils in Spuren unter der Bestimmungsgrenze – nachweisbar. Der Nachweis des Synergisten Piperonylbutoxid deutet auf eine vorhergegangene Exposition der Bienen mit pyrethrum- oder pyrethroidhaltigen Pflanzenschutzmitteln oder Biozidprodukten hin. Der Varroabefall der Probe lag bei 4 % - und damit knapp unter dem Wert von 5%, ab dem mit einem drastischen Anstieg von Winterverlusten zu rechnen ist (Rosenkranz et al, 2014), Die aufgetretenen Völkerverluste und die Schwächung des einzigen verbliebenen Volkes dürften in diesem Fall mit hoher Wahrscheinlichkeit auf zu hohen Varroabefall zurückzuführen sein. Eine mögliche Beteiligung pyrethrum- oder pyrethroidhaltiger Pflanzenschutzmittel oder Biozidprodukte mit Piperonylbutoxid als Synergist, kann aber auch nicht völlig ausgeschlossen werden.

Nach wie vor unklar ist die Expositionsquelle für die vereinzelt positiven Nachweise von Fipronil bzw. dessen Metabolit Fipronilsulfon in Bienen oder Bienenbrot in den Jahren 2014 bis 2016. Fipronil wird nach wie vor in Bioziden (zum Beispiel als Gieß- und Streumittel gegen Ameisen) und als Tierarzneimittel (Floh-/Zeckenschutzmittel) eingesetzt. Auf eine diesbezügliche Nachfrage der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES bei den Imkereibetrieben mit positiven Rückstandsnachweisen verneinten diese, selbst fipronilhaltige Ameisenbekämpfungsmittel ausgebracht, bzw. derartige Ektoparasitika an Haustieren angewandt zu haben. Damit scheidet diese beiden Anwendungsformen als mögliche Expositionsquelle in den Imkereibetrieben selbst oder als Kontaminationsquelle bei den Probenahmen aus.

Fipronil wurde aber auch als Wirkstoff in Pflanzenschutzmitteln (Goldor Bait-Ködergranulat gegen Drahtwurm im Jahr 2015) eingesetzt. Da im Jahr 2014 das fipronilhaltige Ködergranulat zur Drahtwurmbekämpfung im Kartoffelanbau in Österreich nicht zugelassen war und ein Abgleich der Behörden zwischen Gebieten mit positiven Nachweisen im Jahr 2014 und Kartoffelanbaugebieten keine Übereinstimmung gezeigt hatte, scheidet diese Expositionsquelle mit hoher Wahrscheinlichkeit ebenfalls aus. Diese Einschätzung wird zusätzlich gestützt durch das Ergebnis eines zulassungsbegleitend im Jahr 2015 durchgeführten „Goldor Bait“-Bienenexpositionsmonitorings.

Dazu wurden in Kartoffelanbaugebieten mit Verwendung von Goldor Bait in den Bundesländern Niederösterreich und Burgenland auf 15 Bienenständen im Frühjahr nach dem Kartoffelanbau aus 61 Bienenvölkern und im Spätsommer/Herbst nach Abschluss der Kartoffelernte aus 64 Bienenvölkern Bienenbrotproben entnommen. Diese wurden standweise zu Sammelproben gepoolt und nach Perioden getrennt untersucht. In keiner der 30 untersuchten Sammelproben waren Rückstände von Fipronil oder dessen Metabolit Fipronilsulfon nachweisbar.

Im Jahr 2016 war in Österreich der Einsatz des fipronilhaltigen Pflanzenschutzmittels Goldor Bait nicht mehr zugelassen. Trotzdem waren in 5 Proben aus 2 verschiedenen Bienenständen mit Vergiftungsverdachtsmeldungen der Wirkstoff in je einer Bienen- und Bienenbrotprobe und der Metabolit Fipronilsulfon in zwei Bienen- und einer Bienenbrotprobe nachweisbar. Dieser Befund kann als Indiz für weitere Expositionsquellen gewertet werden die nicht im Pflanzenschutzbereich zu suchen sind. Dazu gehören alle Biodizidwendungen dieses Stoffes, speziell jene, bei denen zuckerhaltige Formulierungen im Streu- oder Gießverfahren oder in Kombination mit einer „süßen Honigtau-Flüssigformel“ (BASF, Produktinformation; http://www.pestcontrol.basf.de/agroportal/pc_de/de/professionelles_schaedlingsbekaempfung/produkte/insekten/fourmidor/fourmidor.html; Abfrage 23.6.2017) im Freien zur Ameisenbekämpfung ausgebracht werden. Ähnliche Schlussfolgerungen wurden auch in Deutschland gezogen, wo Fipronil in der Landwirtschaft nicht mehr zugelassen ist, in Vergiftungsverdachtsfällen aber fallweise nachgewiesen wurde (Spiewok, 2016).

Im Jahr 2014 wurde aus der Schweiz eine weitere mögliche Expositionsquelle für Fipronil bekannt. Hier war es durch den Einsatz von mit Fipronil verunreinigten Fungizidpräparaten in Obstbaugebieten zu Fällen von schweren Bienenschäden gekommen (Bauernzeitung, 2014). In Österreich gab es diesbezüglich jedoch keine vergleichbaren Schadensmeldungen.

Dieser Fall aus der Schweiz zeigt deutlich den Nutzen der Untersuchung von gemeldeten Vergiftungsverdachtsfällen auf. Ohne die Bienenschäden und die anschließende Abklärung der Ursachen wären die Fehler oder Mängel bei der Abfüllung der betroffenen Fungizidchargen, die zu dieser Kontamination mit Fipronil geführt hatten, nie entdeckt und dokumentiert worden. Gleiches gilt für die Ergebnisse des Projektes „Zukunft Biene“. Auch diese sollten dazu genutzt werden, im Freiland befindliche Expositionsquellen für Fipronil zu identifizieren und durch geeignete Vorsichtsmaßnahmen in Zukunft einen Kontakt der Bienen mit dem Wirkstoff oder den Eintrag fipronilhaltiger Zuckerlösungen zu verhindern. Zum Beispiel durch die ausschließliche Beschränkung des Einsatzes auf Innenräume, bzw. die Verwendung in bienensicheren Köderdosen zur Ameisenbekämpfung. Dabei ist es erforderlich, dass Bienen auch mit ausgestrecktem Rüssel keinen Kontakt zum zuckerhaltigen Ködermaterial herstellen können.

Nach wie vor unklar sind auch die Ursachen jener Vergiftungsverdachtsfälle, bei denen vor allem im Frühjahr – insbesondere im Raps – schlagartig schwere Flugbienenverluste und ein Rückgang der Volksstärke auftreten, ohne dass vor oder in den Stöcken ein erhöhter Bientotenfall vorkommt. In derartigen Fällen stehen keine geschädigten Bienen für Rückstandsuntersuchungen zur Verfügung und die Rückstandsuntersuchungen an Bienenbrotproben aus geschädigten Völkern liefern in der Regel keinen positiven Wirkstoffnachweis. Offenbar wird durch den Ausfall der Flugbienen kein kontaminierter Pollen eingetragen. Daher gibt es in diesen Fällen keine konkreten Anhaltspunkte über die Expositionsquelle und die Ursache der Bienenverluste.

Etwas besser ist die Lage beim beobachteten Auftreten von flugunfähigen „Krabblern“ unterhalb, bzw. auch in weiterem Umkreis um die Flugöffnungen der Bienenstöcke. Durch die meist vorhandene Vegetation in diesem Bereich sind diese Krabblern oft nur schwer zu sehen und sehr mühsam für Untersuchungszwecke einzusammeln. Die Rückstandsuntersuchungen in derartigen Fällen ergaben eine Kombination verschiedener Wirkstoffe in Bienen und Bienenbrot. Zum Beispiel

Imidacloprid + Methiocarb; verschiedene Fungizide + Piperonylbutoxid oder Thiacloprid + verschiedene Fungizide; Thiacloprid + verschiedene Fungizide + Piperonylbutoxid. In diesen Fällen ist nicht auszuschließen, dass es bei Anwesenheit von Piperonylbutoxid infolge einer gleichzeitigen Mehrfachexposition durch kontaminiertes Bienenbrot und über die Cuticula aufgenommene Wirkstoffe zu einer Überlastung bzw. Hemmung des Entgiftungssystems - der betroffenen Bienen kommt und als Folge dann die Flugunfähigkeit als Symptom auftritt. Flugunfähige Bienen sind für das Bienenvolk und den Imker mit toten Bienen gleichzusetzen, da sie weder zur Versorgung des Bienenvolkes mit Nektar und Pollen noch zur Honigernte des Imkers beitragen können. Johnson et al. (2006) konnten nachweisen, dass die Bienentoxizität der Pyrethroide Cyfluthrin, lambda-Cyhalothrin und tau-Fluvalinat durch den P450-Inhibitor Piperonylbutoxid (PBO) stark synergistisch gesteigert wurde. Weitere Labortests mit einer Reihe von Stoffen zeigten, dass die Bienentoxizität von tau-Fluvalinat durch 15 von 17 getesteten Stoffen erhöht wurde. Dazu gehörten auch Fungizide aus der Gruppe der Sterol-Biosynthesehemmer (SBI), zum Beispiel Prochloraz, Chlorothalonil, Boscalid und Pyraclostrobin (Johnson et al. (2013). Prochloraz, Boscalid und tau-Fluvalinat wurden beispielsweise auch in einigen Bienenbrotproben des Projektes Zukunft Biene nachgewiesen.

Dass eine synergistische Steigerung der Bienentoxizität auch durch aufeinanderfolgende Anwendungen von Varroabekämpfungsmitteln auftreten kann, konnte in Laborversuchen für Coumaphos und tau-Fluvalinat nachgewiesen werden (Johnson et al., 2009).

Die Problematik gesteigerter Bienentoxizität durch Tankmischungen aus bestimmten Pyrethroiden und SBI-Fungiziden ist auch aus der Praxis bekannt und wird in der Beratungspraxis berücksichtigt (Köppl, 2016.).

Ob ähnliche Effekte auch durch die häufig in Spuren nachweisbaren Rückstände von tau-Fluvalinat in Bienenbrot – 21 von 84 untersuchten Bienenbrotproben enthielten tau-Fluvalinat-Rückstände – und häufig gleichzeitig anwesende Rückstände von Fungiziden ausgelöst werden können, ist unklar, muss aber ebenfalls in Betracht gezogen werden. In den 95 untersuchten Bienenproben war nur in einer Probe tau-Fluvalinat nachweisbar. Da nach aufgetretenen Resistenzen der Varroamilbe Bekämpfungsmittel mit dem Wirkstoff tau-Fluvalinat (zum Beispiel Apistan) in der Imkerei praktisch nicht mehr eingesetzt werden, kommen als Quellen für die Kontamination des Bienenbrotes einerseits alte Wirkstoffreste im Bienenwachs in Frage, andererseits aber auch der Einsatz fluvalinathaltiger Pflanzenschutzmittel im Acker-, Gemüse- und Obstbau, wenn dabei blühende Pflanzen getroffen werden und dadurch der Pollen damit in Kontakt kommt.

Wird Piperonylbutoxid als Indikator für den Einsatz von Pyrethrinen oder Pyrethroiden gewertet, könnten die flugunfähigen Krabber auch auf den Einsatz dieser Wirkstoffe, bzw. deren synergistische Wirkung mit Azol-Fungiziden und dem Effekt einer daraus resultierenden bienentoxischen Wirkung, zurückzuführen sein. Unklar ist weiters, wie sich der gleichzeitige Konsum von mit Piperonylbutoxid, Azolfungiziden und Pyrethroiden kontaminiertem Bienenbrot auf die Ammenbienen und die daraus hervorgehenden Stock- und Sammelbienen und deren Leistungsfähigkeiten auswirken.

Iwasa et al. (2004) fanden bei Honigbienen in Laborversuchen eine beträchtliche synergistische Steigerung der Kontakttoxizität der Neonicotinoide Acetamiprid und Thiacloprid durch Piperonylbutoxid und Propiconazol.

Dass Thiacloprid das Sammel- und Heimfindeverhalten, die Navigationsleistung und die soziale Kommunikation bei Honigbienen (*Apis mellifera carnica*) beeinträchtigt und die Thiaclopridrückstände sowohl in Sammlerinnen als auch in Stockbienen mit der Zeit zunahm, zeigten Tison et

al. (2016). Dabei wurden die Bienen in Freilandversuchen über mehrere Wochen subletalen Dosen von Thiacloprid ausgesetzt.

Thiacloprid war in den mit Vergiftungsverdachtsfällen eingesandten Bienen- und Bienenbrotproben der Jahre 2014-2016 das am häufigsten nachgewiesene Insektizid. Das gleiche Ergebnis zeigten Rückstandsuntersuchungen im Zeitraum 2006-2014 im Deutschen Bienenmonitoring für Bienenbrot (Rosenkranz et al., 2015), bzw. im Zeitraum 2009-2014 in Bienenproben, die am Julius-Kühn-Institut untersucht worden waren (Bischoff et al., 2015)

Gesamt betrachtet zeigt der Mehrjahresvergleich über die Jahre 2009 bis 2016, dass sich für die Wirkstoffe Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam – im Gleichklang mit den gesetzten behördlichen Schritten zur Verbesserung der Beizqualität, den Auflagen und Beschränkungen für die Aussaat, der Einschränkung der Verwendung bis zum Teilverbot in bestimmten Kulturarten durch die EU –, der Anteil exponierter Bienenstände in gemeldeten Vergiftungsverdachtsfällen stufenweise und signifikant von anfänglich 93% auf nunmehr 16-19% in den drei Untersuchungsjahren des Projektes „Zukunft Biene“ reduziert hat. Das in Österreich – in erweiterter Umsetzung der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 485/2013 der Kommission vom 24. Mai 2013 – mit Beginn 1. Oktober 2013 für 3 Jahre geltende teilweise Verwendungsverbot für mit Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid gebeiztes Saatgut hat mit Sicherheit wesentlich zu diesem für die Imkereiwirtschaft wichtigen Ergebnis der Expositionsminderung für die drei genannten Stoffe beigetragen. Somit kann das vorliegende Endergebnis des Expositionsmonitorings 2014 bis 2016 als Indiz für die Wirksamkeit der bisher gesetzten Maßnahmen zur Reduktion der Exposition der Honigbienen gegenüber diesen Wirkstoffen gewertet werden.

Interessanterweise waren auch 2016 Fipronil und dessen Metabolit Fipronilsulfon in einer geringen Zahl an Proben – trotz des Wegfallens der Anwendung in der Landwirtschaft – nach wie vor nachweisbar. Offenbar kommen Bienen mit Expositionsquellen anderer Herkunft in Kontakt. An erster Stelle werden diesbezüglich Biozidanwendungen, wie zum Beispiel der Einsatz zuckerhaltiger Ameisenködermittel im Freiland, die im Streu- und Gießverfahren, bzw. als süße Honigtau Formulierungen eingesetzt werden, vermutet.

Bei der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – vgl. Tabelle 3.45) ist kein derartiger Mehrjahresvergleich möglich, da diese Wirkstoffe in den Jahren 2009-2013 nicht im Fokus standen und nicht mit gleicher Intensität und Analytenzahl untersucht wurden wie im Projekt „Zukunft Biene“.

Der Nachweis von Rückständen in den unterschiedlichen Matrices (toten oder geschädigten Bienen, Bienenbrot, Höschepollen, Wachs- und Waben) erlaubt tendenziell Rückschlüsse auf die mögliche Art und Herkunft der Exposition. Rückstände bei Bienen weisen auf einen Kontakt mit dem Wirkstoff während der Sammeltätigkeit hin (zum Beispiel durch wirkstoffbelasteten Staub, Spritz- oder Sprühnebel, Spritzbeläge; kontaminierten Nektar oder Honigtau bzw. Guttationswasser in der Honigblase; kontaminierten Pollen in den Pollenhöschchen der Hinterbeine; zuckerhaltige Ameisenköder), während Rückstände in Bienenbrot durch Eintrag und Einlagerung von kontaminiertem Pollen, bzw. durch Wirkstoffwanderung aus kontaminierten Waben in das darin eingelagerte Bienenbrot auftreten können.

Rückstände in Wachsproben (Mittelwände, Waben) treten als Folge des Einsatzes von Varroabekämpfungsmitteln im Bienenstock auf (z. B. tau-Fluvalinat, Coumaphos, Bromopropylat). Sie können aber auch durch Eintrag von außen entstehen, wenn die Bienen Kontakt mit entsprechenden Pflanzenschutzmitteln hatten und sich fettlösliche Wirkstoffe an der Bienenoberfläche anheften bzw. über kontaminierten Pollen in den Bienenstock eingetragen werden und sich dort an das Wabenwachs anheften oder in dieses einwandern. Über den Wachskreislauf (Wabe – Mittelwand – Wabe) und internationalen Wachshandel können solche Rückstände auch betriebs-

und länderübergreifend verbreitet werden und über zugekaufte Mittelwände in Imkereibetrieben auftauchen, die gar keinen Kontakt mit derartigen Stoffen hatten.

Von den genannten Stoffen waren vor einigen Jahren zugelassene Präparate zur Varroabekämpfung im Einsatz, die aufgrund der Fettlöslichkeit im Wachs sehr persistent sind (Wallner 1999) und über die Verarbeitung von Altwaben zu Mittelwänden über Jahre weitergeschleppt werden, bzw. über Importe von kontaminiertem Wachs ständig neu eingeschleust werden. Beispiele dafür wären Bromopropylat und tau-Fluvalinat. Da Letzteres auch eine aufrechte Zulassung als Pflanzenschutzmittel in einigen Kulturarten im Gemüse-, Obst- und Getreidebau hat, von denen manche auch stark von Bienen befliegen werden (Erdbeere, Raps), könnten die häufig in Bienenbrot nachgewiesenen Rückstände zum Teil auch daher stammen.

Hinsichtlich der Expositionsursache gesondert zu betrachten und zu bewerten sind die Fälle mit Verdacht auf Bienenfrevel, da es sich dabei nicht um einen Vergiftungsfall im Zusammenhang mit Pflanzenschutzmaßnahmen handelt. Vielmehr liegt eine boshafte Sachbeschädigung vor, mit dem Ziel, die Bienenvölker abzutöten. Wie die im Projekt „Zukunft Biene“ mit untersuchten Fälle von Bienenfrevel zeigten, kann es dadurch – wie bei den Winterverlusten – zum Absterben aller Völker des betroffenen Standes kommen. Dieses kann einerseits durch die absichtliche Einbringung bienengefährlicher Stoffe (zum Beispiel bienengefährliche Insektizide, aber auch anderer leicht flüchtiger Stoffe) erfolgen. Andererseits genügt schon ein Verschließen des Flugloches, um ein Bienenvolk zum Absterben zu bringen. Während im ersten Fall eine Rückstandsanalyse Aufklärung über die Todesursache bringen kann, ist im zweiten Fall eine Beurteilung nur anhand der vor Ort gemachten Beobachtungen und Indizien bei den Beuten möglich. Für die Bearbeitung und Aufklärung derartiger Fälle ist grundsätzlich die Polizei und die Staatsanwaltschaft zuständig. Erfahrungsgemäß kommt es in der Praxis dabei aber zu erheblichen Schwierigkeiten, sowohl was die Anzeige als auch die Beweissicherung und die Probenahmen und nachfolgenden Rückstandsuntersuchungen betrifft. Die Gründe dafür sind vielfältig und liegen einerseits im sozialen Umfeld der Beteiligten, andererseits aber auch in der meist geringen Schadenshöhe und fehlenden Verdächtigen. Mit Ausnahme eines Falles – der von der Polizei untersucht wurde –, wären die wenigen anderen, im Zuge des Projektes gemeldeten Fälle von Bienenfrevel von den zuständigen Behörden wegen der zu erwartenden Kosten rückstandsanalytisch nicht weiter untersucht worden.

Wie die vorliegenden Ergebnisse zum Gesundheits- und Expositionsmonitoring in gemeldeten Fällen von Vergiftungsverdacht für die Jahre 2014-2016 zeigen, traten Völkerverluste vorwiegend in der Überwinterungsperiode auf. Diese waren mit 62% für die Überwinterungsperiode 2013/14, 64% für die Überwinterungsperiode 2014/15 und 66% für die Überwinterungsperiode 2015/16 um ein Mehrfaches höher, als die für die gleichen Perioden im „Projekt Zukunft Biene“, Projektmodul 1 „Wintersterblichkeit“ mit Hilfe einer anonymen Befragung erhobenen Vergleichswerte von 12,8%, 28,4% und 8,1% (Brodschneider et al., 2016). Der Varroabefall der toten Bienen und in der Restbrut abgestorbener Völker war meist hoch und in den Brutzellen waren oft mehrere Muttermilben zu finden. Der Anteil rückstandsanalytisch positiver Proben war bei den gemeldeten Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht niedrig. So waren im Zeitraum 2014-2016 in keiner der 34 untersuchten Proben (Bienen, Bienenbrot) aus Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht die Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid nachweisbar, auch nicht der Clothianidin-Metabolit TZMU oder die untersuchten Imidacloprid-Metaboliten (Hydroxy-, Olefin-, Nitrosimin-Metabolit). Positive Nachweise bienengefährlicher Stoffe gab es in 2 Bienenproben für den Clothianidin-Metaboliten TZNG, in 3 Bienenbrotproben für Fipronil und Fipronilsulfon, in einer Bienenprobe für Cypermethrin, in ein und derselben Bienenbrotprobe für Chlorpyrifos-ethyl-, -methyl und Malathion und in einer Bienen- und 3 Bienenbrotproben für den Synergisten Piperonyl-

butoxid, der auf eine frühere Exposition mit pyrethrum- oder pyrethroidhaltigen Pflanzenschutzmitteln oder Biozidprodukten hinweist.

Die starken Unterschiede im Prozentsatz abgestorbener Wintervölker resultieren mit hoher Wahrscheinlichkeit aus den unterschiedlichen Zielen der Projektmodule 1 und 3. Einmal geht es darum, Winterverluste möglichst repräsentativ und flächendeckend über ganz Österreich zu erfassen. Das heißt, Imker – unabhängig von der Höhe der Winterverluste – sind aufgefordert, ihre Überwinterungsergebnisse in die Datenbank „Bienenstand.at“ – auf Wunsch auch anonym – einzumelden. Das andere Mal geht es um die Abklärung, ob aufgetretene Winterverluste durch Schädlings- bzw. Parasitenbefall verursacht wurden, oder auf die Einwirkung von bienenschädlichen Pestiziden (= vermuteter Vergiftungsverdacht) zurückzuführen sind.

Im Gegensatz zur Winterperiode wurde in den gemeldeten Vergiftungsverdachtsfällen in der aktiven Zeit des Bienenvolkes im Zeitraum zwischen der Auswinterung im Frühjahr und der Einwinterung im Spätsommer/Herbst von den betroffenen Imkern meist von einem zeitlich, mengenmäßig und örtlich begrenzten Verlust von Bienen, aber nur selten von Völkerverlusten berichtet. Die Rückstandsanalysen lieferten zu dieser Zeit wesentlich mehr positive Befunde als in der Winterperiode.

Diese Ergebnisse zeigen klar, dass Völkerverluste und Bienenschäden zu unterschiedlichen Zeitpunkten auftreten und auch unterschiedliche Ursachen haben können. Um eine Verbesserung der Situation für die Bienen zu erreichen, sind – je nach Ursache – auch unterschiedliche Ansätze zur Lösung der aufgetretenen Probleme erforderlich.

Bei den Winterverlusten liegen diese in einer Verbesserung der Wirksamkeit der Varroabekämpfung durch Hebung des Ausbildungsstandes der Imker, der Verfügbarkeit einfach und sicher anwendbarer Varroabekämpfungsmittel, die flächendeckend und gemeinschaftlich organisiert eingesetzt werden, bzw. in einer Kombination aus biotechnischen und medikamentösen Maßnahmen zur rechtzeitigen Befallsreduktion. Im Falle von Resistenzen der Varroamilbe gegenüber bestimmten Wirkstoffen von Varroabekämpfungsmitteln – in Diskussion stehen tau-Fluvalinat, Flumethrin, Coumaphos, Amitraz –, ist ein Resistenzmanagement beim Einsatz derartiger Präparate erforderlich. Auf den Gebrauchsanweisungen zugelassener Präparate finden sich dementsprechend bereits Warnhinweise, die auf eine eingeschränkte Wirkung im Falle von Resistenzen hinweisen und Resistenztests vor dem Einsatz dieser Präparate empfehlen. Realistisch betrachtet, kann ein Imkereibetrieb dieser Empfehlung aber nicht nachkommen, da er derartige Tests nicht selbst durchführen kann.

Bei den Bienenverlusten mit Vergiftungsverdacht im Frühjahr und Sommer sind diese an die dafür zuständigen Behörden (Polizei, Bezirkshauptmannschaft, Ämter der Landesregierung) zu melden und die gemeldeten Fälle von diesen rückstandsanalytisch abzuklären und bei positivem Befund umgehend die näheren Umstände der Exposition vor Ort zu erheben, um in Zukunft wirksame, expositionsmindernde Maßnahmen umsetzen zu können. Nur durch eine für Imker kostenfreie Untersuchung der Proben in Vergiftungsverdachtsfällen ist eine möglichst vollständige Meldung aller auftretenden Fälle zu erreichen. Aus Gründen der Vergleichbarkeit der Ergebnisse – sowohl was die Einzelfälle als auch die Fälle verschiedener Jahre betrifft –, wäre eine zentrale systematische Erfassung und die Durchführung der Rückstandsuntersuchungen nach vergleichbaren Standards und Kriterien hinsichtlich Nachweis-, Bestimmungsgrenzen und erfassten Analyten erforderlich, ebenso die bundesweite Bündelung der Ergebnisse in jährlichen Berichten. Wenn einzelne Imker die Proben privat und unkoordiniert in verschiedenen Rückstandslabors untersuchen lassen und dadurch die Daten öffentlichen Einrichtungen nicht zur Verfügung stehen, ist eine Verwendung der Ergebnisse für die Evaluierung einer Exposition der Bienen durch den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln und Biozidprodukten nicht möglich.

3c.5 Dank

Besonderer Dank gebührt allen Imkerinnen und Imkern, die durch die Meldung der Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht und die Teilnahme an diesem Modul des Projektes „Zukunft Biene“ dessen erfolgreiche Durchführung ermöglicht haben. Ohne deren Unterstützung durch Bereitstellung von Bienenvölkern und Probenmaterial, die Mitteilung ihrer Beobachtungen und die stete Bereitschaft, im Falle von Rückfragen die gestellten Fragen bestmöglich und geduldig zu beantworten, wäre es nicht möglich gewesen, die vorliegenden Ergebnisse zu erzielen.

Infobox – Übersicht untersuchter Proben (Bienen, Bienenbrot, Waben/Mittelwände, Pollenhöschen) der gemeldeten Fälle von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht in den Jahren 2014 bis 2016

Jahr	Periode	Untersuchte Matrix				Proben Gesamt	Davon Proben aus *Frevelverdachts- fällen
		Bienen	Bienen- brot	Waben/ Mittel- wände	Pollen- höschen		
2014	W 2013/14	3	8	0	0	11	1
	FS 2014	32	17	3	6	58	6
	H 2014	4	8	0	0	12	-
Summe 2014		39	33	3	6	81	7
2015	W 2014/15	11	9	0	0	20	-
	FS 2015	14	9	6	0	29	2
	H 2015	2	3	0	0	5	-
Summe 2015		27	21	6	0	54	2
2016	W 2015/16	1	2	0	0	3	-
	FS 2016	27	28	0	0	55	-
	H 2016	1	0	0	0	1	-
Summe 2016		29	30	0	0	59	
Gesamt		95	84	9	6	194	9

Legende: Periode W=Winter, FS=Frühjahr/Sommer, H=Herbst; * „Bienenfrevel“ = boshafte Sachbeschädigung.

Untersuchung gemeldeter Fälle von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht in den Jahren 2014-2016

Betroffene Imker meldeten derartige Fälle an die Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES. Dort erfolgte die Registrierung der eingesandten Proben und die Beauftragung der Rückstandsuntersuchung in einem externen Labor. Das Untersuchungsspektrum umfasste rund 300 verschiedene Stoffe. Bei gemeldeten Völkerverlusten mit Vergiftungsverdacht während der Überwinterungsperiode erfolgten an Bienen- bzw. Brutproben – sofern verfügbar – zusätzlich Untersuchungen auf einen Befall mit Brutkrankheiten, Varroamilben und Nosema. Da nicht in jedem gemeldeten Fall vom betroffenen Bienenstand geeignetes Bienenmaterial verfügbar war, bzw. in einigen wenigen Fällen Bienenkrankheiten als klare Ursache der Verluste identifiziert werden konnten, ist die Zahl untersuchter Stände kleiner als die Zahl gemeldeter Stände.

a) Ergebnisse 2014

Überwinterungsperiode 2013/14

Für 16 Stände wurden Völkerverluste mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Gesundheitsuntersuchungen an Bienenproben aus abgestorbenen Völkern wiesen keinen, bzw. einen niedrigen Varroabefall auf, die untersuchten Brutproben zum Teil einen sehr hohen Varroabefall (10-56% befallene Brutzellen). *Nosema ceranae* war vereinzelt nachweisbar. Auf 2 Ständen wurde ein Befall mit Amerikanischer Faulbrut festgestellt. Von 15 Bienenständen wurden 11 Proben rückstandsanalytisch untersucht. Fipronil bzw. Fipronilsulfon waren in Spuren in 3 Bienenbrotproben nachweisbar, der TZNG-Metabolit von Clothianidin in einer Probe. Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid, sowie der Hydroxy- bzw. Olefinmetabolit von Imidacloprid, oder Stoffe aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ waren in keiner Probe nachweisbar. In den zwei mit Frevelverdacht gemeldeten Fällen waren in einem Fall keine Rückstände nachweisbar, im anderen Fall war Varroose die Ursache der Winterverluste.

Frühjahr bis Sommer 2014

Für 34 Stände wurden Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Von 31 Ständen wurden 58 Proben auf Rückstände untersucht; 6 dieser Proben entstammten Frevelverdachtsproben. Fipronil beziehungsweise Fipronilsulfon waren in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze in 2 Bienenproben nachweisbar. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ waren Thiacloprid, Azoxystrobin, tau-Fluvalinat und Tebuconazol in einigen wenigen Proben nachweisbar. Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar, auch nicht die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefin-, Nitrosiminmetabolit) und von Clothianidin (TZNG, TZMU).

Von den in diesem Zeitraum gemeldeten 3 Bienenständen mit Frevelverdacht (= boshafte Sachbeschädigung) waren in einem Fall bei den untersuchten Wabenproben Rückstände von lambda-Cyhalothrin, Dichlorvos, Piperonylbutoxid und tau-Fluvalinat nachweisbar. Das plötzliche Absterben aller Völker auf diesem Stand war somit eindeutig auf die Einbringung bienentoxischer Wirkstoffe in die Völker zurückzuführen. In einem weiteren Fall waren keine Rückstände nachweisbar. Ein Fall wurde von den örtlich zuständigen Polizeibehörden selbst untersucht und mit einem positiven Ergebnis abgeschlossen.

Spätsommer – Herbst 2014

Für 11 Bienenstände wurden Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Gesundheitsuntersuchungen ergaben bei den 4 untersuchbaren Bienenproben einen Varroabefall von 0% bis 20% und einen hohen Varroabefall von bis zu 64% in der Restbrut abgestorbener Völker. Nosemasporen waren in einer Probe nachweisbar, Amerikanische Faulbrut war nicht nachweisbar. Von 9 Ständen wurden 12 Proben auf Rückstände untersucht. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (Details siehe Tab. 3.46) waren Thiacloprid, Biphenyl, Cyprodinil, tau-Fluvalinat, Piperonylbutoxid in einigen Proben nachweisbar. Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon und die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy- und Olefinmetabolit) und Clothianidin (TZMU, TZNG) waren in keiner Probe nachweisbar.

b) Ergebnisse 2015

Überwinterungsperiode 2014/15

Für 14 Bienenstände wurden Völkerverluste mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Gesundheitsuntersuchungen ergaben bei den 18 untersuchten Bienenproben einen Varroabefall von 0% bis 12% und bei den 11 auswertbaren Brutproben einen Anteil varroabefallener Brutzellen

zwischen 0% und 60% – mit häufigem Mehrfachbefall. Nosemasporen waren in 8 der 21 untersuchten Proben nachweisbar. Von 10 Ständen wurden 20 Sammelproben rückstandsanalytisch untersucht. TZNG, ein Metabolit von Clothianidin, war in einer Bienenprobe nachweisbar. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ konnten Thiacloprid, Biphenyl, Cypermethrin, Cyprodinil, tau-Fluvalinat und Piperonylbutoxid nachgewiesen werden. Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar.

Frühjahr bis Sommer 2015

Für 14 Stände wurden Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Von den 14 Ständen wurden 29 Proben auf Rückstände untersucht; davon waren 2 Proben aus einem Fall mit Verdacht auf Bienenfrevel. Clothianidin und dessen Metaboliten TZNG und TZMU waren in einer Bienenprobe nachweisbar. Fipronil war in Spuren in einer Bienenprobe nachweisbar. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (Details siehe Tab. 3.46) waren Thiacloprid, Azoxystrobin, Biphenyl, Chlorpyrifos-ethyl, Cyfluthrin, Cypermethrin, Cyprodinil, Demeton-S-methyl, Dichlorvos, Esfenvalerat, Famoxadon, Fenhexamid, Fenoxycarb, Fenvalerat, tau-Fluvalinat, Hexythiazox, Metalaxyl, Pendimethalin, Piperonylbutoxid, Pirimiphos-ethyl, Pirimiphos-methyl und Pyrimethanil in jeweils geringen Häufigkeiten nachweisbar. Thiamethoxam, Imidacloprid Fipronilsulfon sowie der Hydroxy, Olefin- oder Nitrosiminmetabolit von Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar.

Als Sonderfall wurden erstmals im Projekt Brutschäden nach Vergiftungsverdacht durch kontaminierte Mittelwände gemeldet. Die Rückstandsanalysen von Wachs- und Wabenproben ergaben positive Nachweise für eine Reihe unterschiedlicher Wirkstoffe, darunter auch bienengefährliche (Imidacloprid, lambda-Cyhalothrin, Cyhalothrin, Chlorpyrifos-methyl, Lindan). Ein Zusammenhang der Brutauffälle mit den Wachskontaminationen kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

In dem einen Fall mit Verdacht auf Bienenfrevel war die Brutprobe ohne Symptome von Amerikanischer Faulbrut und in der Bienenprobe waren weder Varroamilben noch Nosemasporen nachweisbar. Auch Symptome des Deformed Wing Virus (Flügeldeformations-Virus, DWV) waren nicht feststellbar. Die Rückstandsuntersuchung der Bienenprobe ergab – neben Rückständen von Chlorpyrifos-ethyl, Cypermethrin und Cyfluthrin – eine auffällig hohe Konzentration des Synergisten Piperonylbutoxid. In der Wabenprobe waren Rückstände von Thiacloprid zu finden. Das plötzliche und unerwartete Absterben aller Bienenvölker des betroffenen Bienenstandes ist aufgrund dieses Ergebnisses mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf die Einbringung der nachgewiesenen bienentoxischen Wirkstoffe in die Bienenvölker zurückzuführen.

Spätsommer – Herbst 2015

Für 3 Bienenstände wurden Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. In den 5 untersuchten Proben war Clothianidin in 2 Proben aus zwei verschiedenen Bienenständen nachweisbar; auf einem dieser Stände zusätzlich auch Imidacloprid. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (Details siehe Tab. 3.46) waren lambda-Cyhalothrin, Biphenyl, Fenvalerat und Pirimiphos-methyl nachweisbar. Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar.

c) Ergebnisse 2016

Überwinterungsperiode 2015/16

Für 7 Bienenstände wurden Völkerverluste mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Gesundheitsuntersuchungen ergaben für die 7 untersuchten Bienenproben einen Varroabefall zwischen 0% und 23%. In den 2 auf Varroa auswertbaren Brutproben wurde ein Anteil von 12% bzw. 25%

befallener Zellen ermittelt. Nosemasporen waren in keiner Probe nachweisbar. Brutproben wurden von 4 Ständen auf Amerikanische Faulbrut untersucht; davon war 1 Stand positiv. Rückstandsuntersuchungen wurden an 3 Proben von 2 Ständen eines Betriebes durchgeführt. In den Bienenbrotproben eines Standes war eine größere Zahl von Wirkstoffen nachweisbar, darunter auch bienengefährliche Insektizide (Chlorpyrifos-ethyl, Chlorpyrifos-methyl, Malathion), Tetrahydrophthalimid, sowie weitere Wirkstoffe (Thiacloprid, verschiedene Fungizide und der Synergist Piperonylbutoxid). Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon, sowie die Clothianidinmetaboliten TZNG und TZMU und die Imidacloprid-metaboliten (Hydroxy, Olefin-, Nitrosimin-Metabolit) waren in keiner Probe nachweisbar.

Frühjahr bis Sommer 2016

Für 39 Bienenstände wurden Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Von 33 Ständen wurden 55 Proben rückstandsanalytisch untersucht. Clothianidin war auf einem Stand sowohl in der Bienen als auch der Bienenbrotprobe nachweisbar. Die Bienenprobe enthielt auch noch Spuren von Imidacloprid, die Bienenbrotprobe von Boscalid. Der Clothianidinmetabolit TZMU war in 2 Bienenbrotproben in Spuren nachweisbar, Imidacloprid in 2 Bienen- und 3 Bienenbrotproben. Der ebenfalls zur Gruppe der Neonicotinoide gehörende Wirkstoff Thiacloprid war in 6 Bienen- und 15 Bienenbrotproben nachweisbar. Fipronil bzw. dessen Metabolit Fipronilsulfon wurde in Proben von 2 Bienenständen nachgewiesen. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (Details siehe Tab. 3.46) waren verschiedene insektizide und akarizide Wirkstoffe in unterschiedlicher Häufigkeit nachweisbar: Bienenproben: Chlorpyrifos-ethyl, Methiocarb und der Synergist Piperonylbutoxid. Bienenbrotproben: Methiocarb, lambda-Cyhalothrin, Cypermethrin, Cyfluthrin, Chlorfenvinphos, tau-Fluvalinat, der Synergist Piperonylbutoxid und Bromopropylat. Daneben konnten in Bienen- und Bienenbrotproben verschiedene Fungizide sowie auf einem Stand der Herbizidwirkstoff Linuron nachgewiesen werden.

Weiters wurden zwei in der EU nicht für Pflanzenschutz Zwecke zugelassene Wirkstoffe nachgewiesen. Das Akarizid Propargit in 6 Proben (3 Bienen-, 3 Bienenbrotproben) von verschiedenen Ständen, sowie das Insektizid Permethrin in 2 Bienenbrotproben. Bezüglich möglicher Expositionsquellen gibt es für Propargit Literaturberichte über Funde in Wabenwachs (Belgien) und Bienenbrot (Deutschland), sowie den fallweisen Einsatz zur Varroabekämpfung (Türkei). Möglicherweise wurde auch kontaminiertes Importwachs zu Mittelwänden verarbeitet. Permethrin findet Verwendung zur Bekämpfung von Ektoparasiten bei Haustieren, in Holzschutzmitteln, bei der Ausrüstung von Textilien und in Biozidprodukten.

Thiamethoxam, der Clothianidinmetabolit TZNG und die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefin-, Nitrosimin-Metabolit) waren in keiner Probe nachweisbar.

Spätsommer – Herbst 2016

Für einen Bienenstand wurde ein Bienenschaden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Gesundheitsuntersuchung ergab in der Bienenprobe einen Befall mit *Nosema* spp. und einen Varroabefall von 4%. Die Rückstandsuntersuchung dieser Probe ergab einen positiven Nachweis für den Synergisten Piperonylbutoxid und Propiconazol im Spurenbereich.

3c.6 Zusammenfassung

Im Rahmen des vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft beauftragten Projektes „Zukunft Biene“ wurden in den Jahren 2014 bis 2016 in gemeldeten Fällen von Völkerverlusten und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht Untersuchungen zur Überprüfung der tatsächlichen Exposition von Honigbienen gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil in von Bienen für die Futtersuche oder von Imkern genutzten Gebieten durchgeführt, um die Anforderungen gemäß Richtlinie 2010/21/EU (2010) abzudecken. Um weitere mögliche Faktoren für Bienenschäden und Völkerverluste zu erfassen, erfolgten Rückstandsuntersuchungen auf ausgewählte Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefin-, Nitrosimin-Metabolit) und Clothianidin (TZMU- und TZNG-Metabolit), sowie auf „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – siehe Tabellen 3.45, 3.46). Insgesamt wurden rund 300 Analyten erfasst.

Die Rückstandsuntersuchungen von Bienen-, Bienenbrot- und Pollenhöschchenproben erfolgten durch das Labor PTRL Europe GmbH, Ulm, Deutschland. Nachweis- (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG): Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil, Fipronilsulfon, Imidacloprid-Hydroxy- und -Olefinmetabolit, TZMU- und TZNG-Metabolit von Clothianidin, Thiacloprid: NG: 0,0002 mg/kg, BG: 0,001 mg/kg; „sonstige Pestizide“: NG: 0,002 mg/kg; BG: 0,01 mg/kg.

In Fällen von Winter- und Spätsommer/Herbstverlusten von Bienenvölkern mit Vergiftungsverdacht, bzw. in Fällen von Bienenfrevell, erfolgten zusätzliche Gesundheitsuntersuchungen auf *Varroa destructor*, *Nosema* spp. und *Paenibacillus larvae* (Amerikanische Faulbrut). Die Gesundheitsuntersuchungen wurden an der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz des Instituts für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen der AGES durchgeführt. Eindeutige Fälle von Winterverlusten durch Varroose (über 10% Bienen- oder Brutbefall bei toten Wintervölkern, Mehrfachbefall von Brutzellen, Symptome des Deformed Wing Virus) wurden gemäß Projektplan rückstandsanalytisch nicht weiter untersucht.

ImkerInnen meldeten Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht an die AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz. Die Bienen-, Bienenbrot- und Pollenhöschchenproben wurden von ImkerInnen, bzw. zum Teil auch von MitarbeiterInnen der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz, entnommen.

Für die Überwinterungsperiode 2013/2014 wurden aus den Bundesländern Burgenland, Nieder- und Oberösterreich von 9 Betrieben für insgesamt 16 Bienenstände Völkerverluste mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Von insgesamt 335 eingewinterten Bienenvölkern waren bei der Auswinterung 208 Völker abgestorben (= 62%), 54 Völker geschwächt und 73 Völker normal. Symptome: tote oder geschwächte Wintervölker, Stöcke bienenleer bzw. erhöhter bis sehr hoher Wintertotenfall, tote Bienen mit verkrampftem Körper, vereinzelt tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel.

- Gesundheitsuntersuchungen: Die untersuchten Bienenproben wiesen keinen, bzw. einen niedrigen Varroabefall (1-7%) auf. *Nosema ceranae* war in 3 Proben nachweisbar. Die untersuchten Brutproben aus abgestorbenen Völkern zeigten zum Teil einen sehr hohen Varroabefall (Anteil befallener Brutzellen: 10-56%). Auf 2 Ständen wurde bei 7 Völkern ein Befall mit Amerikanischer Faulbrut festgestellt. Bei diesen Völkern war mit hoher Wahrscheinlichkeit der zu hohe Varroabefall bzw. die Amerikanische Faulbrut die Ursache für die beobachteten Winterverluste. Gemäß Bienenseuchengesetz wurde der positive Nachweis von *Paenibacillus larvae* der zuständigen Bezirksverwaltungsbehörde gemeldet.

- Rückstandsuntersuchungen: Von 15 Bienenständen wurden 11 Proben (2 Bienen-, 9 Bienenbrotproben) untersucht. Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar. Der TZNG-Metabolit von Clothianidin war in einer Bienenprobe in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze nachweisbar. Der Hydroxy- bzw. Olefinmetabolit von Imidacloprid, sowie der TZMU Metabolit von Clothianidin waren nicht nachweisbar. Von Fipronil bzw. Fipronilsulfon waren Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze in 3 Bienenbrot-Sammelproben aus abgestorbenen Wintervölkern nachweisbar. „Sonstige Pestizide“ waren in keiner Probe nachweisbar.

Vom Frühjahr bis Sommer 2014 wurden von 30 Betrieben (Burgenland, Kärnten, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark, Wien, Tirol, Vorarlberg) für insgesamt 34 Stände mehr oder weniger lang anhaltende Bienenschäden unterschiedlicher Ausprägung mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Symptome: plötzlicher starker Flugbienenverlust, Rückgang der Volksstärke bzw. des Bienenbesatzes im Honigraum, erhöhter Bientotenfall, flugunfähige Krabber, tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel, verkrampftem Körper, Verhaltensstörungen (Zittern, Torkeln, Hüpfen), Austrag toter Brut und tote Pollensammlerinnen.

- Rückstandsuntersuchungen: Es wurden 58 Proben (32 Bienen-, 17 Bienenbrot-, 6 Höschchenpollen-Proben aus Pollenfallensammlungen und 3 Wabenproben) auf Rückstände untersucht. Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar, auch nicht die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefin-, Nitrosiminmetabolit) und von Clothianidin (TZNG, TZMU). Fipronil bzw. Fipronilsulfon waren in Spuren unterhalb der Bestimmungsgrenze in 2 Bienenproben nachweisbar. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ waren Thiacloprid, Azoxystrobin, tau-Fluvalinat und Tebuconazol in einigen wenigen Proben nachweisbar. In den in Tirol mit Pollenfallen gesammelten Höschchenpollenproben waren keine Rückstände nachweisbar.

Spätsommer – Herbst 2014: 10 Betriebe aus 6 Bundesländern meldeten für 11 Bienenstände Völkerverluste (= abgestorbene Völker) und Bienenschäden (= geschwächte Völker) mit Vergiftungsverdacht. Auf diesen Bienenständen waren von insgesamt 406 eingewinterten Bienenvölkern bis Ende Oktober 2014 schon 292 Völker (= 72%) abgestorben. Die Verlustraten auf den Einzelständen schwankten zwischen 0% und 100%.

- Gesundheitsuntersuchungen: Amerikanische Faulbrut war in keiner Brutprobe nachweisbar. Bei den 4 untersuchbaren Bienenproben lag der Varroabefall zwischen 0% und 20%. Nosemasporen waren in einer Probe nachweisbar. Bei der Mehrzahl der Betriebe und Stände wurde ein hoher Varroabefall in der Restbrut der abgestorbenen Völker festgestellt – vielfach mit Mehrfachbefall. Die höchsten Werte und das Maximum von 64% wurden in dem Betrieb mit den höchsten Völkerausfällen ermittelt.
- Rückstandsuntersuchungen: Von 9 Ständen wurden 12 Proben (4 Bienen-, 8 Bienenbrotproben) auf Rückstände untersucht. Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar. Dies gilt auch für die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy- und Olefinmetabolit) und Clothianidin (TZMU, TZNG). Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ waren Thiacloprid, Biphenyl, Cyprodinil, tau-Fluvalinat, Piperonylbutoxid in einigen Proben nachweisbar.

Bienenschäden mit Frevelverdacht (= boshafte Sachbeschädigung) wurden 2014 von 4 Betrieben aus Steiermark, Wien, Niederösterreich und Tirol gemeldet. Im Projekt nicht weiter bearbeitet wurden der Fall aus Tirol (die dortigen Behörden führten selbst Untersuchungen durch), und der aus Wien gemeldete Frevelverdachtsfall, bei dem Varroose als Ursache für den Völkerverlust ermittelt worden war.

Die Symptome reichten vom Absterben eines Teils der am Bienenstand befindlichen Völker während der Überwinterung 2013/14 bzw. im Frühjahr 2014, bis zum plötzlichen Totalverlust aller 23 Völker auf einem Bienenstand in Niederösterreich zur Zeit der Kirschblüte 2014.

- Gesundheitsuntersuchungen: Amerikanische Faulbrut war nicht nachweisbar. Im Frevelverdachtsfall aus Wien wurde Varroose als Ursache für die Völkerverluste festgestellt und es erfolgten keine Rückstandsuntersuchungen. Der Varroabefall in den verfügbaren Brutproben aus der Steiermark lag bei 2% bis 4%. Im Fall aus Niederösterreich waren in einem Teil der Bienenproben Nosemasporen nachweisbar, aber keine Varroamilben. In den 2 untersuchten Brutproben betrug der Varroabefall 2% und 6%.
- Rückstandsuntersuchungen: In den zwei aus dem Frevelverdachtsfall in der Steiermark untersuchten Bienenproben waren keine Rückstände nachweisbar. Im Frevelverdachtsfall aus Niederösterreich hatte ein an der AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz, gleich im Anschluss an den Schadensfall durchgeführter Biotest mit Wabenstücken aus abgestorbenen Völkern den klaren Nachweis von bienentoxischen Wirkstoffen auf den Waben erbracht, was zum Absterben der Testbienen führte. Bei 3 untersuchten Wabenproben waren dann Rückstände von lambda-Cyhalothrin, Dichlorvos, Piperonylbutoxid und tau-Fluvalinat nachweisbar. Das plötzliche Absterben aller Völker auf diesem Stand war somit eindeutig auf die Einbringung bienentoxischer Wirkstoffe in die Völker zurückzuführen.

Überwinterungsperiode 2014/2015: Von 9 Imkereibetrieben wurde für 14 Bienenstände Vergiftungsverdacht aus Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark und Kärnten gemeldet. Von den 278 auf diesen Ständen befindlichen Völkern waren im Verlauf der Überwinterung 180 Völker abgestorben (= 64,7%). 61 Völker waren bei der Auswinterung schwach und nur 37 von normaler Volksstärke. Von dem mit 4 Ständen am schwersten betroffenen Betrieb in Kärnten war kein geeignetes Probenmaterial für Gesundheits- und Rückstandsuntersuchungen verfügbar, daher konnten in diesem Fall keine Untersuchungen durchgeführt werden.

Mit Ausnahme eines Falles aus Oberösterreich waren die Symptome ähnlich wie in den Vorjahren.

- Gesundheitsuntersuchungen: Der Varroabefall an Bienen lag in den 18 untersuchten Proben zwischen 0% und 12%. Nosemasporen waren in 8 der 21 untersuchten Proben nachweisbar. Die PCR-Untersuchung an 6 positiven Proben ergab die Art *N. ceranae*. In den untersuchten Brutproben aus Winterverlusten war Amerikanische Faulbrut nicht nachweisbar. In den 11 auswertbaren Brutproben lag der Prozentsatz varroabefallener Brutzellen zwischen 0% und 60% – mit häufigem Mehrfachbefall.
- Rückstandsuntersuchungen: Von 8 Imkern mit 10 Ständen wurden 20 Sammelproben (11 Bienenproben, 9 Bienenbrotproben) untersucht. Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar. TZNG, ein Metabolit von Clothianidin, war in einer Bienenprobe nachweisbar. An sonstigen Wirkstoffen konnten Thiocloprid, Biphenyl, Cypermethrin, Cyprodinil, tau-Fluvalinat und Piperonylbutoxid nachgewiesen werden. Die hohe Konzentration des Synergisten Piperonylbutoxid (10 mg/kg) – in Kombination mit Cypermethrin (0,01mg/kg) –, könnte in einem Fall mit auffällig hohem Bienentotenfall bei allen Völkern des Standes auf einen Bienenfrevel zurückzuführen sein. Die anderen auf diesem Bienenstand in Bienen und Bienenbrot nachgewiesenen Wirkstoffe (Biphenyl, Cyprodinil, tau-Fluvalinat) dürften beim aufgetretenen Bienenschaden eine eher untergeordnete Rolle gespielt haben.

Frühjahr bis Sommer 2015: Von 14 Imkereibetrieben aus den Bundesländern Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark und Vorarlberg wurden für insgesamt 14 Bienenstände Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Symptome glichen zu dieser Zeit wieder jenen der Vorjahre.

- Rückstandsuntersuchungen: 29 Proben (14 Bienen-, 9 Bienenbrot-, 6 Waben- bzw. Mittelwandproben) aus den 14 Ständen wurden auf Rückstände untersucht. Clothianidin und dessen Metaboliten TZNG und TZMU waren in einer Bienenprobe aus der Steiermark nachweisbar. Diese am 16.5.2015 nach Beginn des Bienenschadens entnommene Probe geschädigter Bienen stammte aus einem Gebiet mit Maisanbau im Flugkreis des Bienenstandes. Seitens der über diesen Nachweis in Kenntnis gesetzten zuständigen Landesbehörden konnten im Zuge durchgeführter Erhebungen keine konkreten Ergebnisse bezüglich der Expositionsquelle oder der Expositionsursache erzielt werden. Da das Clothianidin nur in der Bienenprobe, aber nicht in der Bienenbrotprobe gefunden wurde, ist von einer direkten Exposition der sammelnden Bienen auszugehen. Fipronil war in Spuren unter der Bestimmungsgrenze in einer Bienenprobe aus Oberösterreich nachweisbar. Thiamethoxam und Imidacloprid waren in keiner Probe nachweisbar, ebensowenig Fipronilsulfon (= Metabolit von Fipronil) oder der Hydroxy-, Olefin- oder Nitrosiminmetabolit von Imidacloprid. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ war eine Reihe von Wirkstoffen in jeweils geringen Häufigkeiten nachweisbar (Thiacloprid, Azoxystrobin, Biphenyl, Chlorpyrifos-ethyl, Cyfluthrin, Cypermethrin, Cyprodinil, Demeton-S-methyl, Dichlorvos, Esfenvalerat, Famoxadon, Fenhexamid, Fenoxycarb, Fenvalerat, tau-Fluvalinat, Hexythiazox, Metalaxyl, Pendimethalin, Piperonylbutoxid, Pirimiphos-ethyl, Pirimiphos-methyl, Pyrimethanil).
- Besonders auffallend ist der hohe Wert von 8 mg/kg an Chlorpyrifos-ethyl in einer Probe toter Bienen aus Vorarlberg, die aus einem Bienenschaden vom 23.5.2015 stammte. Das Gleiche gilt für eine Probe toter Bienen aus Oberösterreich vom 10.6.2015, in der eine Konzentration von 13 mg/kg an Piperonylbutoxid nachweisbar war. In letzterem Fall war Bienenfrevell als Ursache der Völkerverluste vermutet und angezeigt worden.

Brutschäden mit Vergiftungsverdacht durch kontaminierte Mittelwände im Frühjahr/Sommer 2015: Nach der Mittelwandgabe im April 2015 meldete ein Erwerbsimkereibetrieb einen hohen Brutausfall bis zum Schlupf der Bienen in ursprünglich voll bestifteten Waben bestimmter Mittelwandchargen. Die Rückstandsanalysen von Wachs- und Wabenproben ergaben positive Nachweise für eine Reihe unterschiedlicher Wirkstoffe, darunter auch bienengefährliche (Imidacloprid, lambda-Cyhalothrin, Cyhalothrin, Chlorpyrifos-methyl, Lindan). Ein Zusammenhang der Brutausfälle mit den Wachskontaminationen kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Spätsommer/Herbst 2015: 3 Betriebe meldeten für 3 Bienenstände Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht. Die Symptome waren ähnlich wie in den Vorjahren.

- Gesundheitsuntersuchungen: Konnten nicht durchgeführt werden, da kein geeignetes Probenmaterial verfügbar war.
- Rückstandsuntersuchungen: 3 Einzel- und 2 Sammelproben aus den 3 Ständen wurden untersucht. Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon waren in keiner Probe nachweisbar. Clothianidin war in 2 Proben aus zwei verschiedenen Bienenständen aus Niederösterreich nachweisbar. Auf einem dieser Stände war auch Imidacloprid nachweisbar. Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ waren lambda-Cyhalothrin, Biphenyl, Fenvalerat und Pirimiphos-methyl nachweisbar.

Bienenschäden mit Frevelverdacht 2015: Von einem Betrieb wurde für einen Bienenstand in Oberösterreich Verdacht auf Bienenfrevel gemeldet. Alle 31 Völker waren am 10.6.2015 plötzlich abgestorben vorgefunden worden.

- Gesundheitsuntersuchung: Die Brutprobe war ohne Symptome von Amerikanischer Faulbrut. In der Bienenprobe waren keine Varroamilben und keine Nosemasporen nachweisbar. Symptome des Deformed Wing Virus (DWV) waren nicht feststellbar.
- Rückstandsuntersuchung: In der Bienenprobe waren Chlorpyrifos-ethyl, Cypermethrin, Cyfluthrin und eine auffällig hohe Konzentration des Synergisten Piperonylbutoxid nachweisbar. In der Wabenprobe waren Rückstände von Thiacloprid zu finden. Das plötzliche und unerwartete Absterben aller Bienenvölker des betroffenen Bienenstandes ist aufgrund dieses Ergebnisses mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf die Einbringung der nachgewiesenen bienentoxischen Wirkstoffe in die Bienenvölker zurückzuführen.

Überwinterungsperiode 2015/16: 6 Imkereibetriebe aus Burgenland, Kärnten, Nieder- und Oberösterreich meldeten für 7 Bienenstände Vergiftungsverdacht. Von den 106 auf diesen Ständen befindlichen Völkern waren im Verlauf der Überwinterung 70 Völker abgestorben (= 66%). 16 Völker waren bei der Auswinterung schwach und nur 20 von normaler Volksstärke. Auf drei Einzelständen betrug die Ausfallsquote zwischen 80% und 100%.

Gesundheitsuntersuchungen: Der Varroabefall der Bienen lag in den 7 untersuchten Proben zwischen 0% und maximal 23%. Nosemasporen waren in keiner Probe nachweisbar. Brutproben wurden von 4 Ständen (Burgenland, Niederösterreich) auf Amerikanische Faulbrut untersucht; davon war 1 Stand aus Niederösterreich positiv. In den 2 auf Varroamilben auswertbaren Proben wurde ein Brutbefall von 12% bzw. 25% ermittelt.

Rückstandsuntersuchungen: Von 2 Ständen eines Betriebes wurden 3 Proben (1 Bienen-, 2 Bienenbrotsammelproben) untersucht. Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam, Fipronil und Fipronilsulfon, sowie die Clothianidinmetaboliten TZNG und TZMU und die Imidaclopridmetaboliten (Hydroxy, Olefin-, Nitrosimin-Metabolit) waren in keiner Probe nachweisbar. Die Untersuchung auf andere Wirkstoffe und Metaboliten verlief bei der Bienenprobe des einen Standes ebenfalls negativ. In den untersuchten Bienenbrotproben des anderen Standes war eine größere Zahl von Wirkstoffen nachweisbar, darunter auch bienengefährliche Insektizide (Chlorpyrifos-ethyl, Chlorpyrifos-methyl, Malathion), Tetrahydrophthalimid, sowie weitere Wirkstoffe (Thiacloprid, verschiedene Fungizide und der Synergist Piperonylbutoxid).

Frühjahr-Sommer 2016: Von 26 Imkereibetrieben (Burgenland, Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark) wurden für insgesamt 39 Stände Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht gemeldet. Die Symptome glichen zu dieser Zeit wieder jenen der Vorjahre.

Rückstandsuntersuchungen: 55 Proben (27 Bienen-, 28 Bienenbrotproben) aus 33 Bienenständen wurden untersucht. Thiamethoxam war in keiner Probe nachweisbar. Clothianidin war auf einem Bienenstand in der Steiermark in einer Sammelprobe geschädigter Bienen und einer Bienenbrotprobe nachweisbar. Die Bienenprobe enthielt auch noch Spuren von Imidacloprid, die Bienenbrotprobe von Boscalid.

Der Clothianidinmetabolit TZMU war in 2 Bienenbrotproben in Spuren nachweisbar, (Burgenland, Niederösterreich), der Clothianidinmetabolit TZNG in keiner Probe.

Imidacloprid war in 2 Bienen- (Steiermark, Burgenland) und 3 Bienenbrotproben (Oberösterreich, Niederösterreich) nachweisbar. Die untersuchten Metaboliten von Imidacloprid (Hydroxy-, Olefin-,

Nitrosimin-Metabolit) waren in keiner Probe nachweisbar. Der ebenfalls zur Gruppe der Neonicotinoide gehörende Wirkstoff Thiacloprid war in 6 Bienen- und 15 Bienenbrotproben nachweisbar. Fipronil bzw. dessen Metabolit Fipronilsulfon waren in Proben von 2 Bienenständen aus Oberösterreich nachweisbar.

Aus der Gruppe „Sonstige Pestizide“ (= Analytgruppen „Spezielle Analyten“ und „Multi residue“ – siehe Tabellen 3.45, 3.46) waren eine Reihe unterschiedlicher Wirkstoffe nachweisbar. Darunter befanden sich auch zwei in der EU nicht für Pflanzenschutz Zwecke zugelassene Wirkstoffe. Diese waren das Akarizid Propargit (6 positive Proben: 3 Bienen-, 3 Bienenbrotproben) aus Nieder- und Oberösterreich, sowie das Insektizid Permethrin in 2 Bienenbrotproben (Niederösterreich, Burgenland). Bezüglich möglicher Expositionsquellen gibt es für Propargit Literaturberichte über Funde in Wabenwachs und Bienenbrot, sowie den fallweisen Einsatz zur Varroabekämpfung in der Türkei. Möglicherweise wurde kontaminiertes Importwachs vertrieben und zu Mittelwänden verarbeitet. Permethrin findet Verwendung zur Bekämpfung von Ektoparasiten bei Haustieren, in Holzschutzmitteln, bei der Ausrüstung von Textilien und in Biozidprodukten.

Besonders beachtenswert sind die positiven Nachweise für Chlorpyrifos-ethyl (je 5 mg/kg in zwei Bienenproben von zwei Bienenständen im Weinviertel (NÖ, Bezirk Mistelbach), die mit schweren Bienenverlusten nach Pflanzenschutzmaßnahmen in blühendem Körnersenf verbunden waren. Ursache dafür war ein Anwendungsfehler, durch den Spritzbrühenreste mit bienengefährlichem Wirkstoff aus einer vorangegangenen Anwendung im Zuge der Folgeanwendung – zusammen mit Thiacloprid und dem Fungizid Cyprodinil – auf den blühenden Körnersenf ausgebracht wurden. Ein weiterer Nachweis von Chlorpyrifos-ethyl stammt von einer Bienenbrotprobe aus dem Burgenland.

Weitere vereinzelt nachgewiesene insektizide Wirkstoffe und Akarizide waren in den Bienenproben Methiocarb und der Synergist Piperonylbutoxid. In den Bienenbrotproben häufiger nachweisbar waren tau-Fluvalinat (7 Proben) und der Synergist Piperonylbutoxid (10 Proben), gefolgt von anderen Insektiziden mit vereinzelt positiven Nachweisen (Methiocarb, lambda-Cyhalothrin, Cypermethrin, Cyfluthrin, Chlorfenvinphos, und Bromopropylat). Daneben waren in Bienen- und Bienenbrotproben noch eine Reihe von Fungiziden nachweisbar, sowie in der Bienen- und Bienenbrotprobe eines Standes aus dem Burgenland der Herbizidwirkstoff Linuron.

Spätsommer-Herbst 2016: Ein Betrieb aus Niederösterreich meldete für einen Bienenstand mit 5 Völkern einen Bienenschaden mit Vergiftungsverdacht. Die Gesundheitsuntersuchung ergab in der eingesandten Bienenprobe einen Befall mit *Nosema* spp. und einen Varroabefall von 4%. Die Rückstandsuntersuchung ergab einen positiven Nachweis für Piperonylbutoxid und Propiconazol im Spurenbereich.

Infobox – Ergebnisse Untersuchungen bei Vergiftungsverdacht

Gesamt betrachtet zeigen die vorliegenden Ergebnisse der Rückstandsuntersuchungen in den gemeldeten Fällen von Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht für die Jahre 2014 bis 2016 (Projekt „Zukunft Biene“) ein differenziertes Bild. Einerseits hat sich – verglichen mit früheren Jahren (Projekt „MELISSA“ 2009 – 2011; Expositionsmonitoring 2012 und 2013) – der Anteil exponierter Bienenstände für die vom EU Teilverbot für bestimmte Kulturarten erfassten Wirkstoffe (Clothianidin, Imidacloprid, Thiamethoxam, Fipronil) mit dem teilweisen Aussetzen ihrer Verwendung signifikant reduziert. Während dieser Anteil im Jahr 2009 noch 93% betragen hatte (25 von 27 gemeldeten Fällen), lag er in der Projektperiode zwischen 16% und 19% (9 von 58 gemeldeten Fällen; 7 von 36 gemeldeten Fällen). Andererseits wurden in der Projektperiode weiterhin Völkerverluste und Bienenschäden mit Vergiftungsverdacht beobachtet und gemeldet. Die Mehrzahl der Meldungen betraf den Zeitraum Frühjahr bis Sommer, nur wenige Meldungen die Spätsommer-Herbstperiode und die Überwinterungsphase.

Bei den Rückstandsuntersuchungen wurden Clothianidin, Imidacloprid, Fipronil sowie andere bienengefährliche Wirkstoffe in einer geringen Zahl von Proben nachgewiesen. In diesen Fällen ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ein Zusammenhang des aufgetretenen Bienenschadens mit der nachgewiesenen Exposition anzunehmen. Thiamethoxam wurde in keiner Probe nachgewiesen. Neben den genannten Stoffen waren weitere (Insektizide, Fungizide, Herbizide, sowie einige Metaboliten und Varroazide) in unterschiedlichen Häufigkeiten nachweisbar. Beim aufgetretenen Schadausmaß handelte es sich meist um zeitlich und mengenmäßig begrenzte Bienenverluste, die Einbußen beim Honigertrag und der Erstellung von Jungvölkern zur Folge hatten, aber nur selten zu Völkerverlusten führten.

Im Gegensatz dazu wurden bei Verdacht auf Bienenfrevell schwere Totalverluste von Bienenvölkern beobachtet, die rückstandsanalytisch auch zum Teil bestätigt werden konnten.

Bei den während der Überwinterungsphase mit Vergiftungsverdacht gemeldeten Fällen von hohen Völkerverlusten verliefen die Rückstandsuntersuchungen in den meisten Fällen negativ und bienengefährliche Wirkstoffe waren nur in Einzelfällen nachweisbar. Die Gesundheitsuntersuchungen ergaben häufig Varroose – in wenigen Fällen auch Amerikanische Faulbrut – als sehr wahrscheinliche Ursache für das Absterben der Völker.

Anhang: Erläuterungen zum Fragebogen zur Erfassung und Dokumentation von Völkerverlusten und Bienenschäden 2016 mit Vergiftungsverdacht

Bei beobachteten Bienenschäden ersuchen wir um möglichst rasche telefonische Meldung an die Abt. Bienenkunde und Bienenschutz: 050 555/33130 oder /33121

Vorgehensweise in Fällen von Vergiftungsverdacht (Winterverluste, Frühjahr, Sommer, Herbst)	
A	<p>Dokumentation</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fragebogen ausfüllen • Fotos machen <p>Beides umgehend an die Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz senden (Adresse siehe Seite 7)! Bei Unklarheiten über die Vorgangsweise bitte vor der Probenahme Kontakt mit der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz aufnehmen (Telefonnummern siehe oben).</p>
B	<p>Proben: Nur bei ausreichendem Probenumfang ist eine Untersuchung möglich!</p> <ul style="list-style-type: none"> • Probenahme <ul style="list-style-type: none"> ○ Unverzüglich nach Eintritt bzw. Bemerkung des Schadens in ausreichender Menge (siehe Probenumfang) ○ Vor den Probenahmen keine Haustiere streicheln, die gegen Parasiten (Flöhe, Zecken) behandelt wurden (z. B. Floh-Halsbänder, Träufelbehandlung). ○ Einweghandschuhe verwenden und nach jeder Probenahme wechseln. • Probenumfang <ul style="list-style-type: none"> ○ Winterverluste (Schäden zwischen Oktober und der Zeit der Auswinterung – Ende März): Es werden 3-5 geschädigte Völker eines Bienenstandes beprobt. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bienen: je Probe mind. 20 g (= mind. 0,2 l Joghurtbecher voll) ▪ Bienenbrot (aus je 3-5 geschädigten Völkern pro Bienenstand): vom Randbereich einer Brutwabe, beidseitig mit Bienenbrot gefüllte Wabenstücke (insgesamt ca. 10 x 10 cm je Volk) mit Einwegmesser herausschneiden ▪ Bienenbrut: Verdeckelte Brutwabenstücke ausschneiden (mind. 50 Brutzellen je Volk) ○ Schäden während der übrigen Zeit Es werden 3-5 geschädigte Völker eines Bienenstandes beprobt bzw. Sammelproben toter Bienen vor den Fluglöchern genommen. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Bienen: Sammelproben vor dem Flugloch; Probe ca. 20 g (mind. 0,2 l Joghurtbecher voll) ▪ Bienenbrot (aus je 3-5 geschädigten Völkern pro Bienenstand): vom Randbereich einer Brutwabe, beidseitig mit Bienenbrot gefüllte Wabenstücke (insgesamt ca. 10 x 10 cm je Volk) mit Einwegmesser herausschneiden • Probenverpackung und Beschriftung: <ul style="list-style-type: none"> ○ Jede Probe einzeln in Gefrierbeutel verpacken ○ Jede Probe beschriften: Name ImkerIn, Bezeichnung Bienenstand, Datum Probenahme, Volksnummer (nicht bei Bienensammelproben vor dem Flugloch) • Probenlagerung: <ul style="list-style-type: none"> ○ tiefgekühlt am Imkereibetrieb bis zur Einsendung
C	<p>Probeneinsendung</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proben an AGES GmbH (Adresse auf der letzten Seite) einsenden. Die Proben sollten am schnellsten Wege (ohne Unterbrechung durch arbeitsfreie Tage der Post) bei uns ankommen – Wochenende, Feiertage beachten.

Ergebnismitteilung: Diese werden – nach Vorliegen der Ergebnisse des Projektes „Zukunft Biene“ (BMLFUW) – den betroffenen ImkerInnen zugesendet.

Bitte füllen Sie den Fragebogen vollständig und so genau wie möglich aus, bzw. kreuzen sie das jeweils zutreffende an (Mehrfachankreuzungen sind bei manchen Fragen möglich).

Ihre Daten werden elektronisch verarbeitet. Eine Verwendung Ihrer Daten in Berichten wird nur in anonymisierter Form erfolgen!

Verwenden Sie **für jeden betroffenen Bienenstand, bzw. zu unterschiedlichen Zeiten auftretenden Bienenschäden, jeweils einen eigenen Fragebogen!**

Fragebogen zur Erfassung und Dokumentation von Völkerverlusten und Bienenschäden 2016 mit Vergiftungsverdacht

im Rahmen des Projektes "Zukunft Biene", Submodul 3c „Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring 2014-2016 in Fällen mit Vergiftungsverdacht“.

1	Persönliche Angaben
1.1	Name:
1.2	Straße: Hausnummer:
1.3	PLZ: Ort:
1.4	Telefon: FAX:
1.5	E-Mail:

2	Angaben zum betroffenen Bienenstand
2.1	Bezeichnung des Bienenstandes:
2.2	Standgemeinde:
2.3	Katastralgemeinde:
2.4	Bezirk: Bundesland:
2.6	Seehöhe (m):
2.7	Bienenstand ist ein <input type="checkbox"/> Heimbienenstand <input type="checkbox"/> Wanderbienenstand Wenn Wanderstand: Datum der Aufstellung: (Tag/Monat/Jahr)
2.8	Wurde in den Vorjahren – aufgrund von Bienenschäden – bereits einmal der Standort gewechselt? <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
2.9	Welche Trachten wurden genutzt? <input type="checkbox"/> Obst <input type="checkbox"/> Raps <input type="checkbox"/> Robinie <input type="checkbox"/> Sonnenblume <input type="checkbox"/> Mais <input type="checkbox"/> Kürbis <input type="checkbox"/> Linde <input type="checkbox"/> Senf <input type="checkbox"/> Mungo <input type="checkbox"/> Waldtracht <input type="checkbox"/> Ölrettich <input type="checkbox"/> Buchweizen andere (welche):

2.10	Wasserquelle für Bienen Künstliche Tränke: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
------	---

3	Angaben zu den aufgetretenen Bienenschäden											
3.1.	Erster Bienenschaden (Symptome) festgestellt am (Tag/Monat/Jahr):											
3.2	Datum Standkontrolle vor dem Bienenschaden: nach dem Bienenschaden: (Tag/Monat/Jahr) (Tag/Monat/Jahr) Gesamtzahl Völker am Bienenstand Anzahl Völker nach dem Bienenschaden vor dem Bienenschaden: geschwächt: tot:											
3.3	Bienenschädigung (Symptome) noch andauernd <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein Wenn nein, Datum Ende des Bienenschadens: (Tag/Monat/Jahr)											
3.4	Welche Symptome wurden beobachtet? <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> krabbelnde flugunfähige Bienen</td> <td style="width: 33%;"><input type="checkbox"/> Rückgang des Bienenbesatzes im Honigraum</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> erhöhter Bientotenfall</td> <td><input type="checkbox"/> tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> tote Bienen mit verkrampftem Körper</td> <td><input type="checkbox"/> Verhaltensstörungen (z.B.: Zittern, Torkeln, Hüpfen)</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> tote Brut, Brutaustrag</td> <td><input type="checkbox"/> tote Bienen mit Pollenhöschen</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Rückgang der Volksstärke</td> <td></td> </tr> </table> Sonstige Auffälligkeiten:		<input type="checkbox"/> krabbelnde flugunfähige Bienen	<input type="checkbox"/> Rückgang des Bienenbesatzes im Honigraum	<input type="checkbox"/> erhöhter Bientotenfall	<input type="checkbox"/> tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel	<input type="checkbox"/> tote Bienen mit verkrampftem Körper	<input type="checkbox"/> Verhaltensstörungen (z.B.: Zittern, Torkeln, Hüpfen)	<input type="checkbox"/> tote Brut, Brutaustrag	<input type="checkbox"/> tote Bienen mit Pollenhöschen	<input type="checkbox"/> Rückgang der Volksstärke	
<input type="checkbox"/> krabbelnde flugunfähige Bienen	<input type="checkbox"/> Rückgang des Bienenbesatzes im Honigraum											
<input type="checkbox"/> erhöhter Bientotenfall	<input type="checkbox"/> tote Bienen mit ausgestrecktem Rüssel											
<input type="checkbox"/> tote Bienen mit verkrampftem Körper	<input type="checkbox"/> Verhaltensstörungen (z.B.: Zittern, Torkeln, Hüpfen)											
<input type="checkbox"/> tote Brut, Brutaustrag	<input type="checkbox"/> tote Bienen mit Pollenhöschen											
<input type="checkbox"/> Rückgang der Volksstärke												

	<input type="checkbox"/> Thymovar			
	<input type="checkbox"/> Bienenwohl			
	<input type="checkbox"/> Hiveclean			
	<input type="checkbox"/> Apistan			
	<input type="checkbox"/> andere:			
	<input type="checkbox"/> andere:			
6.1.3	<p>Bei Verwendung von Ameisensäure:</p> <p>Konzentration: <input type="checkbox"/> 85% <input type="checkbox"/> 60% <input type="checkbox"/> andere:</p> <p>Anwendungsmenge/Volk/Behandlung: ml</p> <p>verwendeter Verdunster:</p>			
6.2	Restentmilbung (zuletzt durchgeführte Varroabekämpfungsmaßnahmen)			
6.2.1	Maßnahme/Wirkstoff/Präparat	erste am (Datum):	letzte am (Datum):	Anzahl gesamt:
	<input type="checkbox"/> Oxalsäure geträufelt			
	<input type="checkbox"/> Oxalsäure verdampft			
	<input type="checkbox"/> Apistan			
	<input type="checkbox"/> Milchsäure			
	<input type="checkbox"/> Bienenwohl			
	<input type="checkbox"/> Perizin			
	<input type="checkbox"/> Hiveclean			
	<input type="checkbox"/> andere:			
	<input type="checkbox"/> andere:			

7	Futtermittel für die Winterfütterung
7.1	<input type="checkbox"/> Zucker <input type="checkbox"/> Honig <input type="checkbox"/> Apiinvert <input type="checkbox"/> sonstige: <p style="text-align: center;">Produktname (ev. Chargennummer, Produktdatenblatt beilegen)</p>
7.2	Zusätze zur Fütterung (welche):

8	<p>Angaben zum Ackerbau im Flugkreis (Radius = 3 km) ihrer Bienen</p> <p>bei Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht 2015/16 Angaben von Saison 2015</p> <p>bei Vergiftungsverdacht Frühjahr/Sommer/Herbst 2016 Angaben von laufender Saison 2016</p>
8.1	<p>Wurde im Flugradius Mais angebaut? <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p>
8.2	<p>Wenn ja, Datum erste Maisaussaat: (Tag/Monat/Jahr):</p>
8.3	<p>Wurden Maiswurzelbohrerkäfer- bekämpfungen mit Stelzentraktoren <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt durchgeführt:</p>
8.4	<p>Welche für die Bienen attraktiven Pflanzen haben zur Zeit der Maisaussaat geblüht?</p> <p><input type="checkbox"/> Löwenzahn <input type="checkbox"/> Kirsche <input type="checkbox"/> Apfel/Birne <input type="checkbox"/> Hecken</p> <p><input type="checkbox"/> Sonstige:</p> <p><input type="checkbox"/> Unbekannt</p>
8.5	<p>Welche weiteren Kulturen waren im Flugradius?</p> <p style="padding-left: 100px;">Raps: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p style="padding-left: 100px;">Kürbis: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p style="padding-left: 100px;">Obst: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p style="padding-left: 100px;">Wein: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p style="padding-left: 100px;">Getreide: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p style="padding-left: 100px;">Senf : <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p>

	<p>Buchweizen : <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p>Mungo : <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p>Ölrettich: <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p>Forstflächen mit Bekämpfungsmaßnahmen (z.B.: Kleine Fichtenblattwespe) <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> unbekannt</p> <p>Sonstige (welche):</p>
--	---

9	Sonstige Beobachtungen bzw. Auffälligkeiten
----------	--

10	Erforderliche Informationen zum vorhandenen Probenmaterial (Bienen-, Bienenbrot und Bienenbrutproben) für Untersuchungen
10.1	Bienenproben

10.1.1	<p>Haben Sie Bienen für eine Untersuchung gesammelt?</p> <p><input type="checkbox"/> ja Wenn ja, Probenahme durch:</p> <p><input type="checkbox"/> nein Datum der Probenahme: (Tag/Monat/Jahr)</p> <p>Wo wurden die Bienen gesammelt? <input type="checkbox"/> außerhalb des Stockes <input type="checkbox"/> im Stockinneren</p> <p>Wenn vom Stockinneren, aus welchen Völkern? (Volksbezeichnungen angeben)</p> <p>Zustand der Bienen bei Probenahme: <input type="checkbox"/> tot <input type="checkbox"/> lebend, geschädigt</p> <p>Waren die Völker zur Zeit der Probenahme: <input type="checkbox"/> tot <input type="checkbox"/> geschädigt <input type="checkbox"/> normal entwickelt</p>
10.1.2	<p>Was geschah mit den gesammelten Bienenproben?</p> <p><input type="checkbox"/> lagern tiefgekühlt am Betrieb</p> <p><input type="checkbox"/> Einsendung / Übergabe an AGES erfolgte am (Tag/Monat/Jahr):</p>
10.2.	<p>Bienenbrotproben</p>
10.2.1	<p>Haben Sie Bienenbrotproben für eine Untersuchung entnommen?</p> <p><input type="checkbox"/> ja Wenn ja, Probenahme durch:</p> <p><input type="checkbox"/> nein Datum der Probenahme: (Tag/Monat/Jahr)</p> <p>Aus welchen Völkern wurden Proben entnommen? (Volksbezeichnungen angeben)</p> <p>Waren die Völker zur Zeit der Probenahme: <input type="checkbox"/> tot <input type="checkbox"/> geschädigt <input type="checkbox"/> normal entwickelt</p>
10.2.2	<p>Was geschah mit den gesammelten Bienenbrotproben?</p> <p><input type="checkbox"/> lagern tiefgekühlt am Betrieb</p> <p><input type="checkbox"/> Einsendung / Übergabe an AGES erfolgte am (Tag/Monat/Jahr):</p>
10.3	<p>Brutproben (nur bei Winterverlusten mit Vergiftungsverdacht)</p>

10.3.1	<p>Haben Sie Brutproben für eine Untersuchung entnommen?</p> <p><input type="checkbox"/> ja Wenn ja, Probenahme durch:</p> <p><input type="checkbox"/> nein Datum der Probenahme: (Tag/Monat/Jahr)</p> <p>Aus welchen Völkern wurden Proben entnommen? (Volksbezeichnungen angeben)</p> <p>Waren die Völker zur Zeit der Probenahme: <input type="checkbox"/> tot <input type="checkbox"/> geschädigt <input type="checkbox"/> normal entwickelt</p>
10.3.2	<p>Was geschah mit den gesammelten Brutproben?</p> <p><input type="checkbox"/> lagern tiefgekühlt am Betrieb</p> <p><input type="checkbox"/> Einsendung / Übergabe an AGES erfolgte am (Tag/Monat/Jahr):</p>

Anmerkung:
Personenbezogene Daten werden von uns nur dann weitergegeben, wenn sie ihr Einverständnis dazu geben.

Kreuzen Sie bitte an, ob Sie mit der Weitergabe dieser personenbezogenen Daten einverstanden sind oder nicht!

An den Imker-Dachverband „**Biene Österreich**“

einverstanden nicht einverstanden

An die zuständige **Landesregierung**

einverstanden nicht einverstanden

Datum: _____

Unterschrift: _____

Gerne stehen wir ihnen für Rückfragen zur Verfügung.

Tel: Dr. Mayr: 050 555/33130

Dr. Moosbeckhofer: 050 555/33121 oder 0664/839 80 69

Dieser Fragebogen kann auch von der Homepage der AGES abgerufen werden.
<http://www.ages.at/service/service-umwelt/bienen/bienenschaeden> 2016

Bitte senden Sie den ausgefüllten Fragebogenbogen entweder

- **per Post** an: AGES
Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz
Spargelfeldstraße 191
1220 Wien
- **per Fax** an die Nummer: 050 555 -33133
- **per Mail** an: bienen@ages.at



KARL-FRANZENS-UNIVERSITÄT GRAZ
UNIVERSITY OF GRAZ



(4) Individuelle Schadtoleranz

(4a) Kumulierte Effekte subletaler Vergiftungen, (4b) Physiologische Leistungsprüfung, (4c) Entgiftungsmechanismen

4.1 Einleitung

Unter Pestiziden verstehen wir hier Stoffe mit hoher biologischer Wirksamkeit, die eingesetzt werden, um vornehmlich für die Landwirtschaft schädliche Tiere, insbesondere Insekten, zu bekämpfen. Für diesen Bericht bezieht sich der Begriff stets auf die im jeweiligen Kapitel verwendeten chemischen Substanzen. Sie sind ein heute kaum wegzudenkender Bestandteil der konventionell geführten Landwirtschaft, führen jedoch auch unzweifelhaft zu negativen Auswirkungen auf Nutzorganismen in der Biosphäre (Blacquièrre et al., 2012). Insbesondere Honigbienen, die vornehmlich als Bestäuber und Honiglieferanten unschätzbare Dienste erweisen, gelten als sensible ökologische Indikatoren für Schädigungen durch den oft als unverzichtbar hingestellten Einsatz von Pestiziden (Gill et al., 2012).

Das Augenmerk in Modul 4 liegt auf der Erforschung von Einflüssen, die von Pestiziden allein oder in Kombination mit anderen Stressoren, wie z.B. Pathogenen, zu Nachteilen für die Bienen führen. Diese können z.B. zu einer erhöhten Sterblichkeit oder einer Schwächung des Immunsystems führen, aber auch eine Verminderung der physiologischen Leistung, wie z.B. Flugleistung oder Lernverhalten, nach sich ziehen. Im weiteren Verlauf des Projektes wurden Versuche zur individuellen Pestizidaufnahme durch Bienen, wie auch zur Weitergabe von Pestiziden innerhalb des Bienenvolks (an die Königin) durchgeführt.

Für die Auswahl der Themenfelder spielte auch die vorhandene Infrastruktur und die durch jahrelange Forschung auf entsprechenden Gebieten erworbene Kompetenz der Mitarbeiter des Instituts für Zoologie in Graz eine Rolle. So wurde von der in Graz perfektionierten Methode der künstlichen Larvenzucht intensiv Gebrauch gemacht und die seit Jahren am Institut durchgeführte Forschung zu Amerikanischer Faulbrut (AFB) sowie zum Immunsystem der Bienen mit in die Versuchsplanung einbezogen.

Die hier präsentierten Versuche lassen sich den drei oben genannten Unterkategorien zuordnen, wobei es Überlappungen der Themenfelder gibt. Es erschien uns sinnvoller, eine chronologische und nach den jeweiligen experimentellen Ansätzen orientierte Darstellung zu geben, dafür aber auf eine spezifische Bezugnahme auf die Submodulthemen 4a-4c zu verzichten. Ein Großteil der Versuchsergebnisse konnte bereits während der Projektdauer z.B. als Masterarbeit an der Universität Graz oder in internationalen Fachzeitschriften publiziert werden und ist frei über das Internet verfügbar. Entsprechende Hinweise finden sich im Text. Für diese Versuche wurde die Darstellung der Methoden in diesem Bericht daher auf das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige beschränkt. Auch finden nicht alle durchgeführten Versuche hier gleichermaßen detaillierte Erwähnung, sei es, dass sie vorläufigen Charakter hatten, sei es, dass anfänglich experimentell die falschen Wege beschritten wurden. Manche Versuche konnten aufgrund der Komplexität nicht zu einem zufriedenstellenden Abschluss gebracht werden, warfen aber weitere interessante Fragestellungen auf. Da ressourcenbedingt die Auswahl der Forschungsfelder und damit auch die Auswahl individuell beforschter Pestizidwirkungen begrenzt bleiben musste, soll hier ausdrücklich von einer Verallgemeinerung vieler Aussagen, auch wenn sie sich auf Pestizide der gleichen Pestizidklasse beziehen, abgeraten werden.

Die wissenschaftliche Literatur, die sich mit den Auswirkungen von Pestiziden auf Bienen, aber auch auf Hummeln und andere Bestäuber auseinandersetzt, ist in den letzten Jahren exponentiell angewachsen, wie Abbildung 4.1 für den Zeitraum 2007-2016 am Beispiel der Literatur zu Neonicotinoiden und Bienen wiedergibt. Dieser Trend wird sich auch weiter fortsetzen, da es sich a) um einen mitnichten erschöpften Forschungsgegenstand handelt, b) publikatorisch selbstverstärkende Mechanismen Eigendynamik zeigen und c) die Erweiterung wissenschaftlich zugänglicher Fragestellungen, zum Beispiel ermöglicht durch rasante methodische Fortschritte, noch lange anhalten dürfte. Somit unterstreicht diese Entwicklung auch die Relevanz von Zukunft Biene, das sich in mehreren experimentellen Ansätzen der Frage nach den Pestizideinflüssen auf Bienen widmet. Gleichzeitig muss daran erinnert werden, dass rasche und konsistente Antworten auf die meist leicht aufwerfbaren Fragen aufgrund der Komplexität des Gegenstandes nicht zu erwarten sind, was sich unter anderem darin zeigt, dass die Sichtung der aktuellen wissenschaftlichen Literatur immer auch Widersprüchliches zutage fördert.

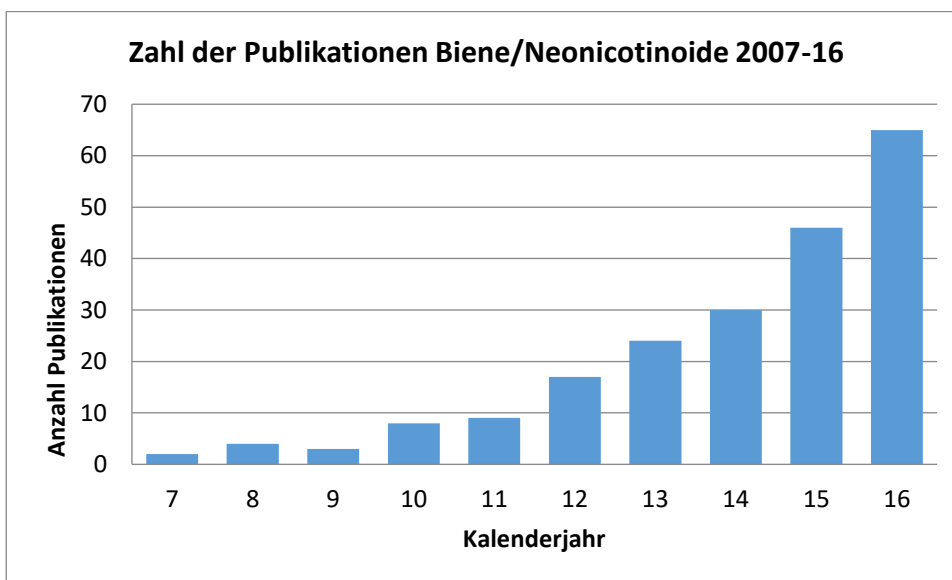


Abbildung 4.1: Jährliche Anzahl von wissenschaftlichen Publikationen, die sich mit der Honigbiene (*Apis mellifera*) und Neonicotinoiden beschäftigen, im Zeitraum von 2007-2016. [Quelle: SciFinder-Recherche vom 13. August 2017; Suchworte: *Apis mellifera*, Neonicotinoid]

Der hier vorliegende Endbericht vereinigt die Ergebnisse der Vorjahre, die hier, zumeist der Chronologie entsprechend, vorangestellt werden.

4.2 Darstellung der Ergebnisse des Projektes Zukunft Biene, Modul 4, aus den Vorjahren (2014-15)

Für die Erfüllung der Arbeitsziele des Projekts „Zukunft Biene“ wurden in der Saison 2014 diverse richtungsweisende Versuche durchgeführt. Es wurden drei Pestizide für biologische Tests an Honigbienen und Hummeln ausgewählt, die je unterschiedlichen Stoffklassen angehören. Die Auswahl richtete sich nach verschiedenen Kriterien, wobei unter anderem Verwendungshäufigkeit, chemische Stoffklasse und physiologischer Wirkmechanismus eine Rolle spielten.

Die ausgewählten Pestizide waren alpha-Cypermethrin, ein Pyrethroid, Dimethoat, ein Organophosphat und Imidacloprid, ein Neonicotinoid. Damit richtete sich die Auswahl auch auf möglichst umweltrelevante, resp. in der aktuellen Diskussion berücksichtigte Pestizide. Für diese Pestizide, sowie deren Mischung (kumulative Effekte), wurden Auswirkungen von Dosen, die unterhalb der

Letaldosis liegen, auf die Larvensterblichkeit, Überlebensrate im Käfig, Futterraufnahme (Henry et al., 2012), Lernverhalten (Decourtye et al., 2004; Belzunces et al., 2012) und Flugleistung untersucht. Auch wurden Daten zur Toxizität dieser Pestizide an Honigbienen und Hummeln erhoben.

4.2.1 Überlebensrate von Larven, die subletalen Pestiziddosen ausgesetzt wurden

Für die Erforschung des Einflusses von Pestiziddosen auf die Larvensterblichkeit wurde eine an unserem Institut vervollkommnete Larvenzuchtmethode eingesetzt. Die frisch aus den abgelegten Eiern der Königin geschlüpften Larven wurden aus der Wabe, die dem Volk entnommen wird, in 48-Multiwellplatten überführt, wo sie während 6 Tagen gefüttert wurden. Die speziell für die Larven zusammengestellte Kost wurde dann entsprechend mit unterschiedlichen Konzentrationen an α -Cypermethrin, Dimethoat und Imidacloprid, sowie einer Mischung dieser drei Pestizide, versetzt. Die Einfütterung pestizidhaltiger Kost begann am dritten Tag und dauerte bis zum sechsten Tag an. Die Überlebenskurven für die Larven, welche bis zum Schlüpfen am Tag 21 beobachtet wurden, sind in Abbildung 4.2 wiedergegeben. Es zeigt sich, dass generell die Toleranz der Larven gegenüber Pestiziden höher ist als bei adulten Tieren. Dies ist im Einklang mit der Literatur, wobei man davon ausgeht, dass die auf das Nervensystem der Tiere wirkenden Pestizide bei den Larven, die ein noch größtenteils unentwickeltes Nervensystem haben, nicht so stark wirken.

Aus Abbildung 4.2. ist ersichtlich, dass sich die toxischen Effekte der drei in Kombination verabreichten bienengefährlichen Pestizide addieren, was zu einer entsprechend höheren Larven-Mortalität führt.

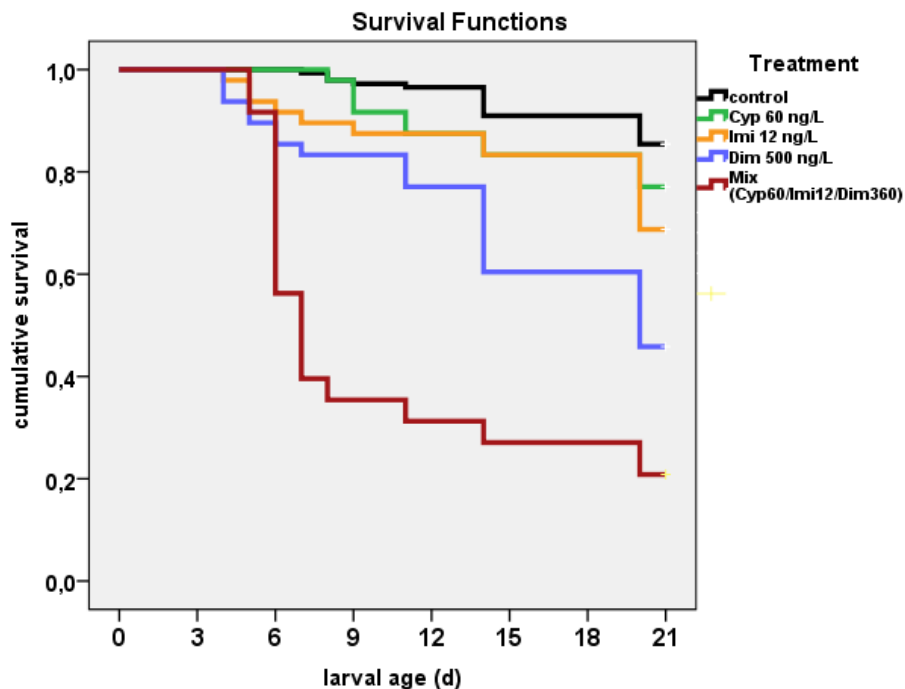


Abbildung 4.2: Y-Achse: Überlebensrate (cumulative survival) von Larven (L), die mit α -Cypermethrin (60 ng/L/d), Dimethoat (500 ng/L/d) und Imidacloprid (12 ng/L/d), sowie einer Mischung (Cyp 60 ng, Dim 360 ng und Imi 12 ng/L/d) dieser drei Pestizide im jeweils dotierten Larvenfutter, d.i. eine Mischung aus Gelée royale, Zucker und Hefeextrakt, gefüttert wurden. X-Achse: Larvenalter. Bei der kombinierten Exposition

wurde aufgrund der hohen für Dimethoat (500 ng/L) gefundenen Mortalität die Dimethoat-Dosis auf 360 ng/L heruntergesetzt.

4.2.2 Überlebensrate frisch geschlüpfter Bienen bei definierter Pestizidexposition im Labor

In vorläufigen Experimenten, bei denen je unterschiedliche LD_{50} -Angaben für orale Toxizität aus der Literatur experimentell überprüft wurden, wurde festgestellt, dass die Überlebensrate von Bienen nach Fütterung mit Pestizidmengen im Bereich der LD_{50} zu teilweise stark von der Literatur abweichenden Überlebensraten führt. Das hier durchgeführte Experiment diente der Konzentrationsfindung und der Frage nach toxisch-synergistischen Effekten der drei eingesetzten Pestizide am Beispiel frisch geschlüpfter Bienen. In diesem Experiment wurden frisch geschlüpfte Bienen während 48 h mit 100% der LD_{50} oral durch Zugabe der Pestizide in Zuckerlösung vergiftet (Versuchsaufbau aus Abbildung 4.3. ersichtlich) und die Überlebensrate dieser Bienen während der gesamten, zirka 4-wöchigen Lebensspanne der Tiere bestimmt (Abb. 4.4).

Die für diese Versuche eingesetzten LD_{50} -Werte wurden der Pesticide Properties DataBase der Universität Hertfordshire (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>) entnommen.

Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass bei der Gruppenfütterung die Aufnahme einer exakt definierten Einzeldosis nicht garantiert wird, weswegen in den meisten Folgeexperimenten eine Fütterung von Hand vorgenommen wurde.

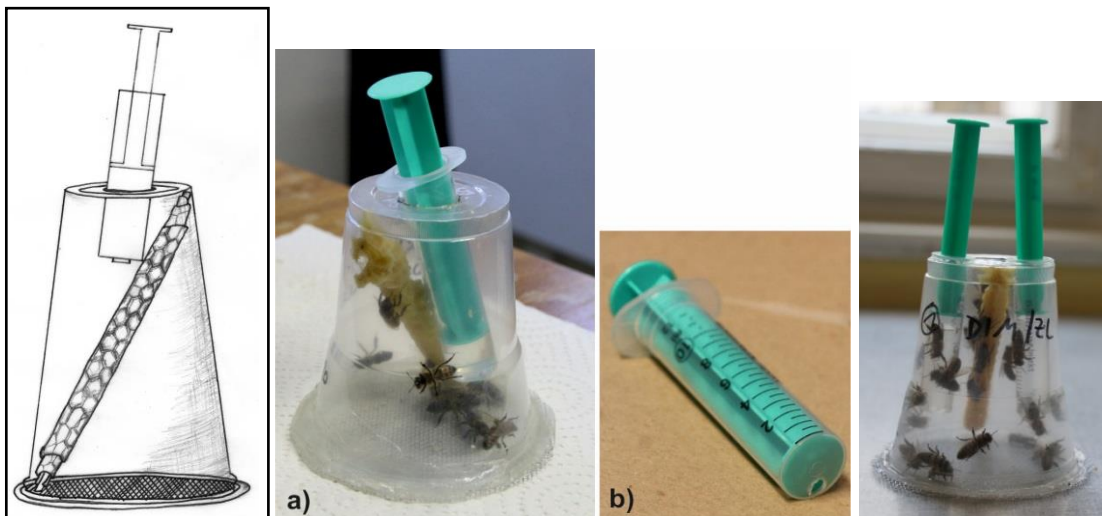


Abb. 4.3: Schematische Zeichnung (links) eines Fütterungs- und Haltungskäfigs mit Fütterungsspritze und Wachssäule. Bei nicht individueller Fütterung wird über eine Spritze die entsprechende Futterlösung pauschal eingefüttert. Die Becher enthalten auch eine seitliche Öffnung zum Einbringen von z.B. Pollen oder zur Entnahme von Tieren. (Zeichnung: ©E. Papenberg, Fotos: ©A. Auer)

Die Ergebnisse haben durchaus vorläufigen Charakter, doch konnte gezeigt werden, dass Dimethoat (alleine oder in Mischung) eine signifikant größere Sterblichkeit verursacht. Bei Gabe der LD_{50} an Dimethoat starben innerhalb von drei Tagen zirka 80% der Tiere, also mehr, als nach Literaturangaben zu erwarten gewesen wäre. Interessanterweise, und im Widerspruch zu weiter unten gezeigten Ergebnissen, wurde bei der Mischung eine Sterblichkeit nach drei Tagen von zirka 50% der Tiere gefunden.

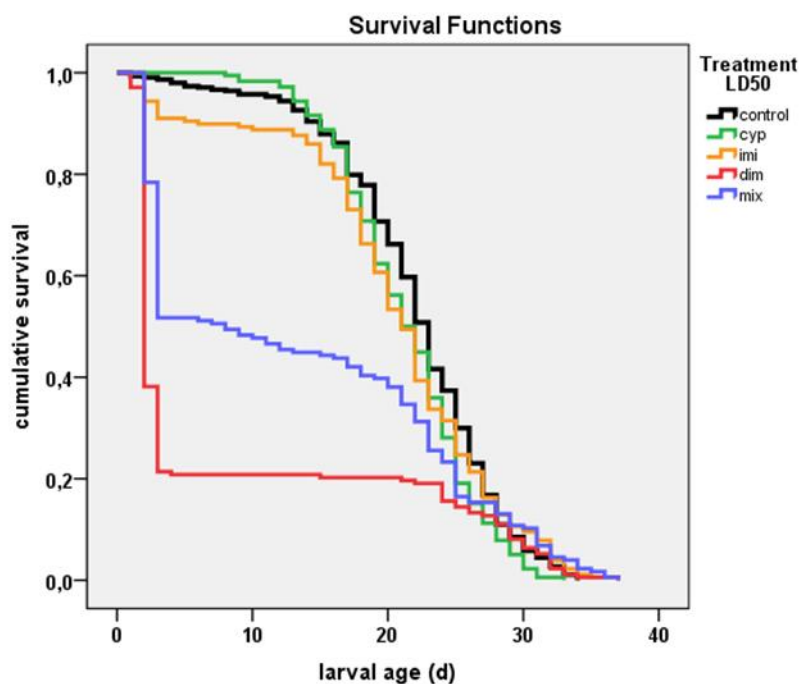


Abbildung 4.4: Y-Achse: Überlebenskurve (cumulative survival) frisch geschlüpfter Bienen (B), die für zwei Tage mit α -Cypermethrin (20 ng/B), Dimethoat (120 ng/B) und Imidaclopid (4 ng/B), sowie einer Mischung dieser drei Pestizide (Cyp/Dim/Imi: 20/120/4 ng) gefüttert wurden. Aufgetragen über dem Alter der Larven.

4.2.3 Untersuchung des Einflusses von Pestiziddosen unterhalb der LD₅₀ auf die Futteraufnahme in Honigbienen

Versuche zur Futteraufnahme von Bienen, denen gleichzeitig reine Zuckerlösung und mit Cypermethrin, Dimethoat und Imidaclopid als Mix vermengte Zuckerlösungen präsentiert wurden, ergaben eine Bevorzugung von pestizidfreier Zuckerlösung und lassen sich als fraßhemmender Effekt, der bei der Zuckerlösung mit dem jeweiligen Pestizid beobachtet wird, interpretieren (Nauen et al., 2001).

In der Gruppe der mit pestizidhaltiger Zuckerlösung gefütterten zirka 14 d alten Bienen war die Nahrungsaufnahme während 48 h um 60% reduziert. Die Pestiziddosen betragen hier etwa 1/5 der aus der Literatur entnommenen LD₅₀-Werte. Die geringere Nahrungsaufnahme von mit Pestizid versetzter Zuckerlösung fand sich für einzeln dargebotene Pestizide. Für die Mischung der drei verwendeten Substanzen ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der Nahrungsaufnahme beobachten.

Exemplarisch ist in Abbildung 4.5 die Nahrungsaufnahme für frisch geschlüpfte Bienen gezeigt, denen Zuckerlösung versus mit Pestizid-Mix versetzter Zuckerlösung dargeboten wurde. Damit konnte gezeigt werden, dass Pestizidbeimengung einen signifikanten Einfluss auf die Nahrungsauswahl hat. Die von uns eingesetzten Konzentrationen an Pestiziden orientieren sich an Konzentrationen, die Feldrelevanz besitzen, obwohl hierzu keine Probenahme im Feld oder an bienenrelevanten Kulturen stattgefunden hat. Denkbar sind solche Konzentrationen etwa im Blütennektar oder in Guttationstropfen und Lacken, von welchen Bienen und andere Insekten Wasser aufnehmen.

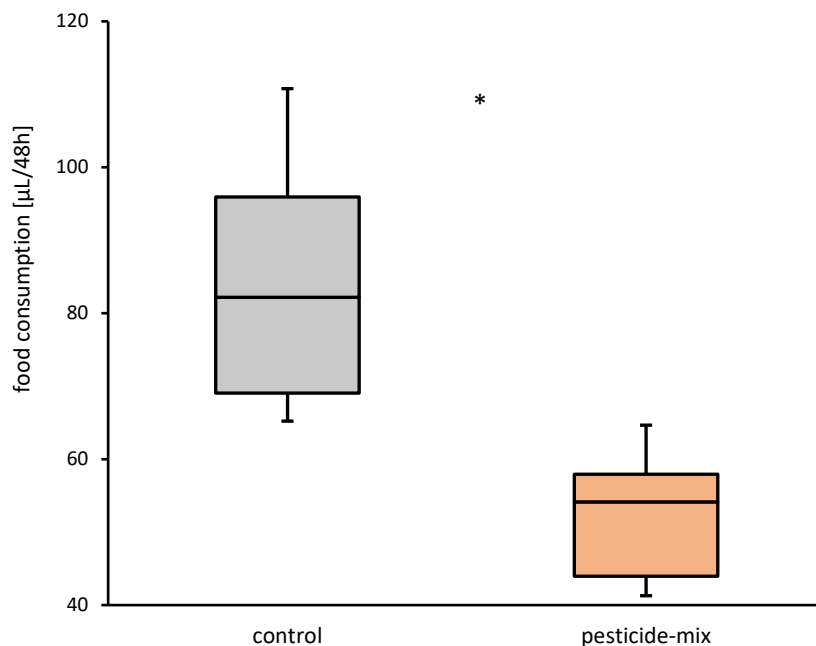


Abbildung 4.5: Mittlere Futteraufnahme (food consumption, in μL) frisch geschlüpfter Bienen nach 48 h, denen während dieser 48 h ein Pestizid-Mix (Zuckerlösung mit 200 ppb α -Cypermethrin, 1200 ppb Dimethoat und 40 ppb Imidacloprid) geboten wurde. Signifikante Unterschiede (*, $P < 0.001$, t-test) wurden zwischen Kontrolle ($n = 191$) und pestizidgefütterten Bienen ($n = 164$) gefunden.

4.2.4 Untersuchung des Proboscis-Extensor-Reflexes (PER) unter dem Einfluss von Pestiziddosen unterhalb der Letaldosis (LD_{50})

Der Rüsselstreckreflex (Proboscis-Extensor-Reflex, PER) ist ein klassischer Konditionierungsreflex und ein validiertes Instrument, mit dem das Lernverhalten von Bienen ermittelt werden kann (Bittermann et al., 1983; Felsenberg et al., 2011). Hierzu wird einer in eine spezielle Vorrichtung eingespannten hungrigen Honigbiene ein Duftreiz (olfaktorischer Reiz), zeitlich nahe gekoppelt mit einer Futterpräsentation, dargeboten und die Lernfähigkeit der Biene, die einen assoziativen Bezug zwischen Reiz und Belohnung herstellt, ausgewertet. Die Biene lernt somit, eine Verbindung zwischen dem Duftreiz und der Futterbelohnung herzustellen, was als Maß für die Leistung ihres Gedächtnisses und ihrer Lernfähigkeit gewertet wird. Die Auswirkung einer Pestizidexposition auf diese olfaktorische Konditionierung (Lernfähigkeit) von Testbienen wurde im Rahmen einer Masterarbeit (Alexander Auer) untersucht.

Abbildung 4.6 zeigt eine während der Durchführung der Masterarbeit von A. Auer entwickelte Vorrichtung, mit der einzelne Bienen gefüttert und ihr PER ausgewertet werden kann.

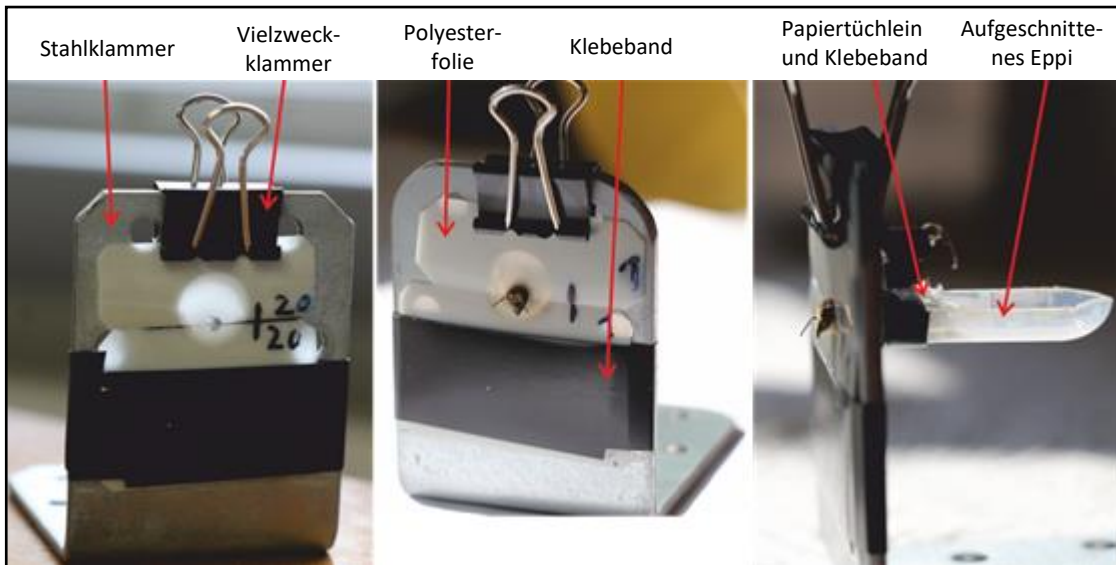


Abb. 4.6: Die „Beefix-Bracket“[®] als Vorrichtung, einzelne Bienen für die Beobachtung des PER einzuspannen. (Foto: ©A. Auer)

In Vorversuchen wurden Bienen ausgesucht, die sich grundsätzlich willig füttern ließen und bei denen man erwarten konnte, daß sie zur Präsentation eines reproduzierbaren Rüsselstreckreflexes in der Lage waren. Nicht alle Tiere reagierten gleich und daher wurde die weitere Beobachtung des PER nur mit solchen Tieren durchgeführt, die auf Fütterung sogleich ansprachen. Abbildung 4.7 zeigt das System, das für die Bereitstellung des duftangereicherten Luftstroms während der PER-Versuche verwendet wurde. Als Duftkomponente wurde Zitronellal oder Geraniol verwendet. Die Fütterung der Tiere wurde jeweils individuell mit in der Pipettenspitze aufgezogener Zuckerlösung (mit oder ohne Pestizide) durchgeführt, wie aus Abb. 4.8 ersichtlich.

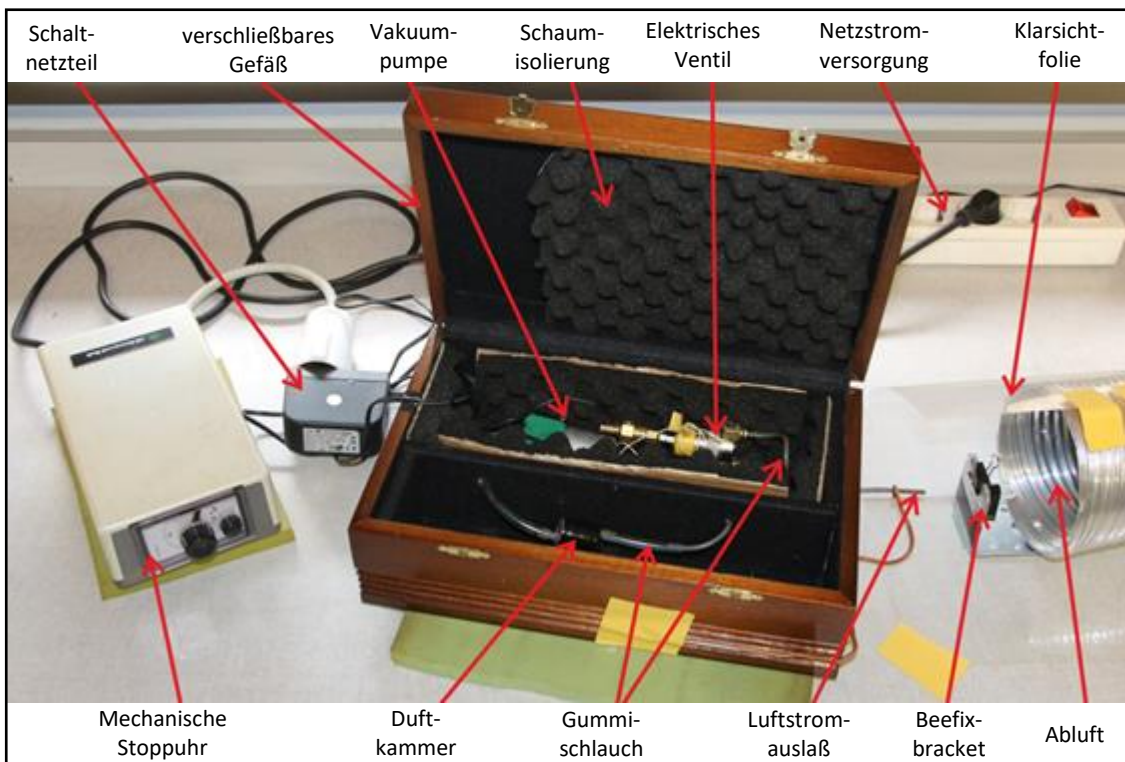


Abbildung 4.7: System zur Erzeugung des für die PER-Konditionierung notwendigen Luftstroms, dem Geruchsstoffe beigefügt werden. (Foto: ©A. Auer)

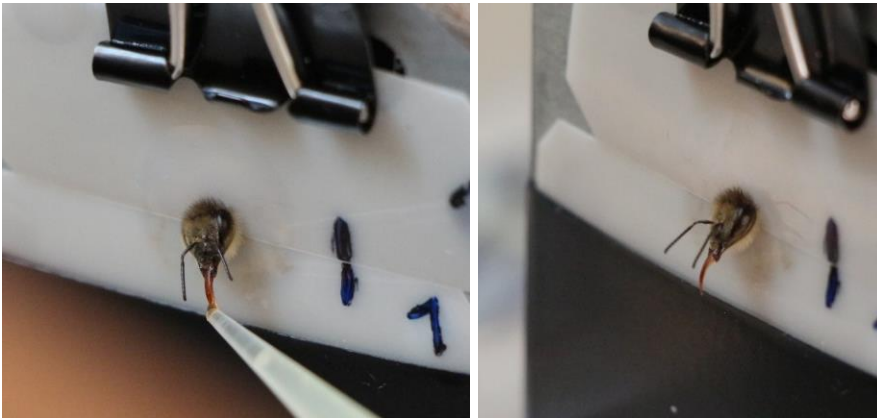


Abb. 4.8: Fütterung einzelner Bienen per Hand (Pipette). (Foto: ©A. Auer)

Nach den Ergebnissen der mit zirka 30% der LD_{50} (s. 4.2.2) für α -Cypermethrin, Dimethoat oder Imidacloprid gefütterten Bienen ergibt sich kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen vermindertem Lernverhalten (dargestellt als PER-Reaktion) und Pestizidaufnahme bei Bienen, was z.T. im Widerspruch mit publizierten wissenschaftlichen Arbeiten steht (Scheiner et al., 2003). Die Pestizidkonzentration der den Bienen vor dem PER-Versuch zur Verfügung stehenden Zuckerlösung pro Biene betrug 200 ppb α -Cypermethrin, 1200 ppb Dimethoat und 40 ppb Imidacloprid. Die tatsächlich aufgenommenen Mengen an Pestiziden (vgl. die fraßhemmende Wirkung dieses Mixes in Abb. 4.5) konnten über die Auswiegung der konsumierten Zuckerlösung zurückgerechnet werden und betragen im Schnitt pro Biene 15-24 ng α -Cypermethrin, 90-130 ng Dimethoat und 3-5 ng Imidacloprid. Bei den danach durchgeführten PER-Experimenten wurde dann reine Zuckerlösung ohne Pestizidbeimengung verwendet.

Es scheint somit, dass die Bienen aus der Pestizidgruppe durch ihre insgesamt geringere Nahrungsaufnahme (siehe unter 4.2.3) eine höhere Appetenz aufwiesen und bei der Konditionierung unter Umständen daher etwas besser abschnitten. Allgemein wurden keine Unterschiede zwischen den einzelnen Pestiziden gefunden. Das Lernverhalten der Bienen in ihrer Umwelt unterliegt weiteren Einflüssen und stellt eine komplexe neuronale Leistung dar.

Die Versuche wurden sowohl mit gekäftigten Bienen als auch mit Tieren, die einem Volk kurz zuvor entnommen wurden, durchgeführt. Hierbei konnte jedoch kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Abschließend soll noch erwähnt werden, dass die Versuche zur PER-Konditionierung auch witterungsabhängig sind, was sich unter anderem in unterschiedlicher Bereitschaft der Bienen, beim Test den PER zu zeigen, auswirkte. Es ist bekannt, dass Lernvermögen – neben vielen anderen Faktoren – auch von saisonalen Faktoren wie der Witterung abhängt (Menzel et al., 2001) und somit kann hier kein abschließendes Urteil zu den von uns untersuchten Pestiziden und deren Modulierung des PER-Verhaltens gegeben werden. Die Ergebnisse der Masterarbeit von Alexander Auer können über die Universität Graz online abgerufen werden.

4.2.5 Flugversuche mit Bienen unter dem Einfluss von Pestiziddosen

Durch Pestizide hervorgerufene Schädigungen an Honigbienen betreffen sowohl neuronale als auch physiologische Leistungen der Bienen. Um den Einfluss auf die physiologische Leistung (Flugleistung) der Biene zu ermitteln, wurden Karussell-Flugversuche mit 12-16 Tage alten Käfigbienen durchgeführt, denen zuvor während 48 h Pestiziddosen in Zuckerlösung (50%) in Höhe von zirka 20% der LD_{50} verabreicht wurde. Dies waren die folgenden Konzentrationen: Cypermethrin 200 ng/mL, Dimethoat 1200 ng/mL und Imidacloprid 40 ng/mL Zuckerlösung).

Danach erhielten sie für 24 h reine Zuckerlösung (50%) und daran anschließend wurde der Karussellflug durchgeführt.

Hierzu wurden die Bienen in ein Flugkarussell eingespannt, wobei nach einem sog. „Entleerungsflug“, der dazu diente, den Honigmagen der Bienen zu entleeren, damit die danach den Versuchsbienen verabreichte Zuckermenge allen Tiere den gleichen Energievorrat gibt. Diese verabreichte und definierte Menge Zuckerlösung betrug 10 μ L bei einer Konzentration von 2 M. Die mit dieser Zuckermenge zurückgelegte Strecke, die Flugdauer und durchschnittliche Fluggeschwindigkeit wurden dann bestimmt. Abbildung 4.9 zeigt die Versuchsanordnung des Flugkarussells.

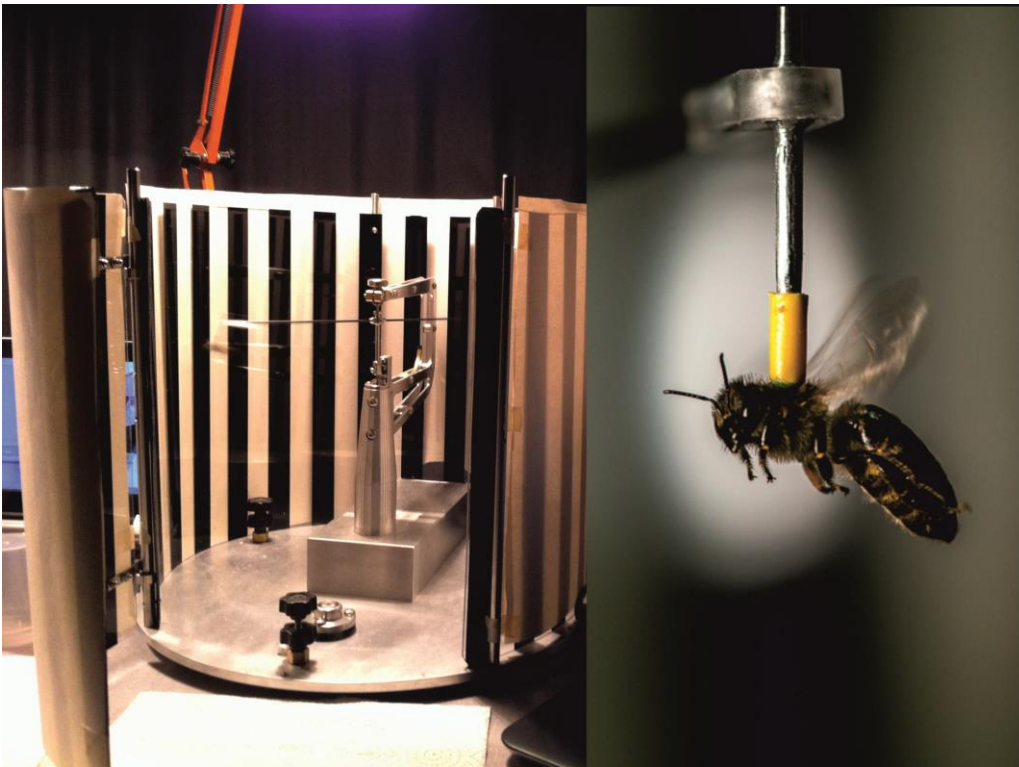


Abb. 4.9: Flugkarussell zur Messung der physiologischen Flugleistung von Bienen (links), auf Rotorarm des Flugkarussells aufgebrachte Arbeiterin (rechts). (Foto: ©Friedrich Simon Kugi)

Es konnte gezeigt werden (Abbildung 4.10), dass der Einfluss der oben erwähnten Pestiziddosen auf die reine Flugleistung der Biene (Flugdauer, Flugstrecke und Fluggeschwindigkeit) nicht signifikant ist. Als Kontrolle wurden sowohl unbehandelte Käfigbienen als auch Stockbienen (hive-control) verwendet, auch bekam eine Kontrolle das als Lösungsmittel der Pestizid-Stammlösungen eingesetzte Aceton in entsprechender Konzentration verabreicht. Damit blieb in unserem Versuch auch bei Testung unterschiedlich wirkender Pestizide die grundsätzliche physiologische Flugleistung der Bienen unbeeinträchtigt.

Seit der Durchführung unserer Arbeit erschien eine Studie (Tosi et al., 2017), die für ein anderes Neonikotinoid, Thiamethoxam, bei chronischer Exposition von zirka 2-3 ng/Biene in Flugkarussell-Versuchen Beeinträchtigungen der physiologischen Flugleistung gezeigt hat.

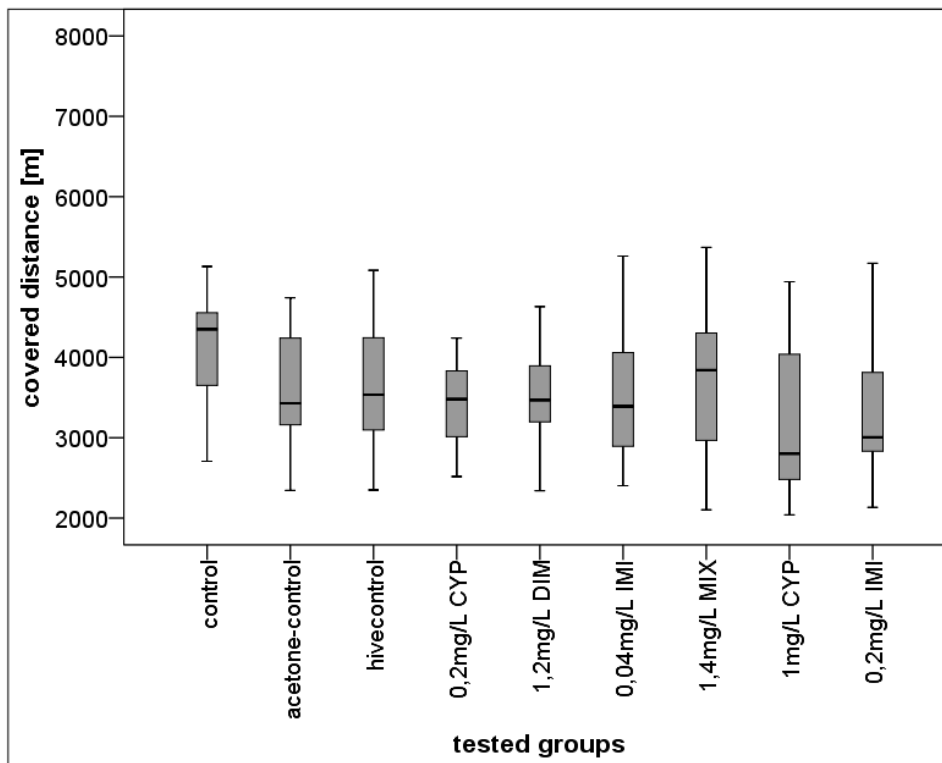


Abb. 4.10: Flugweite (covered distance) in Meter der einzelnen Bienengruppen, welche mit unterschiedlichen Pestiziden behandelt wurden. CYP-alpha-Cypermethrin, DIM-Dimethoat, IMI-Imidacloprid, MIX-Mischung der drei Pestizide.

Diese Versuche wurden im Rahmen der Masterarbeit von Verena Strobl am Institut für Zoologie (Graz) durchgeführt und sind über den Server der Universitätsbibliothek Graz online zugänglich.

4.2.6 Akute Vergiftung durch Pestizide und deren Kombination bei Hummeln (*Bombus terrestris*)

Außerhalb des Kernbereiches, aber ergänzend zu den Fragestellungen des Projekts, wurden Leistungsprüfungen (2014) und Wirkungen von Pestiziddosen unterhalb der LD₅₀ (auch in Mischung) bei Hummeln als Vertreter anderer Bestäuber in unserem Ökosystem durchgeführt.

Hummeln spielen als Bestäuber eine äußerst wichtige Rolle. Hummeln werden bereits seit einiger Zeit z.B. von Gemüseproduzenten als Bestäuber in Glashäusern verwendet. Sie tragen dort wesentlich zum wirtschaftlichen Erfolg bei; allein in den Niederlanden wurden im Jahr 2000 zirka 40.000 Hummelkolonien als Bestäuber in künstlichen Anlagen verwendet (van der Steen 2001). Somit haben Hummeln hinsichtlich ihrer Bestäubungsaktivitäten, wie Honigbienen, eine große wirtschaftliche Bedeutung.

Die aktuelle Diskussion um eine Gruppe von Pestiziden – die sogenannten Neonicotinoide – wurde durch Hilferufe der Imker in Gang gesetzt, die diese Stoffgruppe zumindest zum Teil als Verursacher des „Bienensterbens“ in Verdacht hatten (Pistorius et al., 2009). Bei Honigbienen (*Apis mellifera*) ist es vergleichsweise einfach, Verluste der Tiere zu registrieren, da sie von Menschen gehalten werden. Bei Hummeln und Wildbienen ist dies gemeinhin nicht der Fall. Während zum Einfluss von Pestiziden auf Honigbienen mittlerweile eine Fülle von Studien publiziert wurde

(Doublet et al. 2014; EASAC policy report 2015; Hoppe et al. 2015), ist der Einfluss von Pestiziden auf Hummeln, insbesondere der Einfluss kombinierter Pestiziddosen, weniger gut erforscht.

Für die hier durchgeführten Versuche wurden Imidacloprid (ein Neonicotinoid), α -Cypermethrin (Pyrethroid) und Dimethoat (Organophosphat) ausgewählt. Anhand von zuvor ausgetesteten LD₅₀-Werten dieser Insektizide wurden Kombinations-Schemata der drei Stoffe erstellt und an Arbeiterinnen von *Bombus terrestris* verfüttert. Die von uns ermittelten LD₅₀-Werte lagen meist deutlich über den Werten aus der Literatur (Marletto et al. 2003; Thompson 2001). Alle ergebnisbringenden Durchgänge wurden mindestens einmal wiederholt und es wurden stets Kontrollgruppen mitgeführt. Bei zeitgleicher Verabreichung der Kombination aller drei Stoffe in der von uns ermittelten LD₅₀ wurde eine erhöhte Mortalität verzeichnet und selbst bei einem Zehntel der Konzentration der drei Stoffe wurden sehr hohe Mortalitätsraten dokumentiert.

Für dieses Experiment wurden die Tiere einzeln in Nicot Cupkit[®]-Königinnenaufzuchtkäfigen für Honigbienen per Spritze gefüttert (Abbildung 4.11). Die Tiere befanden sich im Brutschrank bei kontrollierter Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Die tatsächlich aufgenommene Menge an Zuckerlösung wurde nach Ende der Fütterungsperiode durch Auswiegen ermittelt und daraus die tatsächlich aufgenommene Pestizidmenge berechnet.

Zunächst wurde die Wirkung von den einzeln verabreichten Pestiziden α -Cypermethrin, Dimethoat und Imidacloprid auf die Mortalität von Arbeiterinnen von *Bombus terrestris* untersucht. Dazu wurden in Experimenten zur Dosisfindung die akuten LD₅₀-Werte nach 24 h von jedem einzelnen Pestizid bestimmt (mehrere Durchgänge). Anschließend wurden die Pestizide kombiniert verfüttert. Die Ergebnisse zeigen, dass die gemessenen LD₅₀-Werte für alle drei Pestizide deutlich über den Literaturwerten liegen.

Im Folgenden werden die Ergebnisse zur Dosisfindung anhand von Mortalitätsraten bei Einzeltestung der drei oben erwähnten Pestizide (Abbildung 4.12-4.14) und die Mortalitätsraten bei Kombinationen dieser Pestizide (Abbildung 4.15) dargestellt.



Abb. 4.11: Hummelfütterung im Brutschrank einzeln in Nicot Cupkit[®]-Königinnenaufzuchtkäfigen. (Foto: ©A. Waibel)

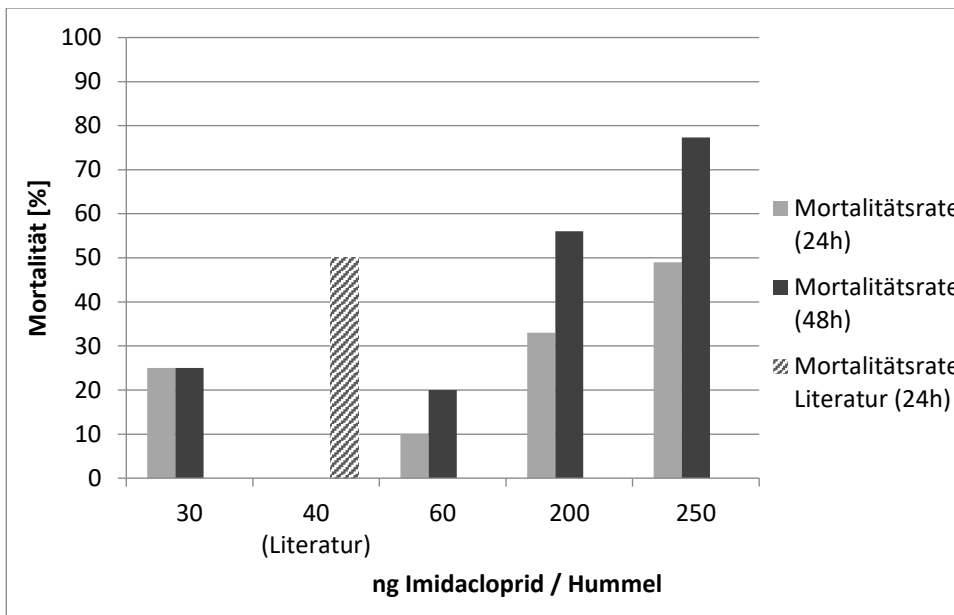


Abbildung 4.12: Mortalitätsrate von Hummel-Arbeiterinnen in Abhängigkeit von der Dosis (ng/Hummel) von Imidacloprid nach 24 h (hellgrauer Balken) und 48 h (dunkelgrauer Balken); schraffierter Balken weist auf Literaturwert hin.

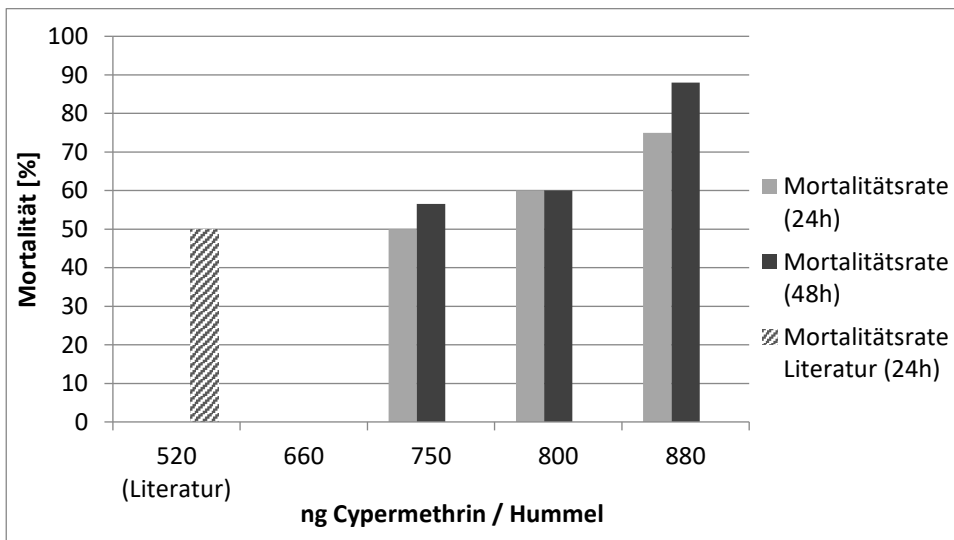


Abbildung 4.13: Mortalitätsrate von Hummel-Arbeiterinnen in Abhängigkeit von der Dosis (ng/Hummel) von α -Cypermethrin nach 24 h (hellgrauer Balken) und 48 h (dunkelgrauer Balken); schraffierter Balken weist auf Literaturwert (Thompson 2001) hin – bei diesem Pestizid wurde der Anfangswert aus der Literatur zu LD₅₀ bei Bienen auf Hummeln umgerechnet (unter Berücksichtigung der täglich aufgenommenen Nahrungsmenge beider Organismen).

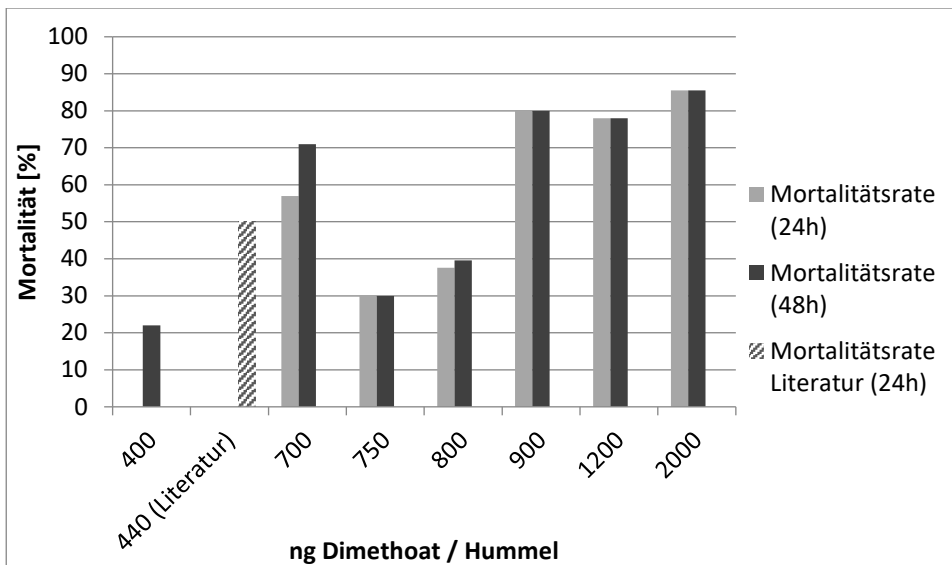


Abbildung 4.14: Mortalitätsrate von Hummel-Arbeiterinnen in Abhängigkeit von der Dosis (ng/Hummel) von Dimethoat nach 24 h (hellgrauer Balken) und 48 h (dunkelgrauer Balken); schraffierter Balken weist auf Literaturwert (Thompson 2001) hin.

In den Abbildungen 4.12-4.14 sind die Ergebnisse der einzelnen LD₅₀-Austestungen dargestellt, jeweils 24 h und 48 h nach erfolgter Pestizidaufnahme. Als Vergleich sind auch die Literaturwerte zu sehen. Diese Experimente dienen der Dosisfindung für die Kombinationsversuche. Allen Versuchen ist gemeinsam, dass die von uns gefundenen LD₅₀-Werte deutlich über den in der Literatur angegebenen Werten lagen.

Stellt man die Nahrungsaufnahme in Abhängigkeit zur Masse der Individuen dar, ist bei keinem der drei Pestizide eine deutliche Korrelation erkennbar. Die Nahrungsaufnahme stieg nicht – wie angenommen – mit dem Gewicht der Hummeln an. Bereits publizierte Untersuchungen weisen jedoch auf das Gegenteil hin (Thompson 2001).

In Abbildung 4.15 sieht man deutlich, dass die Mortalitätsrate bei Verabreichung des Pestizid-Mix mit LD₅₀ aller Pestizide tatsächlich sehr hoch ist, ebenso bei 1/10 der LD₅₀, wo man aufgrund der eingesetzten Dosen eine deutlich niedrigere Mortalität erwarten würde. Dies zeigt, dass die gleichzeitige Aufnahme mehrerer Stoffe eine Effektverstärkung mit sich bringt. Bei Verhaltensbeobachtungen wurde festgestellt, dass auch geringe Dosen der Insektizide starke Auswirkungen auf die Aktivität der Tiere hatten.

Auch wenn es den Anschein hat, dass Hummeln im Vergleich zu Honigbienen mit Pestiziden grundsätzlich besser zurechtkommen und robuster erscheinen, sind weitere Untersuchungen essentiell für die richtige Einschätzung des Gefährdungspotentials dieser wertvollen Bestäuber. Zum Beispiel sammeln Hummeln nicht zur selben Tageszeit wie Honigbienen und besuchen teilweise auch andere Pflanzenarten. Dadurch sind sie nicht zwangsläufig denselben Xenobiotika ausgesetzt wie Honigbienen. Die vorliegende Arbeit versteht sich als ein Hinweis auf die Gefährdung, die von Pestiziden und Pestizidkombinationen auch auf Hummeln ausgeht.

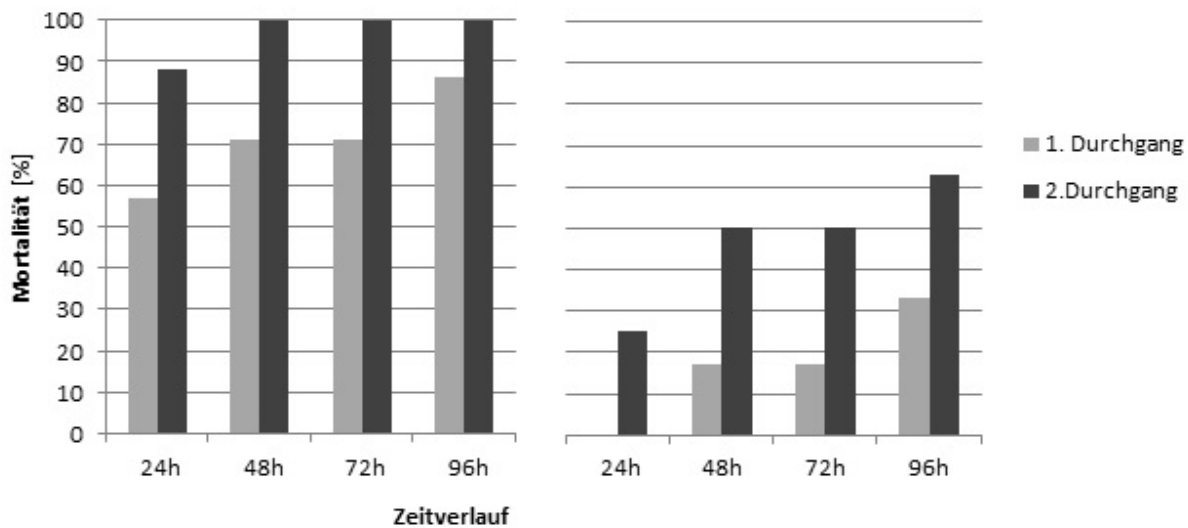


Abbildung 4.15: Zeitverlauf der Mortalität bei Aufnahme des Pestizid-Mix mit voller LD₅₀ Imidacloprid (250 ng/Hummel), α -Cypermethrin (750 ng/Hummel) und Dimethoat (800 ng/Hummel) (links); im Vergleich Aufnahme des Pestizid-Mix mit 1/10 LD₅₀ Imidacloprid (25 ng), α -Cypermethrin (75 ng) und Dimethoat (80 ng) (rechts), akut innerhalb von 2 h in 20 μ l 50%iger Saccharoselösung aufgenommen; erhöhte Mortalitätsrate bei wiederholter Durchführung, Durchgänge wurden nur gewertet, wenn in den Kontrollen eine Mortalitätsrate von 10% nach 48 h nicht überschritten wurde; Der Unterschied zwischen Versuch LD₅₀ und 1/10 LD₅₀ ist signifikant (Mann-Whitney-U-Test mit SPSS 20.0: $p < 0,00$).

Diese Studie wurde von Angelika Waibel (Graz) im Rahmen ihrer Bachelorarbeit durchgeführt und veröffentlicht (Waibel et al., 2016).

4.2.7 Überlebensrate von Käfigbienen, die kurzfristig unterschiedliche Dosen von Pestiziden mit oder ohne Beimischung von Gelée royale erhielten

Diese Versuche zielten darauf ab zu ermitteln, ob Pestizide, die sich eventuell (nach Aufnahme aus der Umwelt und eventueller Anreicherung) im Futterdrüsensaft der Ammen (Gelée royale) befinden, schädigend auf mit diesem Futtersaft gefütterte Tiere wirken können. Da es noch nicht möglich war, dies in einem direkten Experiment über die Fütterung von Ammen mit pestizid-hältigem Futter und der Weitergabe von Gelée royale dieser Ammen an andere Bienen oder Larven zu testen, wurde Gelée royale mit Pestiziden versetzt und zunächst an Käfigbienen verfüttert. Auch die Möglichkeit, dass Gelée royale etwa durch seinen Gehalt an Enzymen oder anderen biologisch aktiven Stoffen in der Lage ist, Pestizide zu neutralisieren oder Pestizidwirkungen abzuschwächen oder abzpuffern, muss in Betracht gezogen werden. Durch die Fütterung von Käfigbienen mit Gelée royale, dem Pestizide zugesetzt wurden, wurde versucht, einen Einfluss von Gelée royale auf die Pestizidtoxizität zu eruieren.

Für die Fütterungsversuche wurden vier Gruppen von adulten Jungbienen herangezogen:

Gruppe 1 bekam Zuckerwasser

Gruppe 2 bekam Zuckerwasser mit Gelée royale (1:1)

Gruppe 3 bekam Zuckerwasser mit je einer der drei unterschiedlichen Pestiziddosen (4, 8 oder 20 ng Clothianidin)

Gruppe 4 bekam Zuckerwasser mit den entsprechenden Pestiziddosen (s. Gruppe 2) und beigemischem Gelée royale (1:1).

Hierzu wurden je 20 frisch geschlüpfte Bienen gefüttert und für 48 h beobachtet, also die Mortalität nach 48 h notiert. Die Tiere wurden jeweils von Hand (Pipette) gefüttert. Dies ist notwendig, um zu gewährleisten, dass die entsprechende Pestizidmenge auch tatsächlich aufgenommen wird. Außerdem führt die Beimischung von Gelée royale zu einer veränderten Viskosität des Futters und dem teilweisen Absetzen von gelartigem Material, was bei der für Gruppenfütterung eingesetzten Fütterung per frei zugänglicher Spritze nicht tolerierbar ist.

Nach 48 h wurden durchweg in Gruppe 4 die jeweils höchsten Mortalitäten gefunden (Abbildung 4.16). Die Ergebnisse deuten darauf, dass von Gelée royale unter diesen Bedingungen kein Schutzeffekt ausgeht, sondern dass die Beimischung von Gelée royale zu pestizidhaltiger Zuckerlösung aufgrund der dann anders verlaufenden Verdauung (Darmassage) möglicherweise die Akuttoxizität dieser Pestizide erhöht. Weitere Untersuchungen zu diesem Themenkomplex erscheinen notwendig.

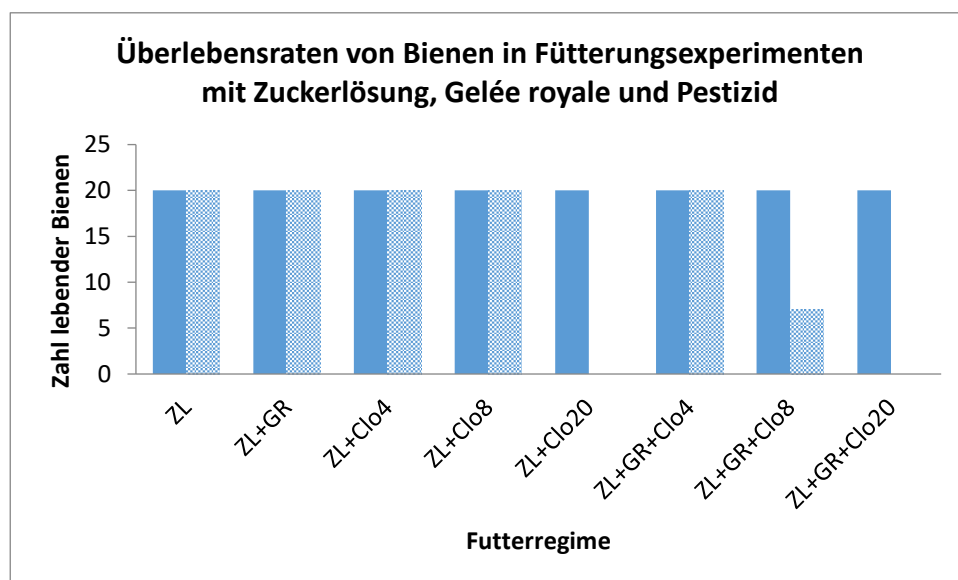


Abbildung 4.16: Überlebensraten der vier Gruppen à jeweils 20 Bienen: ZL – Zuckerlösung; ZL+GR – Zuckerlösung + Gelée royale; ZL+Clo4 (Clo8 und Clo20) – Zuckerlösung mit Clothianidin (4, 8 und 20 ng per Einzeldosis); ZL+GR+Clo4 (Clo8 und Clo20) – Zuckerlösung mit Gelée royale und Clothianidin (4, 8 und 20 ng per Einzeldosis). Voller Balken: Anzahl lebende Bienen bei Versuchsbeginn, schraffierter Balken: Anzahl lebende Bienen nach drei Tagen.

4.2.8 Einfluss verschiedener Pestizide in Kombination mit Pathogenexposition auf Hämozyten in Bienenlarven

Mit diesen Experimenten sollte die Problematik der kumulierten Effekte von Pestizidvergiftungen anhand des Einflusses von Pestizidgaben auf die Zahl von Hämozyten in Bienenlarven angesprochen werden. Das angeborene Immunsystem der Insekten umfasst die humorale und zelluläre Immunabwehr. Das zelluläre Immunsystem der Honigbienen bildet vier unterschiedliche Typen von Hämozyten aus dem Fettkörper, die in die Hämolymphe abgegeben werden, das sind Prohämozyt, Plasmatozyt, Granulozyt und Oenozytoid. Die Fragestellung war, ob Pestizide alleine oder in Kombination mit einer Inokulierung der Larven durch Sporen von *Paenibacillus larvae* (*Pl*), einem sporenbildenden Bakterium, welches die Amerikanische Faulbrut verursacht, einen Einfluss auf das zelluläre Immunsystem haben und zwar sowohl qualitativ (Einfluss auf die unterschiedlichen

Typen von Hämocyten) als auch quantitativ (Gesamtzahl der Hämocyten). Weiters wurde die Überlebensrate der Larven beobachtet. Somit wurden die Wirkungen verschiedener Pestizide wie Dimethoat, Clothianidin und tau-Fluvalinat auf die gesamte und differenzierte Hämocytenanzahl in Bienenlarven und die Mortalität untersucht. Die Dosis zur Pestizidexposition gegenüber Larven wurde in Anbetracht der z.B. für Dimethoat höheren Pestizidtoleranz von Larven entsprechend höher als die orale LD₅₀ der adulten Tiere angesetzt. Ausgangspunkt für die LD₅₀ waren Richtwerte aus der Literatur (Iwasa et al., 2004; Ghini et al., 2004; Chauzat et al., 2006) und die an Larven ermittelten LD₅₀-Werte von Aupinel et al. (2007). Letztere Arbeit gibt als orale LD₅₀ für Dimethoat eine Menge von 1.9 µg je Larven, die an 4 Tagen mit Pestizid gefüttert wurden und deren Mortalität dann nach 48 h bestimmt wurde, an. Nach durchgeführten Vorversuchen wurde beschlossen, für Dimethoat die LD₅₀ von erwachsenen Bienen und für Clothianidin dessen 8-fache LD₅₀ bei den Larvenexperimenten zu verwenden. Die höhere akute Toleranz von Bienenlarven gegenüber dem Insektizid Clothianidin, welches auf nikotinerge Rezeptoren wirkt, liegt möglicherweise im weit weniger entwickelten und daher gegen Insektizide unempfindlicheren Nervensystem der Larven. Mit der Wahl dieser Dosis sollte sichergestellt werden, dass auch eine genügend große Zahl an Larven die Exposition überlebt, da das Hauptaugenmerk dieser Studie auf der Beobachtung der Hämocytenpopulation lag. Auch erschienen uns Dosen von zirka 2 µg/Larve als nicht mehr feldrelevant.

Zur Inokulierung der Larven mit *PI* wurde eine Sporendosis appliziert, die unter unseren experimentellen Bedingungen für eine 50% Mortalität verantwortlich ist. Diese für eine 50% Mortalität notwendige Sporenmenge betrug zirka 100 Sporen/Larve. Die in Graz etablierte Bienenlarvenaufzucht wurde angewendet, wobei die jeweilige Menge an Pestizid oral den Larven innerhalb von 4 Tagen, beginnend mit dem ersten Larvenstadium bis vor der vierten Häutung (Gewicht der Larve dann c. 30 mg) verabreicht wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass die gesamte Hämocytenanzahl bei Applikation von Dimethoat (120 ng / Larve) und Clothianidin (32 ng / Larve) signifikant steigt. Des Weiteren bestätigen die Ergebnisse eine signifikante Veränderung in der Anzahl der differenzierten Hämocyten in pestizidbehandelten Gruppen im Vergleich zur Kontrolle. Dieser Effekt konnte jedoch nicht bei der Behandlung mit Fluvalinat nachgewiesen werden. Im Falle der Ko-Applikation von *PI*-Sporen kam es zu einer Unterdrückung der zellulären Immunantwort. Die Ergebnisse zeigen, dass die Pestizidbelastung eine erhebliche Auswirkung auf die Rekrutierung der zellspezifischen Immunantwort in Bienenlarven hat, was im Einklang mit kürzlich veröffentlichten Studien (z.B. Brandt et al., 2016) steht. Speziell auch bei Vorhandensein einer Virusbelastung lassen sich ähnliche immunschwächende Effekte durch Pestizide nachweisen (Di Prisco et al., 2013).

Die Ergebnisse sind im folgenden exemplarisch für Clothianidin (Neonicotinoid) allein und in Kombination mit *PI*-Sporen dargestellt. Für Dimethoat ergab sich das gleiche Bild, während Fluvalinat keine solch eindeutigen Beziehungen aufwies. Abbildung 4.17 gibt die Gesamthämocytenzahl wieder, welche in den insgesamt vier Gruppen ermittelt wurde, während Abbildung 4.18 die Effekte auf die Überlebensrate der Larven bei Ko-Applikation (Pestizid + *PI*-Sporen) wiedergibt.

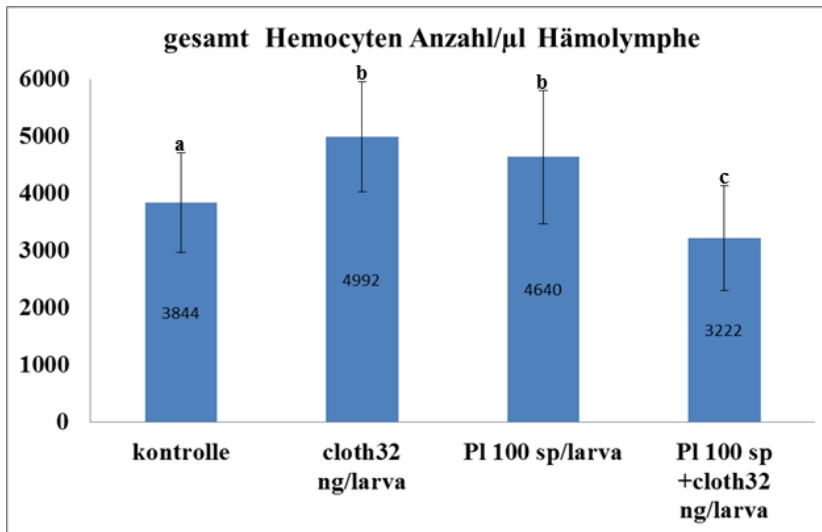


Abbildung 4.17: Anzahl der gesamten Hämocyten je µL Hämolymphe bei der Kontrolle, bei 32 ng Clothianidin/Larve bei kumulierter Gabe bis und mit d 4, bei Inokulierung mit zirka 100 Sporen von *PI*, sowie bei Kombination von Clothianidin/*PI*. Die statistische Auswertung (Mann-Whitney-U-Test) ergab jeweils signifikante Unterschiede für die Paare b/a, c/a und c/b.

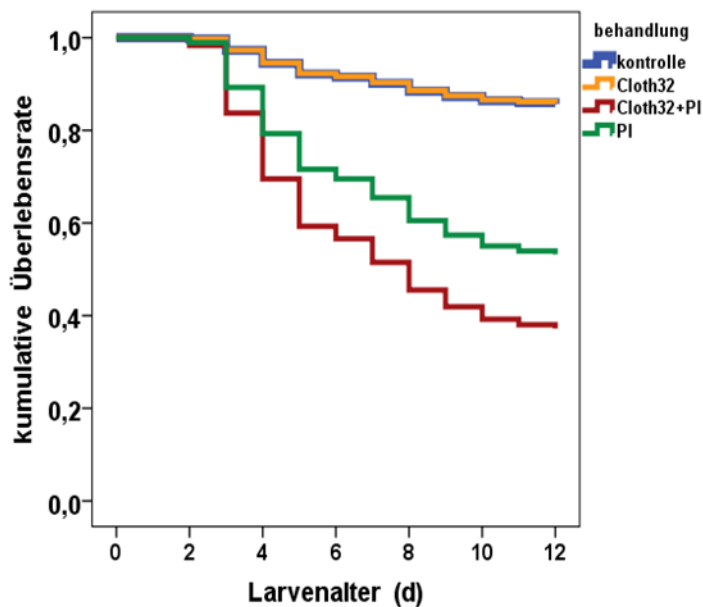


Abbildung 4.18: Überlebenskurven nach Cox-Regressionsanalyse von Larven mit unterschiedlicher Exposition: Kontrolle, 32 ng Clothianidin/Larve bei kumulierter Gabe bis und mit Tag 4, zirka 100 *PI*-Sporen/L und Kombination Clothianidin 32 ng mit zirka 100 *PI*-Sporen.

Wirft man einen Blick auf die jeweilige Anzahl differenzierter Hämocyten (Abbildung 4.19), so zeigt sich, dass die für die Pathogenabwehr besonders wichtigen Granulozyten sowohl bei Pestizidgabe (hier die Ergebnisse für Dimethoat gezeigt), als auch bei Inokulierung mit *PI*-Sporen stark ansteigen (was im Sinne einer Abwehrmaßnahme des zellulären Systems zu werten ist), jedoch bei Kombination dieser beiden Stressoren auf den Kontrollwert zurückfallen. Daraus lässt sich die durch die Kombination deutlich erhöhte Mortalität als Folge einer Schwächung der Fähigkeit, immunrelevante Granulozyten zu bilden, interpretieren.

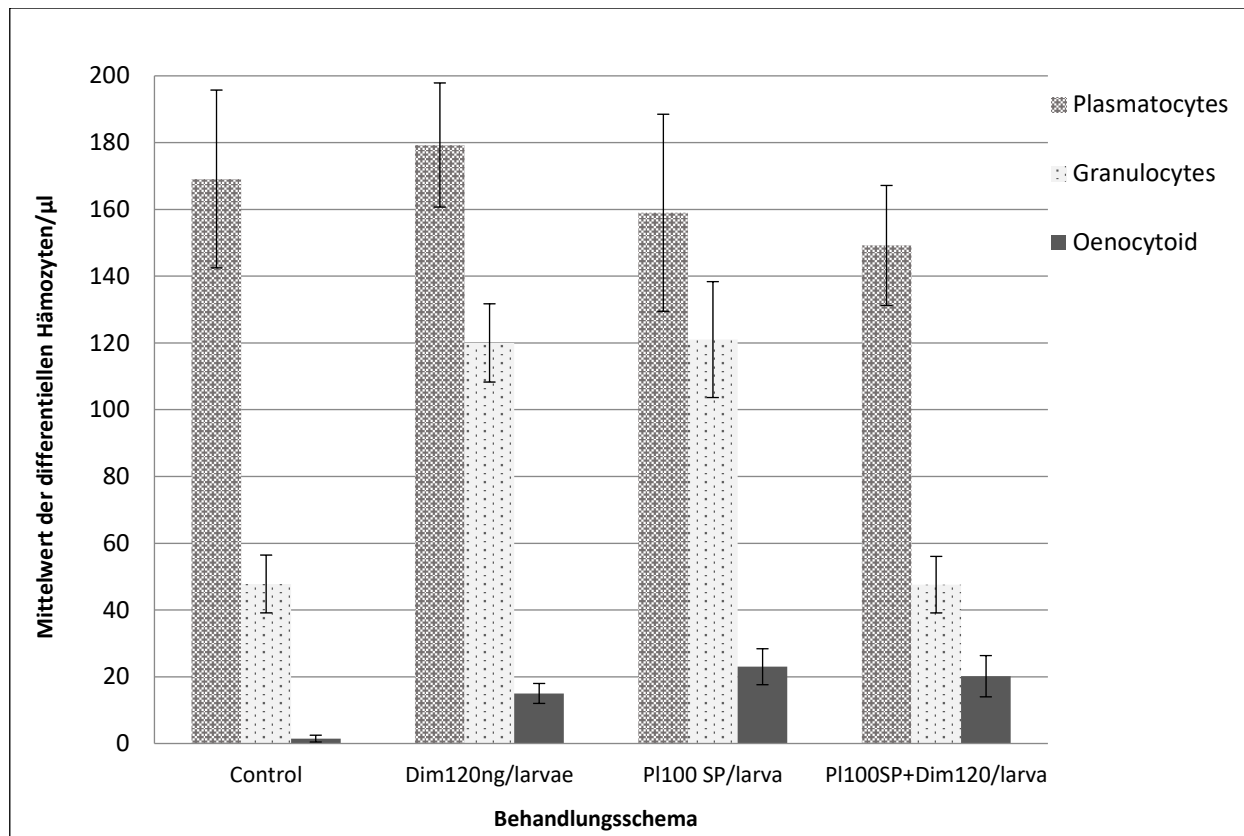


Abbildung 4.19: Anzahl differenzierter Hämocyten (Plasmatocyten, Granulozyten und Oenocytoiden) nach Gabe von 120 ng Dimethoat/Larve bei kumulierter Gabe bis und mit Tag 4.

Hämocyten sind in der Hämolymphe gebildete Zellen, welche bei der Pathogenabwehr der Honigbiene eine Rolle spielen. Mit den hier durchgeführten Versuchen konnte gezeigt werden, wie durch die Kombination zweier Stressoren (Pestizide und Bakteriensporen) synergistische Effekte in bezug auf die Gesamt-Hämocytenzahl in der Hämolymphe von Bienenlarven und bezüglich ihrer Mortalität entstehen.

Diese Versuche wurden von Antonia Engert im Rahmen ihrer Masterarbeit (Graz, 2016) durchgeführt und wurden 2017 veröffentlicht (Hernández López et al., 2017a).

4.3 Darstellung der Ergebnisse aus den Jahren 2016-2017

4.3.1 Kutikulare Kohlenwasserstoffmuster von mit Pestiziden oder Lipopolysaccharid (LPS) behandelten Arbeiterinnen rufen eine Immunaktivierung in Bienenköniginnen hervor

4.3.1.1 Einleitung

Kutikulare, d.h. auf der Körperoberfläche von Bienen anzutreffende Kohlenwasserstoffe (hauptsächlich gesättigte und einfach ungesättigte höhere Alkane) haben eine große Bedeutung für die chemische Kommunikation im Insektenreich (zum Beispiel bei Ameisen, Termiten und Wespen), aber auch speziell im Bienenstock (Dani et al., 2005; Howard et Blomquist, 2005; Richard et al., 2008). Sie werden z.T. von differenzierten Hämocyten, den sogenannten Oenocyten, gebildet und sind jeweils für ein Bienenvolk charakteristisch. Die Unterschiede im Kohlenwasserstoffmuster kommen durch je unterschiedliche Anteile einzelner Kohlenwasserstoffkomponenten zustande (Howard et Blomquist, 2005). Diese Kohlenwasserstoffmuster werden von Stockgenossinnen

wahrgenommen und können gewisse Verhaltensweisen hervorrufen. Es ist bekannt, dass das Muster dieser Kohlenwasserstoffe durch äußere Einflüsse auf Bienen verändert werden kann und dass diese Veränderungen z.B. bei der Erkennung von kranken Stockgenossinnen eine Rolle spielen (Baracchi et al., 2012).

In diesem Versuch interessierte uns die Frage, ob Pestizide oder auch Lipopolysaccharid (dies ist ein Bestandteil der Bakterienzellwand, welcher Immunreaktionen auslösen kann und damit quasi eine Infektion vorzutäuschen in der Lage ist) entsprechende Veränderungen dieser Kohlenwasserstoffmuster erzeugen und inwieweit dieses veränderte Kohlenwasserstoffmuster von der Königin wahrgenommen wird und Einfluß auf die Aktivierung von immunrelevanten Genen der Königin hat. Diese Frage ist auch relevant im Hinblick auf die Ressourcennutzung der Königin.

Kutikulare Kohlenwasserstoffe sind praktisch nicht flüchtig und ihre Wahrnehmung durch Stockgenossen erfordert daher einen direkten Kontakt. In einem früheren Experiment (Richard et al., 2008) wurden Kohlenwasserstoffbuketts erkrankter Stockbienen gesunden Bienen präsentiert, woraufhin seitens der nicht-behandelten Bienen ein Abwehrverhalten ausgelöst wurde. Auch konnte gezeigt werden, dass die Injektion von zum Beispiel Bakterien oder bakterien-imitierenden Mikrokügelchen Einwirkungen auf die Oenozysten und den Fettkörper von Bienen hat (Richard et al., 2012). Sowohl Oenozysten als auch der Fettkörper sind an der Synthese lipophiler Stoffe, zu denen auch die kutikularen Kohlenwasserstoffe gehören, beteiligt. In diesem Zusammenhang ist auch die Tatsache interessant, dass Bienen, die von Varroamilben parasitiert werden, ein verändertes Kohlenwasserstoffmuster zeigen (Baracchi et al., 2012).

Weiterhin macht die Lebensweise in einem gemeinsamen Stock besondere Vorkehrungen notwendig, um dem Pathogendruck standzuhalten. Hinzu kommt, dass Honigbienen zum Beispiel gegenüber Fruchtfliegen (*Drosophila*) eine deutlich reduzierte Menge an „Immun-Genen“ aufweisen, das heißt an Genen, welche für Proteine kodieren, die in der Immunantwort eine Rolle spielen. Dieser Mangel wird aber durch das sogenannten soziale Immunsystem (Reinigungsverhalten und vieles mehr) der Bienen kompensiert (Evans et al., 2006). In einer früheren Publikation konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass ein Immunstimulus auf die Königin (z.B. durch Injektion abgetöteter Bakterien) einen infektionsschützenden Effekt auf die im Anschluss an diesen Immunreiz produzierten Nachkommen der Königin hat und somit einen Schutzeffekt gegenüber Pathogenen bewirkt (Hernández López et al., 2014).

Diese Ergebnisse und weitere Beobachtungen bildeten den Hintergrund für die vorliegende experimentelle Studie. Zentral war dabei die Frage, ob Königinnen in der Lage sind, zwischen gesunden und erkrankten Ammenbienen zu unterscheiden. Die Beobachtungsgröße für eine Reaktion auf veränderte Kohlenwasserstoffmuster bestand in vier Genen, welche für die Produktion von antimikrobiellen Proteinen (AMP) kodieren. Die Aktivierung dieser Gene wurde mittels quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) erfasst und statistisch ausgewertet. Die Kohlenwasserstoffmuster behandelter oder nicht-behandelter (= Kontrolle) Arbeiterinnen wurden der Königin entweder durch direkten Kontakt (Arbeiterin-Königin), über eine Sperre, die keinen Körperkontakt, aber den Austausch von dampfförmigen Substanzen zuließ, und schließlich über auf Papierblättchen der Königin dargebrachte Ablutionen der Kohlenwasserstoffe von Arbeiterinnen dargebracht. Bei dieser Untersuchung ging es nicht primär um die Auswirkung von Pestiziden auf das Kohlenwasserstoffmuster von Arbeiterinnen, sondern um die Auswirkung von Pathogenitätsfaktoren (Lipopolysaccharid) mit entsprechenden Kontrollgruppen (Ringerlösung gegenüber nicht-behandelt). Eine Ausweitung dieser Studie zum Erfassen von ähnlichen Wirkungen, die möglicherweise durch Pestizide hervorgerufen werden können, steht noch aus.

4.3.1.2 Durchführung

Die für die Versuche benötigten Königinnen wurden bei uns am Institut nach einer gut eingeführten und verlässlichen Methode aufgezogen (Reid 2015).

Für den Versuch mit Arbeiterinnen wurden fünf Tage alte Arbeiterinnen benutzt, welche von Babybienen abstammten, die aus Waben, die im Brutschrank gehalten wurden, schlüpfen. Diese wurden je einer der folgenden Gruppen zugeteilt:

Gruppe 1: unbehandelt

Gruppe 2: mit 2 μ L Ringerlösung injiziert

Gruppe 3: mit 2 μ L Lipopolysaccharid (LPS)-Lösung injiziert (Konzentration 0,5 mg/mL).

Nun wurden in drei verschiedenen Szenarien die geschlüpften Königinnen mit diesen Arbeiterinnen in Kontakt gebracht:

Szenario A: Die Königinnen wurden einzeln in Plastikkäfige gesetzt und mit je 30 Arbeiterinnen der o.g. Versuchskohorten zusammengegeben. Zugang zu Zuckerwasser (50%) und Pollen wurde *ad libitum* gewährt.

Szenario B: Die Königinnen wurden mittels spezieller Anordnung von Käfigkompartimenten räumlich von den 30 Arbeiterinnen der drei Gruppen getrennt, sodass kein physischer Kontakt möglich war.

Szenario C: Die Königinnen wurden mit einer Ablution (Waschlösung nach Tauchen in *n*-Hexan) der Arbeiterinnen, welche nach Aufkonzentrierung auf ein Papierblättchen gegeben wurde, durch manuelle Behandlung ihrer Antennen mit diesem Papierblättchen mit den abeluierten Stoffen in Kontakt gebracht. Hernach verblieb das Papierblättchen im Käfig mit der Königin.

Jeweils nach 48 h wurden die Königinnen schockgefroren und bis zur Analyse der ausgewählten Gene im Tiefkühlschrank (-80 °C) aufbewahrt.

Folgende vier Gene, die für krankheitsabwehrende antimikrobielle Peptide kodieren, wurden für die Analyse mittels qPCR (quantitative Polymerase-Kettenreaktion) ausgewählt: Abaecin, Defensin 1, Hymenoptaecin und Apidaecin. Damit wurde ein repräsentativer Bereich an immunrelevanten Genen erfasst. Das Gen für Actin wurde zur Normalisierung der erhaltenen Werte der Genexpressionen verwendet.

Gleichzeitig wurden die Kohlenwasserstoffmuster der oben erwähnten drei Behandlungskohorten mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie erfasst.

4.3.1.3 Ergebnisse

Eine Immunaktivierung der untersuchten Gene für antimikrobielle Peptide wurde generell nur bei solchen Königinnen beobachtet, die mit den Arbeiterinnen der oben genannten Gruppen direkten Körperkontakt hatten und wenn diese selbst eine Immunreizung (durch Ringer- oder Lipopolysaccharid-Einspritzung) erfuhren. In den Königinnen, welche räumlich von den behandelten Arbeiterinnen getrennt gehalten wurden, konnte kein Effekt auf die Gentranskription nachgewiesen werden. Abbildung 4.20 zeigt für Abaecin, Defensin 1, Hymenoptaecin und Apidaecin die entsprechenden Niveaus der Gentranskription.

Eine signifikante Erhöhung der Transkriptionsrate konnte für die Gene von Abaecin, Defensin 1 und Hymenoptaecin gefunden werden, nicht aber für die Gene von Apidaecin. Auch für die Königinnen, welche keinen direkten Kontakt zu Arbeiterinnen hatten, wurde keine erhöhte Transkriptionsrate für die antimikrobiellen Peptide gefunden.

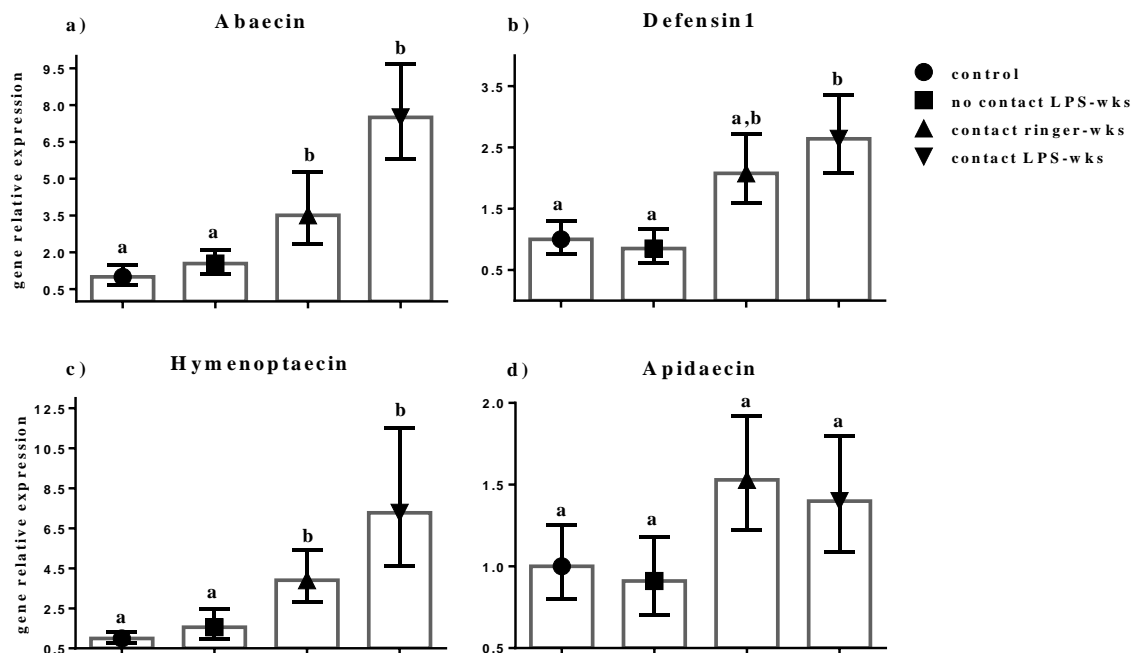


Abbildung 4.20: Gentranskriptionsniveaus für die Gene von vier antimikrobiellen Peptiden für die vier Behandlungsgruppen: ● Kontrolle, das heißt Königin hat direkten Kontakt zu unbehandelten Arbeiterinnen, ■ Königin ohne direkten Kontakt zu Lipopolysaccharid (LPS)-stimulierten Arbeiterinnen, ▲ Königin mit Kontakt zu Ringer-stimulierten Arbeiterinnen, ▼ Königin mit Kontakt zu LPS-stimulierten Arbeiterinnen. Jeweils für a) Abaecin, b) Defensin1, c) Hymenoptaecin und d) Apidaecin.

Die Ergebnisse zeigen, dass direkter Körperkontakt notwendig ist, damit eine Erhöhung der Transkriptionsrate erfolgt. Dies lässt den Schluss zu, dass die Königin über direkten Kontakt zu den Arbeiterinnen über die Belastung des Volks mit gewissen Krankheiten „informiert“ wird, was dann zu einer entsprechenden Verstärkung der nicht-zellulären Immunantwort (in diesem Falle über antimikrobielle Peptide) führt.

Die Abwaschung der kutikulären Kohlenwasserstoffe von Arbeiterinnen und deren Präsentation gegenüber der Königin auf Papierblättchen ermöglichte das ausschließliche Studium des Einflusses der Kohlenwasserstoffmuster. Damit sollten andere Effekte trophallaktischer Art ausgeschlossen werden.

Hierzu wurden von 30 Arbeiterinnen der Behandlungsgruppen Ringer-Injektion oder LPS-Injektion mittels *n*-Hexan das Kohlenwasserstoffgemisch abeluiert, vom Lösungsmittel befreit und dann entweder auf Papierblättchen den bislang völlig unbehandelten Königinnen präsentiert oder im Gaschromatographen, gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert. Danach wurden wiederum die Transkriptionsniveaus der vier antimikrobiellen Peptide gemessen (Abbildung 4.21).

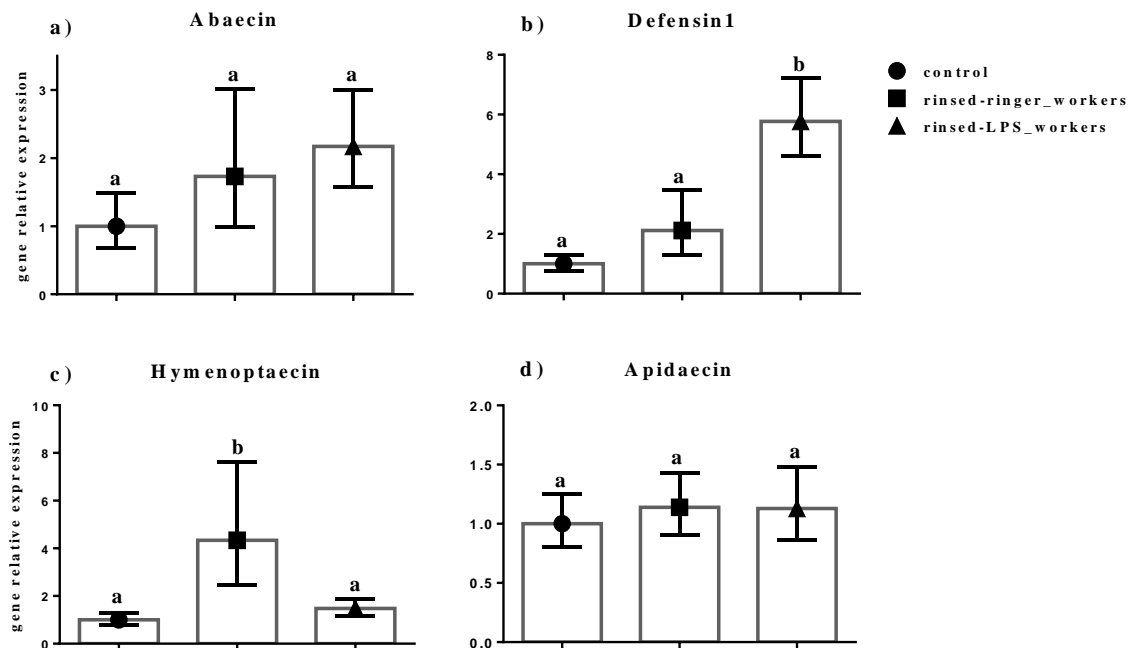


Abbildung 4.21: Gentranskriptionsniveaus der vier für antimikrobielle Peptide codierenden Gene nach Exposition der Königin gegenüber auf Papierblättchen dargebotenen, von behandelten Arbeiterinnen heruntergewaschenen Kohlenwasserstoffen. Die drei Balken einer Teilabbildung beziehen sich auf die ● Kontrolle (Hexanextrakt von unbehandelten Arbeiterinnen), ■ Ringer-behandelte Arbeiterinnen und ▲ Lipopolysaccharid-stimulierte Arbeiterinnen.

Wie man erkennt, sind die Aktivierungsniveaus der für antimikrobielle Proteine (AMP)-codierenden Gene unterschiedlich, je nach Behandlung der Arbeiterinnen. Für die Ringer-behandelte Arbeiterinnengruppe wurde eine Transkriptionserhöhung von Hymenoptaecin gefunden, dagegen war für die LPS-behandelte Gruppe die Transkription des Defensin 1-Gens signifikant erhöht. Wie auch im vorigen Versuch (Abbildung 4.20) gefunden, konnte für Apidaecin keine signifikante Änderung des Transkriptionsniveaus gefunden werden.

In einem weiteren Versuch wurde der zeitliche Verlauf der Immunaktivierung bei den behandelten Arbeiterinnen nach 24 und 48 Stunden beobachtet. Auf diese Weise wollten wir herausfinden, ob eine Stimulierung mit Ringerlösung versus LPS-Lösung zu einer unterschiedlich lang anhaltenden Immunantwort führt (Abbildung 4.22). Da Ringerlösung (physiologische Kochsalzlösung) ohne immunaktivierende Bestandteile ist, sollte es auf diese Weise möglich sein, den Einfluss der Reizung der Biene (Einstich, Wundverheilung) gesondert zu betrachten.

Es ergibt sich sehr deutlich, dass die Immunantwort bei den mit Ringerlösung stimulierten Arbeiterinnen einerseits wesentlich weniger deutlich ausfällt, andererseits nach 48 h wieder auf das ursprüngliche Niveau der sog. naiven (= unbehandelten) Arbeiterinnen abfällt. Dies zeigt, dass die Reizung (Einstich, Injektion) zwar einen (eher geringen) Einfluss auf die Transkriptionsrate der vier antimikrobiellen Peptide hat verglichen mit der Reizung mit dem aus Bakterienwänden isolierten Lipopolysaccharid (LPS), sowie dass der Effekt für Ringer-Reizung bereits nach 48 h nicht mehr sichtbar ist. Es erscheint daher plausibel, dass die Biene zwischen einem eigentlichen Immunreiz (Vorhandensein von Pathogenitätsfaktoren wie LPS) und der Reizung durch eine Kontrolle (Ringerlösung) in Bezug auf die Stärke und Dauer ihrer Immunantwort klar unterscheiden kann.

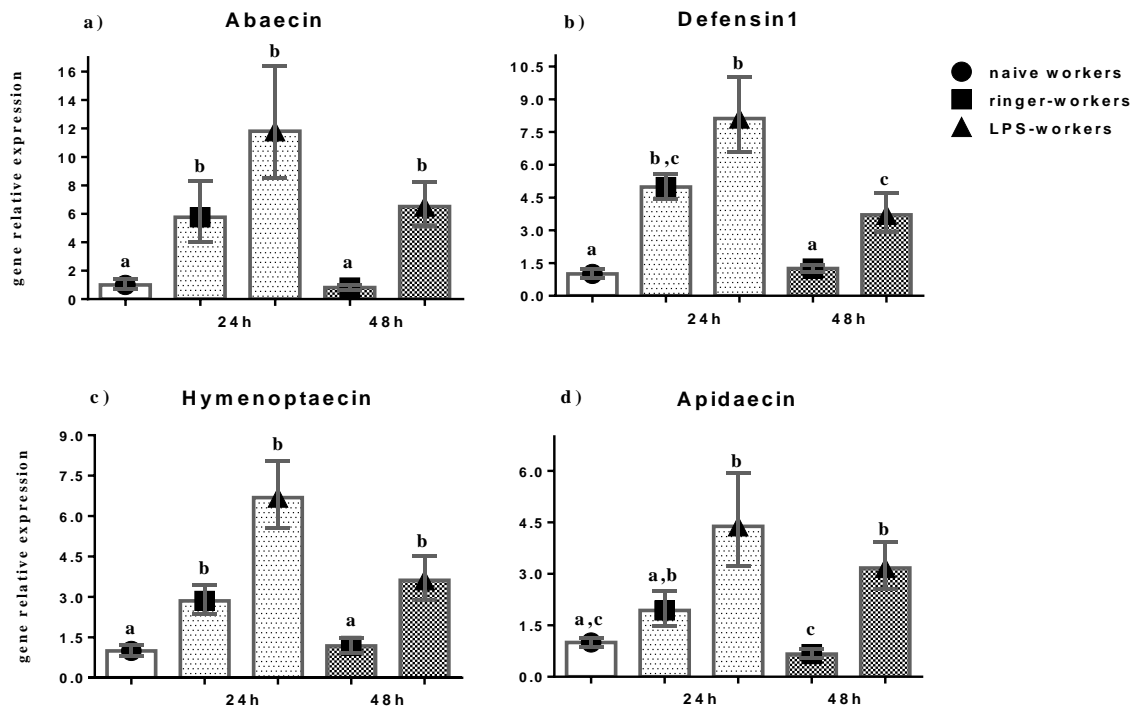


Abbildung 4.22: Transkriptionsniveaus der vier antimikrobiellen Peptide im zeitlichen Verlauf, das heißt nach 24 und 48 h, in Arbeiterinnen (● Kontrolle), die entweder mit ■ Ringerlösung oder mit ▲ Lipopolysaccharid-Lösung stimuliert wurden. Man sieht deutlich, daß der immunstimulierende Effekt bei einer Ringerlösung-Stimulation wesentlich kürzer als bei einer LPS-Stimulation anhält.

Im weiteren interessierte uns die Frage, ob die Unterschiede im Kohlenwasserstoffmuster von je unterschiedlich behandelten Arbeiterinnen so deutlich sind, daß sich die unterschiedlichen Behandlungsgruppen nach einer statistischen Behandlung klar auseinanderhalten lassen. Hierzu wurden einzelne Arbeiterinnen der jeweils drei Behandlungsgruppen (unbehandelte Kontrolle, Ringerlösung-behandelte und LPS-behandelte Gruppe) per Gas-Chromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie analysiert und die Kohlenwasserstoffmuster (das heißt die Prozentsätze der unterschiedlichen identifizierten Substanzen gemäß Tabelle 4.1) statistisch durch Diskriminanzanalyse untersucht. Dies ergibt eine klare Scheidung in drei Gruppen, wie aus Abbildung 4.23 ersichtlich ist.

So konnte nun auch gezeigt werden, dass die unterschiedlichen Genaktivierungen mit je unterschiedlichen Kohlenwasserstoffmustern korrelieren, dass also je nach Behandlung der Arbeiterinnen das Kohlenwasserstoffmuster auf spezifische Weise beeinflusst wurde.

Zusammenfassend hat diese Arbeit gezeigt, dass Königinnen bei direktem Kontakt mit Arbeiterinnen, die aufgrund einer Behandlung ein unterschiedliches Kohlenwasserstoffmuster zeigen, immunrelevante Gene in höherem Maße transkribieren, was auf einen Schutzeffekt bezüglich der Nachkommenschaft der Königin hinausläuft. Diese Immunaktivierung fand nur bei direktem Körperkontakt oder bei Kontakt mit entsprechenden Kohlenwasserstoffextrakten der Arbeiterinnen,

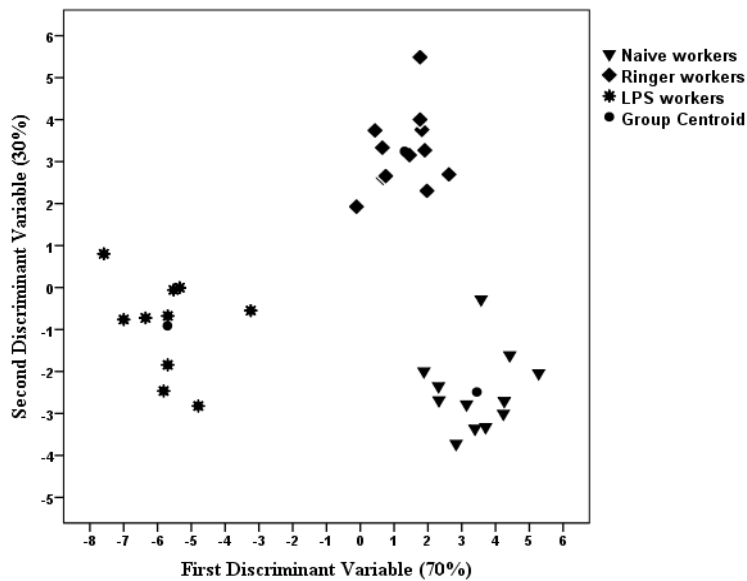


Abbildung 4.23: Diskriminanzanalyse der Kohlenwasserstoffmuster unterschiedlich behandelter Arbeiterinnen. Es wurden verglichen: ▼ Kontrolltiere (keine Behandlung), ◆ Ringerlösung-injizierte und * Lipopolysaccharid-Lösung-injizierte Arbeiterinnen. Jedes der Symbole im Graphen steht für je eine untersuchte Arbeiterin.

die der Königin direkt dargeboten wurden, statt und betraf nicht alle vier hier untersuchten und für antimikrobielle Peptide kodierenden Gene in gleichem Ausmaß. Ferner konnte gezeigt werden, dass die Immunaktivierung bei individuellen Arbeiterinnen in Abhängigkeit von der Stärke des Reizes (Ringer vs. Lipopolysaccharid) unterschiedlich stark ausfällt und unterschiedlich lange anhält, was darauf schließen lässt, dass unbedeutende Reizungen (Ringer) nicht zu einer vollen und für die Biene kostenintensiven Immunantwort führen.

Somit kann auf eine Modulation des Immunstatus der Königin angesichts der Wahrnehmung von erkrankten Arbeiterinnen geschlossen werden. Die Weitergabe dieser Information beruht in diesem Falle auf der Wahrnehmung unterschiedlicher Kohlenwasserstoffmuster. Dies würde es der Königin ermöglichen, über transgenerationale Immunmechanismen das Volk über die erhöhte Widerstandsfähigkeit der aus den gelegten Eiern schlüpfenden Larven zu schützen, ohne mit den Pathogenen direkt in Kontakt kommen zu müssen.

Berücksichtigt man die Tatsache, dass hier über chemische Signale aus dem Bienenvolk in der Königin Immunreaktionen, die mit einem gewissen Einsatz von Energie verbunden sind, ausgelöst werden, so zeigt sich die Relevanz dieser Forschungsansätze angesichts der immer häufiger vermeldeten Berichte über Königinnensterben, was Völkerverluste mit sich bringt (vgl. die Ergebnisse aus Modul 1). Eine Königin kann möglicherweise dadurch geschwächt werden, dass sie eine unnötige Immunreaktion in Gang setzt, ein Vorgang, der ihre Ressourcen vermindert und eventuell ihre Widerstandsfähigkeit senkt und zu vorzeitigem Tod führt. Immunreaktionen sind mit Fitnesskosten verbunden, da innerhalb des Organismus eine Konkurrenz um die verfügbaren Ressourcen besteht (Riessberger-Gallé et al., 2015).

Die Ergebnisse dieses Versuchsteils wurden 2017 publiziert (Hernández López et al., 2017b).

Tabelle 4.1 Liste mit Retentionszeit und prozentualem Anteil der identifizierten Komponenten des Kohlenwasserstoffmusters von Arbeiterinnen (in Prozent, mit Standardabweichung) und Ergebnis des Kruskal-Wallis-Tests (Signifikanz).

Substanz	Retentionszeit (min)	Kontrolle unbeh. Arbeiterin	Ringer-injizierte Arbeiterin	LPS-injizierte Arbeiterin	Kruskal-Wallis-Test
Heneicosan	12,304	1,06±0,32	1,05±0,36	1,02±0,25	0,9480
9-Tricosen	13,350	1,22±0,45	1,46±0,57	1,41±0,40	0,3723
Tricosan	13,495	5,43±1,25	5,04±0,82	4,15±1,05	0,0355
Tetracosan	13,902	0,24±0,14	0,46±0,18	0,93±0,56	0,0001
12-Pentacosen	14,599	1,01±0,22	1,10±0,14	1,06±0,20	0,1965
Ppentacosan	14,773	3,94±0,64	4,17±0,56	3,75±0,50	0,1710
Methylpentacosan	15,006	0,86±0,14	1,05±0,11	1,08±0,16	0,0011
Heptacosan	16,327	13,44±1,21	13,60±2,27	12,76±1,31	0,4288
Methylheptacosan	16,589	6,74±0,73	7,62±0,87	8,45±0,81	0,0005
Octacosane	16,792	0,85±0,26	0,73±0,41	1,10±0,10	0,0057
Methyloctacosan	17,141	1,01±0,08	1,01±0,10	1,04±0,08	0,4808
Nonacosen Isomer I	17,431	0,96±0,13	1,14±0,15	2,00±0,97	0,0000
Nonacosen Isomer II	17,881	1,24±0,16	1,41±0,12	1,45±0,17	0,0104
Nonacosan	18,085	10,79±1,03	9,57±0,72	8,62±0,56	0,0001
Methylnonacosan	18,375	8,00±0,67	8,21±1,06	9,42±0,80	0,0021
Triacnten	18,622	2,26±0,28	2,28±0,31	2,36±0,29	0,6450
Hentriacnten Isomer I	19,784	4,74±0,57	4,88±0,49	4,58±0,53	0,4240
Hentriacnten Isomer II	19,842	3,71±0,36	3,83±0,26	3,48±0,35	0,0587
Hentriacntan	20,016	5,84±0,73	5,24±0,74	4,42±0,71	0,0010
Methylhentriacnten	20,321	4,66±0,61	4,62±0,56	5,32±0,42	0,0081
Dotriacntan	20,554	1,32±0,20	1,29±0,15	1,40±0,19	0,0989
Methyldotriacntan	20,786	0,71±0,13	0,73±0,21	0,72±0,12	0,8468
Tritriacntadien	21,599	1,02±0,25	1,22±0,24	1,34±0,19	0,0272
Tritriacntan	21,861	11,11±1,24	12,16±1,69	11,36±1,90	0,1932
Methyltritriacntan Isomer I	22,035	1,39±0,31	1,25±0,33	1,03±0,31	0,0749
Methyltritriacntan Isomer II	22,340	1,86±0,44	1,73±0,20	2,11±0,26	0,0285

4.3.2 Pestiziddosen führen über veränderte Kohlenwasserstoffmuster zur aktiven Entfernung pestizid behandelter Bienenlarven im Bienenstock

4.3.2.1 Einleitung

Die hier beschriebenen Experimente basieren zum Teil auf den unter Punkt 4.2.9 vorgestellten Experimenten. In diesem Fall wurde die Entstehung unterschiedlicher Kohlenwasserstoffmuster bei Pestizidgabe an Larven untersucht und deren Einfluss auf Verhaltensmuster von Ammen gegenüber Larven im Stock ermittelt. Berichte über leere Brutzellen (Sandrock et al., 2014; Wu-

Smart & Spivak, 2016), die bei chronischer Exposition gegenüber Pestiziden (Neonikotinoiden) beobachtet wurden, lassen die Frage meist unberührt, wie es zur Ausräumung von Brutzellen im Stock kommt. Dies unterstreicht die Bedeutung von Untersuchungen, die möglichst nah an Freilandbedingungen durchgeführt werden. Mit der vorliegenden Studie sollte eine diesbezügliche Lücke geschlossen werden.

In der im folgenden beschriebenen Arbeit wurde untersucht, wie sich die beiden Pestizide Dime-thoat (Organophosphat) und Clothianidin (Neonikotinoid), sowie eine Stimulierung durch das aus Bakterienwänden gewonnene Lipopolysaccharid (LPS) auf die Kohlenwasserstoffmuster von Larven auswirken und inwieweit allfällige Änderungen der Kohlenwasserstoffmuster bei den Ammen Verhaltensweisen auslösen, die zur Entfernung von als krank oder belastet erkannten Larven aus dem Stock führen.

Bei sozialen Insekten spielt die chemische Kommunikation durch Pheromone und Kohlenwas-serstoffmuster eine entscheidende Rolle: zur Kastendetermination, zur Erkennung von Stock-genossen oder zur Wahrnehmung von Störungen z.B bei kranken oder vergifteten Stockgenossen (Howard & Blomquist, 2005; Le Conte & Hefetz, 2008). Wie wir und andere Gruppen zeigen konnten, äußert sich die Belastung von Bienen zum Beispiel durch Pathogene in einem veränderten Muster der auf der Oberfläche der Tiere (Kutikula) präsentierten Kohlenwasserstoffmuster (Howard & Blomquist, 2005). Die Lebensbedingungen im Stock, das heißt auf engem Raum bei Brutnesttemperaturen, die auch für Pathogene (Pilze, Bakterien) günstig sind, machen Mechanis-men erforderlich, die bei aufkommenden Krankheiten eine Kalamität verhindern. Ein hier aufge-zeigter Mechanismus betrifft die Immunantwort der Königin, die durch chemische Signale (Kohlen-wasserstoffmuster) aus dem Stock moduliert wird. Ein anderer Mechanismus vollzieht sich auf der Ebene der Larven, wo wir zeigen konnten, dass Pestizid- oder LPS-belastete Larven veränderte Kohlenwasserstoffmuster zeigen, welche offenbar den Ammen ein Signal zum Ausräumen der Brutzellen durch Ammenbienen geben.

4.3.2.2 Durchführung

Für die Versuche wurde die künstliche Larvenzucht eingesetzt und wie im unter Punkt 4.3.1 dargestellten Versuch wurden unterschiedlich behandelte Gruppen von Tieren miteinander verglichen. Diese Gruppen bestanden in Larven, welchen Dosen von Dimethoat (20 ng/Larve) oder Clothianidin (16 ng/Larve), respektive Lipopolysaccharid (2 µg/Larve) zur Simulation einer Infektion während der ersten vier Tage der künstlichen Larvenzucht in das Futter gemischt wurden. Auf diese Weise sollte eine chronische Exposition nachgezeichnet werden. Am fünften Tag wurden die Larven in zwei Gruppen aufgeteilt. Die eine Gruppe wurde mit *n*-Hexan gewaschen und das Kohlenwasserstoffmuster wurde nach Aufkonzentrierung des Eluats per Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) untersucht. Die andere Gruppe wurde in Brutzellen eines Kleinvolks mit ca. 1000-2000 Bienen eingebracht, nachdem hierin zuvor entsprechend Brutzellen manuell ausgeräumt wurden, um für die Versuchslarven Platz zu schaffen (Abbildung 4.24). Nach 24 und 48 h wurde dann die Belegung der Brutzellen mit den behandelten Larven im Kleinvolk ausgewertet.



Abbildung 4.24: Waben aus Kleinvölkern, in die nach Ausräumen der Zellen die Larven aus den unterschiedlichen Behandlungsgruppen eingebracht wurden. (Foto: ©Javier Hernández López)

4.3.2.3 Ergebnisse

Zunächst zeigten sich deutliche Unterschiede in den Kohlenwasserstoffmustern der unterschiedlich behandelten Larvengruppen (Abbildung 4.25, Tabelle 4.2). Nach Diskriminanzanalyse erkennt man die Unterschiede bezüglich der Kohlenwasserstoffmuster, das heißt bezüglich der relativen prozentualen Häufigkeit der einzelnen Komponenten (siehe Tabelle 4.2). Die hier dargestellten farbigen Ringe entsprechen je einer Larvenprobe bestehend aus vier Larven, die mit *n*-Hexan abgewaschen wurden und deren Extrakte per GC-MS analysiert wurden.

Die Auswirkung dieser unterschiedlichen Kohlenwasserstoffmuster auf das Verhalten von Ammen wurde als nächstes untersucht. Hier konnte zunächst festgestellt werden, dass sich die Ergebnisse einer Beurteilung nach 24 h nicht von den Ergebnissen, die nach 48 h erhalten werden, unterscheiden, das heißt, dass zwischen 24 h und 48 h keine weiteren Brutzellen ausgeräumt wurden. Dies deutet auf schnelle und effiziente Brutentfernung durch Ammenbienen hin. Im Folgenden wird daher nur von der 24 h-Gruppe gesprochen.

Abb. 4.26 zeigt die prozentualen Akzeptanz- und Entfernungsraten von drei unterschiedlich behandelten Larvengruppen (Kontrolle, $n=537$; Clothianidin, $n=366$ und Lipopolysaccharid, $n=297$). Es wurde auch festgestellt, dass die Versuche wetterabhängig waren, was bei der Durchführung und Auswertung berücksichtigt wurde.

Aus den dargestellten Ergebnissen wird ersichtlich, wie über veränderte Kohlenwasserstoffmuster in Ammen ein Säuberungsverhalten gegenüber nicht „korrekt riechenden“ Tieren ausgelöst wird. Dabei können die Veränderungen im Kohlenwasserstoffmuster durch Pestizidfütterung oder Fütterung mit Immunstimulantien (LPS) ausgelöst werden. Unsere Beobachtung könnte für Berichte über Brutverluste nach chronischer Pestizidexposition eine rationale Erklärungsmöglichkeit bieten. In der Diskriminanzanalyse kommen die LPS-behandelten Larven näher an der unbehandelten Kontrolle zu liegen als die Clothianidin-behandelten Larven. Dies spiegelt sich auch in der Akzeptanzrate (Abbildung 4.26) wider, die für die LPS-Gruppe weit weniger signifikant ausfällt als für die Clothianidin-Gruppe.

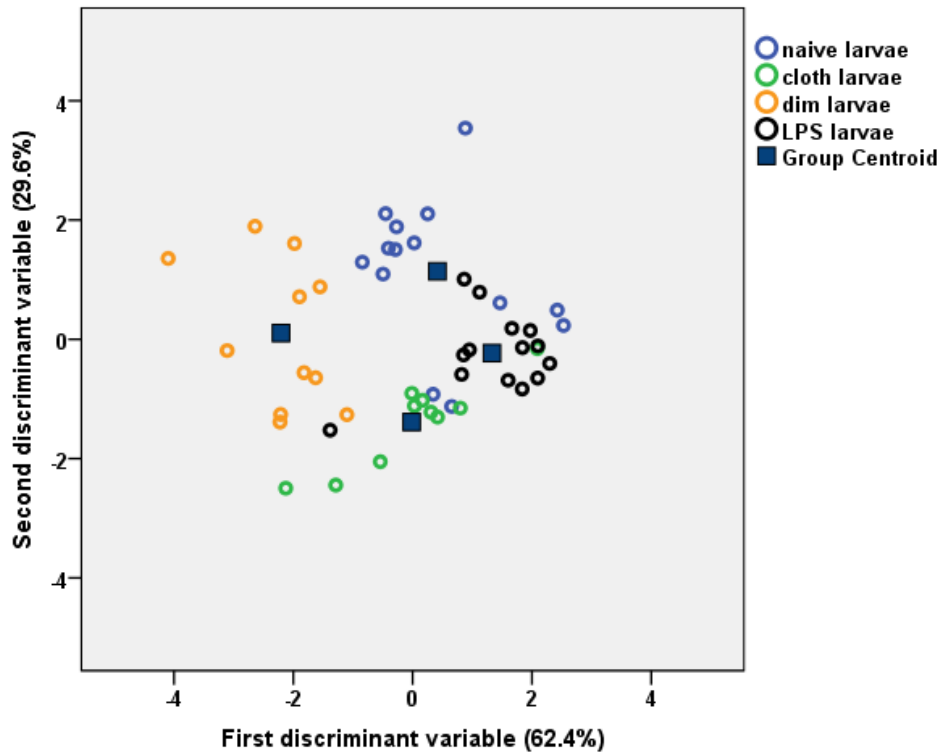
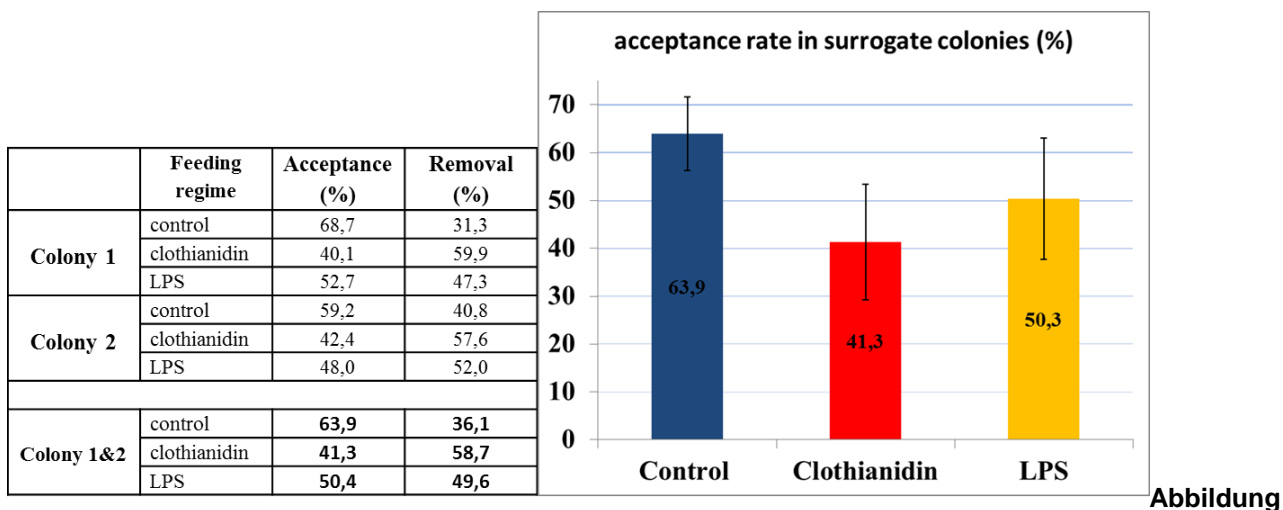


Abbildung 4.25: Diskriminanzanalyse der vier unterschiedlichen Gruppen: unbehandelte Kontrolle, n=14), Dimethoat (20 ng/Larve, n=10)-Gruppe, Clothianidin (16 ng/Larve, n=10)-Gruppe und Lipopolysaccharid (2 µg/Larve, n=14)-Gruppe. Jeder Kreis entspricht einer untersuchten Larvenprobe, die sich aus vier gleichzeitig mit *n*-Hexan gewaschenen Larven ergab.



Abbildung

4.26: Prozentualer Anteil von angenommenen versus entfernten Larven pro Kleinvolk, 24 h nach Einbringung von fünf Tage alten Larven, die entweder der Kontroll-, der Clothianidin- oder der LPS-Gruppe angehörten. Clothianidin- und LPS-behandelte Larven sind signifikant ($p < 0,05$) unterschiedlich (univariate Kovarianzanalyse). Für die Dimethoat-Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an.

In einer 2015 im Rahmen von Zukunft Biene durchgeführten Arbeit konnten wir zeigen, dass Pestiziddosen auch unterhalb der LD₅₀ einen unmittelbaren Einfluss auf die Oenozytenpopulation, also auf differenzierte Hämocyten, die mit der Infektabwehr und Detoxifikation in Zusammenhang stehen, haben (Hernández López et al., 2017a, 4.2.2.3 dieses Berichtes). Oenozyten sind insbesondere für die Produktion lipophiler Stoffe, also auch für die hier behandelten Kohlenwasserstoffe oder ihre Vorstufen verantwortlich. Damit wird ein zellulärer Mechanismus aufgezeigt, der für die Expression unterschiedlicher Kohlenwasserstoffmuster verantwortlich oder zumindest mitverantwortlich ist.

Tabelle 4.2, oberer Teil: Liste, gaschromatographische Retentionszeit (RT) und prozentualer Anteil der in der Larvenablation identifizierten Kohlenwasserstoffe, **unterer Teil:** Statistische Signifikanz-Tests und Vergleich der unbehandelten Gruppen mit der jeweiligen Behandlungsgruppe.

Substanz	RT (min)	Kontrolle	Clo-Gruppe	Dim-Gruppe	LPS-Gruppe
Tricosan	13,365	3,70±0,77	3,88±0,26	4,15±1,01	3,95±0,39
Tetracosan	13,568	1,85± 1,39	1,76±0,31	1,72±0,23	2,16±0,20
Pentacosan	14,657	17,31±1,37	15,95±1,77	16,96±2,77	14,83±1,21
Pentacosan-Isomer I	14,875	6,71±0,76	5,59±0,65	5,37±0,82	6,50±0,48
Pentacosan-Isomer II	14,962	0,95±0,19	0,96±0,55	0,84±0,39	0,76±0,63
Hexacosan	15,311	1,12±0,90	1,18±0,13	1,10±0,14	1,28±0,16
Heptacosen	15,921	2,61±0,76	2,71±1,15	2,44±0,98	3,80±0,40
Heptacosan	16,153	17,44±0,75	17,17±1,93	17,20±1,52	15,33±1,20
Methylheptacosan	16,429	14,58±1,61	12,12±1,94	11,12±1,94	12,83±0,92
Squalen	17,213	0,96±0,17	1,17±0,35	0,73±0,17	1,37±0,33
Nonacosen	17,634	1,66±0,49	1,98±0,83	1,74±0,77	2,49±0,21
Nonacosan	17,838	3,66±0,45	5,03±0,8	5,15±1,14	4,56±1,05
Nonacosan-Isomer I	18,172	8,93±0,74	8,22±0,91	7,46±1,04	8,56±0,58
Triacontan	18,404	1,51±0,42	1,93±1,48	1,09±0,39	2,03±0,22
Hentriaconten	19,566	4,29±0,79	5,15±1,44	5,99±1,70	5,50±0,83
Hentriacontan	19,755	1,95±0,39	3,38±0,86	3,99±1,25	2,73±1,24
Methylhentriacontan	20,089	5,98±0,79	6,28±0,64	6,11±0,83	5,64±0,66
Trtriaconten	21,570	1,75±0,41	2,42±0,57	3,62±1,14	2,72±1,47
Trtriacontan	22,093	3,03±0,45	3,33±0,21	3,21±0,56	2,98±0,28

Substanz	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney (unbehandelt vs. Clo)	Mann-Whitney (unbeh. vs. Dim)	Mann-Whitney (unbeh. vs. LPS)
Tricosan	0,7936	0,815	0,298	0,462
Tetracosan	0,0001	0,320	0,208	0,000
Pentacosan	0,0024	0,016	0,622	0,000
Pentacosan-Isomer I	0,0002	0,003	0,002	0,854
Pentacosan-Isomer II	0,0099	0,030	0,071	0,000
Hexacosan	0,0100	0,292	0,622	0,002
Heptacosen	0,0005	0,639	0,511	0,000
Heptacosan	0,0003	0,482	0,622	0,000
Methylheptacosan	0,0006	0,006	0,001	0,003
Squalen	0,0000	0,089	0,002	0,000
Nonacosen	0,0117	0,178	0,622	0,000
Nonacosan	0,0001	0,000	0,001	0,001
Nonacosan-Isomer I	0,0039	0,030	0,002	0,520
Triacontan	0,0000	0,046	0,080	0,004
Hentriaconten	0,0135	0,061	0,021	0,001
Hentriacontan	0,0000	0,000	0,000	0,003
Methylhentriacontan	0,2109	0,292	0,784	0,232
Trtriaconten	0,0000	0,003	0,000	0,000
Trtriacontan	0,1001	0,079	0,412	0,927

4.3.3 Pestizidnachweis in Gelée royale und zur Pestizidweitergabe durch Ammen

4.3.3.1 Einführung

Bei diesen Versuchen geht es darum, die Auswirkungen von in den Bienenstock eingetragenen Pestiziden im Hinblick auf Nahrungsweitergabe Amme-Königin und Amme-Larve zu erforschen und speziell eine mögliche Pestizidweitergabe zu quantifizieren. Hierbei stellen sich große Schwierigkeiten in der Spurenanalyse von Pestiziden in Gelée royale in den Weg, wie auch Parallelversuche zur Spurenanalytik durch ein externes Auftragslabor zeigten, sowie das völlige Fehlen von Literatur diesbezüglich vermuten lassen. Somit stellt die Methodenentwicklung für die Aufarbeitung von Gelée royale und Bienengewebe eine besondere Herausforderung dar. Das Wissen um offenbar auch von professioneller Seite nicht voll erfasste oder erfassbare Pestizidrückstände in Gelée royale könnte auch Auswirkungen auf die umweltrelevante Beurteilung von Rückstandsanalysen aus entsprechend schwierigen Matrices (Gelée royale, Bienengewebe) haben.

Gelée royale stellt als Matrix besondere Anforderungen an die analytische Methode, handelt es sich doch um eine komplexe Mischung von Eiweißen (Enzymen), Lipiden und Zuckern, welche darüber hinaus eine große Anzahl bioaktiver Stoffe enthält. Angesichts der starken biologischen Aktivität, z.B. der bezeugten antimikrobiellen Wirkung von Gelée royale, stellt sich daher auch die Frage nach einer möglichen Xenobiotika-neutralisierenden Wirkung.

Zunächst ging es darum, für eine Auswahl von fünf Pestiziden analytische Methoden für die Rückstandsanalyse aus Bienengewebe und Bienensekret (Gelée royale) zu etablieren. Diese Pestizide wurden aus unterschiedlichen Substanzklassen gewählt. Sie unterscheiden sich daher im Hinblick auf den Wirkmechanismus, aber auch in der chemischen Natur, insbesondere in ihrer Polarität. Hierbei wurde mit Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) und mit gekoppelten Methoden der HPLC-Massenspektrometrie (LC-MS) gearbeitet.

Versuche hierzu wurden 2015 und 2016 durchgeführt. Die angesprochenen Schwierigkeiten bei der Erfassung von Pestizidrückständen in Gelée royale haben sich mit den eingesetzten Methoden (siehe oben) nicht vollständig lösen lassen. Es ist an dieser Stelle nochmals zu erwähnen, dass auch in der wissenschaftlichen Literatur bis dato keine analytische Methode veröffentlicht wurde, Pestizidspuren in Gelée royale nachzuweisen. Interne Firmenprotokolle mögen existieren, jedoch versagen gerade Multimethoden, wie sie von großen Auftragslaboren in der Pestizidanalytik, unter anderem auch für die Rückstandsanalytik im Rahmen von Zukunft Biene verwendet worden sind, offenbar bei der korrekten Ansprache von Pestiziden in pestizidhaltigem Gelée royale.

Alle verwendeten Pestizide wurden per HPLC auf ihre Reinheit hin überprüft. Hergestellte Stammlösungen (mit den verwendeten Lösungsmitteln Aceton und Wasser) wurden ebenfalls auf ihre Stabilität hin untersucht. Für Dimethoat wurde gefunden, dass der käufliche Standard nicht rein war, ebenso zersetzte sich Dimethoat in der Stammlösung, sodass diese für jeden Versuch neu angesetzt wurde.

4.3.3.2 Ausarbeitung von HPLC-Bestimmungsmethoden für Gelée royale

Es wurde an der Ausarbeitung einer Methode gearbeitet, um die Pestizide Dimethoat (Organophosphat), Alpha-Cypermethrin (Pyrethroid), Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam (Neonikotinoide) in der komplexen Matrix des Gelée royale nachzuweisen. Obwohl Gelée royale, das für das Bienenvolk unersetzliche Eigenprodukt der Ammenbienen, auch in zahlreichen

Kosmetikprodukten und auch in Form von Nahrungsergänzungsmitteln auf dem Markt erhältlich ist, gibt es bis dato keine Angaben über routinemäßige Kontrollen auf Pestizidrückstände in Gelée royale. Für die Pestizidexpositionen von Larven und Königinnen spielt Gelée royale die zentrale Rolle und Königinnenverluste sind von großer Bedeutung für die Imkerei. Um die Methodenfindung zu erleichtern, wurden zunächst literaturbekannte Methoden ausgewählt, die dann auf die entsprechende Matrix (in diesem Falle Gelée royale), sowie auf die sehr kleinen verfügbaren Probenmengen (im Milligrammbereich) angepasst wurden. Im Ganzen wurden acht aus der Literatur entnommene Extraktions- respektive Probenvorbereitungsschemata, die für HPLC (Hochdruckflüssigchromatographie) und gekoppelte Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) entwickelt wurden, erprobt, modifiziert und beurteilt. Die Konzentrationen, in denen die Matrix (also Gelée royale) gespickt, das heißt vor Extraktionsdurchführung mit Pestizidlösung dotiert wurde, überstiegen zur Sichtbarmachung die biologisch relevanten Dosen (zum Beispiel bei Exposition in der Natur) bei weitem. Die Detektion der Pestizide erfolgte über HPLC-DAD (also unter Zuhilfenahme der UV-Spektren), sowie über LC-MS anhand charakteristischer Fragmentierungsmuster der Hauptfragmente und MS² (=MS/MS) Detektion, das heißt über Tandem-Massenspektrometrie, wobei Massenfragmente zweiter Ordnung betrachtet werden. Die Brauchbarkeit einer Methode wurde anhand der Wiederfindungsraten der vorab zugesetzten Pestizide eingestuft.

Die zum Teil sehr niedrigen LD₅₀-Dosen der Pestizide (besonders bei Neonikotinoiden) stellen eine besondere Herausforderung dar, wenn Einzeltiere untersucht werden sollen. Diese Versuche sollten den Weg für Biotests bahnen, bei denen Ammenbienen mit Pestiziden gefüttert werden und die Verteilung des Pestizids in der Biene oder in Drüsenexkreten (Gelée royale) der Biene nachgezeichnet wird.

Es wurden folgende Parameter im Verlauf der Versuche variiert:

Die verwendeten Lösungsmittel (Polarität), Vergleich von Methoden mit Anreicherung durch Ausschüttelung gegenüber Direktextraktion, Einsatz von Absorptionsgelen, Temperaturregime, Art der Trocknung, Art der verwendeten Gefäße, Methode der Aufarbeitung via HPLC und vieles mehr.

Die verwendeten Methoden wurden im Hinblick auf Durchführbarkeit und Wiederfindungsraten anhand verschiedener Bienenproben und Matrices verglichen.

Nach Optimierung einer Methode von Bonmatin et al. (2003), die auf der heutzutage für Spurenanalytik in organischem Material häufig verwendeten sog. QuEChERS-Methode beruht, gelang es, die Neonikotinoide in einer Absolutmenge von 2 ng in 1-10 mg Gelée royale (dies entspricht einer Konzentration von 0,5-5,0 ppm) nachzuweisen, wohingegen Dimethoat und Alpha-Cypermethrin bei dieser Absolutmenge nicht nachweisbar waren.

Da es sich als unmöglich herausstellte, ein für alle fünf ausgewählten Pestizide gleichermaßen verwendbares Aufarbeitungsprotokoll zu entwickeln, wurde – auch aufgrund der besonderen Umweltrelevanz der Neonikotinoide – nur mit Clothianidin weitergearbeitet.

Ein typisches HPLC-Chromatogramm für eine mit den fünf Pestiziden gespickte Probe (100 ng Pestizid auf 10 mg Gelée royale) sieht man in Tabelle 4.3 und Abbildung 4.27. Hier erkennt man, dass bei dieser zugespickten hohen Absolutmenge von Pestizid die Wiederfindungsrate (WFR) um die 100%, manchmal sogar (z.B. wegen Peaküberlappung) darüber liegt. Die in Abb. 4.27 nicht markierten Peaks gehören zur Untersuchungsmatrix. Ihre Anzahl und Höhe zu minimieren, ist wichtiger Teil der Extraktionsoptimierung. Etliche Matrixsignale (Peaks) befinden sich im Zeitraum von 10 bis 20 min, in dem auch die Peaks der drei Analyten Thiamethoxam, Clothianidin und Imidacloprid erscheinen, was bei der Einspritzung zuvor gesammelter und vereiniger HPLC-

Fractionen in das Massenspektrometer zu Problemen (Signalunterdrückung, Auftreten von Fremdpeaks) führen kann.

Tabelle 4.3: Typische Wiederfindungsraten (WFR) von Pestiziden im HPLC-Chromatogramm einer Gelée royale-Probe, die mit einer hohen Dosis (jeweils 100 ng Absolutmenge) von Pestiziden gespickt wurde, Angabe der Retentionszeit (RZ) in Minuten, Wellenlänge (WL) in Nanometer, Peakfläche (mAU) ist dimensionslos. Legende: Acyp = alpha-Cypermethrin, Clo = Clothianidin, Imi = Imidacloprid, Thim = Thiamethoxam.

Pestizid	Abs.Menge	WL	RZ [min]	Area [mAU]	WFR
Acyp	100 ng	205 nm	34,2	3393,9	109,0%
Clo	100 ng	270 nm	15,2	2679,3	108,5 %
Imi	100 ng	270 nm	15,9	3350,8	100,8 %
Thim	100 ng	254 nm	13,8	2088,8	115,1 %

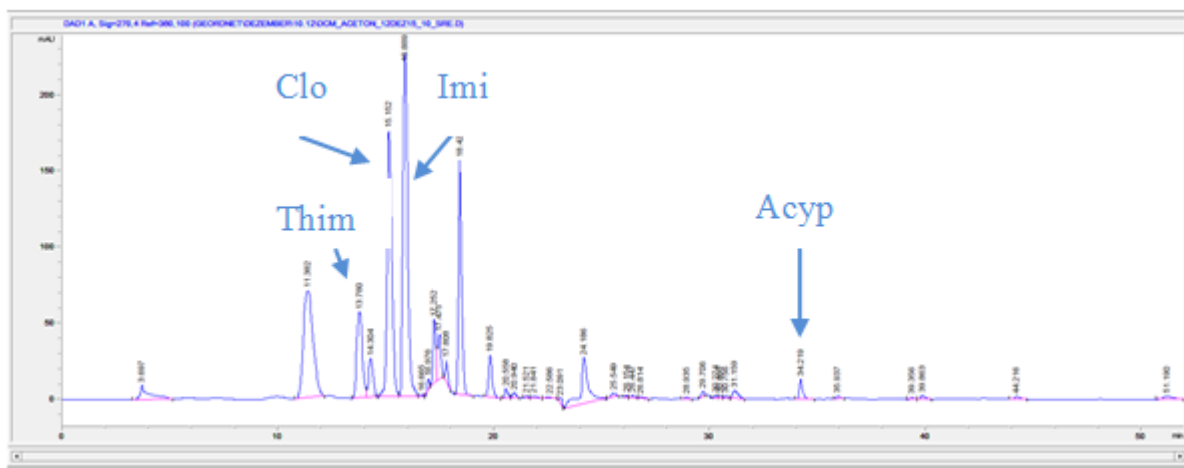


Abbildung 4.27: Typisches HPLC-Chromatogramm einer Gelée royale-Probe, die mit einer hohen Dosis (je 100 ng) an Pestiziden gespickt wurde. Die Probe wurde nach Extraktionsprotokoll aufgearbeitet und von der HPLC-Einspritzlösung wurden 10 µL (= 10%) in die HPLC injiziert, was etwa 10 ng Pestizid je Peak entspricht.

Das Ergebnis der Analyse von Gelée royale ergab, dass Clothianidin und Imidacloprid bei den verwendeten Extraktionsprotokollen und hohen zugespickten Dosen gute Wiederfindungsraten ergaben (siehe Abbildung 4.27). Die beiden Neonikotinoide konnten in Konzentrationen von 2 ng/10 mg Gelée royale in der HPLC detektiert werden, wohingegen Alpha-Cypermethrin und Dimethoat (das in Abb. 28 nicht markiert ist, da es nicht eindeutig zuordenbar war) deutlich schlechter nachweisbar waren. Dies hängt vermutlich mit der chemischen Natur von Alpha-Cypermethrin (wesentlich unpolarer) und Dimethoat (eventuell labil in Gelée royale, also Zersetzung möglich) zusammen.

Werden die Gelée royale-Proben jedoch mit nur 10 ng Pestizid pro Probe vor Aufbereitung gespickt, was schon einer wesentlich realistischeren Dosis entspricht, so sehen die Wiederfindungsraten nicht mehr so gut aus. Man kann davon ausgehen, dass eine vermutlich gleichbleibende absolute Menge des zugespickten Materials während der Aufarbeitung durch die Manipulation der Probe, aber auch durch eventuell teilweise Adsorption an Gefäße oder an die Matrix selbst, verloren geht.

Ein solches Beispiel kann aus Tabelle 4.4 entnommen werden. Hier wurde nur mit 10% der Pestizidmenge gespikt (gegenüber dem Beispiel aus Abbildung 4.27).

Die hier dargestellten Beispiele sollen die Schwierigkeiten verdeutlichen, die bei der Anpassung an sehr kleine Analytmengen in einer Probe auftauchen. Absolutmengen von 10 ng Pestizid in einer Probe können als Peaks mit optischer (DAD) Detektion meist noch gut erfasst werden. Diese Abbildung soll zeigen, wo die entsprechenden Peaks im Chromatogramm liegen. Bei Analytmengen, die so gering sind, dass kein HPLC-DAD-Signal mehr erhalten wird, können die entsprechenden, zeitlich durch die Retentionszeit der Analyten klar definierten, HPLC-Fractionen aus mehreren Läufen vereinigt und dann weiter per LC-MS analysiert werden. In diesem Falle wird rein nach Zeit, nicht nach Sichtbarkeit eines Peaks, fraktioniert.

Tabelle 4.4: Typische Wiederfindungsraten von Pestiziden in einer Gelée royale-Probe, die mit einer geringen Dosis (je 10 ng) an Pestizid gespikt wurde. Für Abkürzungen s. Tabelle 4.3.

Pestizid	Abs.Menge	WL	RZ [min]	Area [mAU]	WFR
Acyp	10 ng	205 nm	34,3	68,8	22,1 %
Clo	10 ng	270 nm	15,1	145,2	58,8 %
Imi	10 ng	270 nm	15,8	176,2	53,0 %
Thim	10 ng	254 nm	13,7	131,5	72,5 %

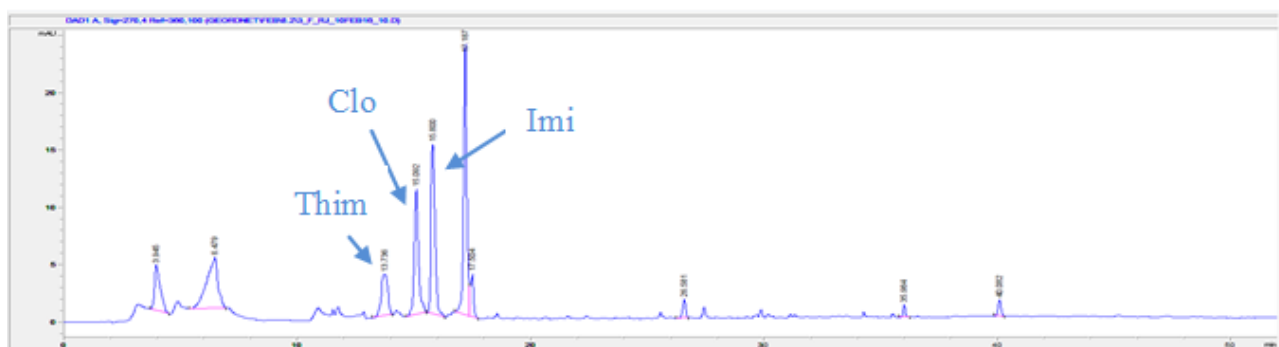


Abbildung 4.28: Typisches HPLC-Chromatogramm einer Gelée royale-Probe, die mit je 10 ng der jeweiligen Pestizide gespikt wurde.

Gleichzeitig sieht man aber aus Abbildung 4.28, dass hier im Bereich von 10-20 min des Chromatogramms weniger störende Matrixsignale vorlagen, jedoch mehr Signale zu Beginn des Laufes vorhanden sind. Auch wenn diese hier gezeigten Beispiele nicht direkt vergleichbar sind, zeigen sie doch, dass bei geringerer Analytenmenge die Wiederfindungsraten deutlich abnehmen. Schließlich musste bei der Aufarbeitung ein Kompromiss gewählt werden, um die Matrixbelastung von Proben, die in der LC-MS vermessen wurden, so gering wie möglich zu halten, gleichzeitig aber ein Maximum an Wiederfindung zu gewährleisten. Bei dieser Methode war es jedoch nicht möglich, auch Alpha-Cypermethrin und Dimethoat mit zufriedenstellender Wiederfindungsrate zu analysieren. Bei Alpha-Cypermethrin stand dessen besonders starke Lipophilie einer „Eintopf“-

Aufarbeitung, die für die anderen, eher mittelpolaren, Analyten konzipiert wurde, im Wege. Bei Dimethoat nehmen wir an, dass während der Aufarbeitung auch Zersetzung stattfand.

Aus den Vorversuchen zur analytischen Sichtbarmachung und Wiederfindung der fünf Pestizide ging Clothianidin als der geeignetste Kandidat für die geplanten biologischen Versuche hervor, da es sich als eher mittelpolares Molekül relativ gut aus der ansonsten stark lipophilen Matrix von Gelée royale und Bienengewebe anreichern ließ. Auch besteht in Bezug auf das Neonikotinoid Clothianidin besonderes Interesse an Daten zu Aufnahme und Verbleib der Substanz in der Biene, da die Neonikotinoide (diese sind seit 2013 in der EU mit einem teilweisen Anwendungsverbot für bestimmte Kultur- und Anwendungsarten belegt) mit großer Wahrscheinlichkeit durch die EFSA einer Nachevaluierung in Bezug auf Bienen- und Umweltverträglichkeit unterzogen werden.

Die übergeordnete biologische Fragestellung betrifft die Weitergabe von Pestiziden aus der Nahrung oder der Umwelt der Bienen im Stock sowohl an Larven als auch an die Königin. Es ist bis heute aus der allgemein verfügbaren Literatur nicht ersichtlich, ob Pestizide auf dem Weg über Drüsensekretion und Gelée royale-Fütterung von Ammenbienen auf Königinnen übertragen werden können. Auch ist unbekannt, ob jeweils kleine oder kleinste Mengen an Pestizid von Gelée royale so absorbiert (gebunden) werden, dass sie analytisch nicht mehr aufscheinen. Es ist nichts darüber bekannt, ob in einem solchen Falle möglicherweise trotzdem Pestizide in der Königin bioverfügbar und aktiv sein können. Die Beantwortung der Frage nach der Pestizidweitergabe von Ammenbiene zur Larve oder Königin ist auch von praktischem Interesse für Imker, respektive für den Bienenschutz allgemein, da man davon ausgehen muss, dass eine Pestizidexposition der Königin schädliche Folgen für die Gesundheit des gesamten Bienenvolks hat. Es wurde ein nachteiliger Effekt von Neonikotinoiden auf die Volksstärke und Königinnenproduktion bei Hummelvölkern nachgewiesen (Whitehorn et al., 2012), ähnliches wurde auch bei Honigbienen gezeigt (Sandrock et al., 2014).

4.3.4 Nachverfolgung von Clothianidin in Ammenbienen

4.3.4.1 Einleitung

Als weiterer Schwerpunkt wurde in dieser Arbeit die Nachverfolgung von Clothianidin in der Honigbiene behandelt. Dies sollte der Beantwortung der Frage dienen, inwieweit von Ammen aus der Nahrung aufgenommene Pestizide den Weg (via Futterdrüsen und Gelée royale) entweder zur Königin oder den Larven finden können. Dazu wurde nach Fütterung von pestizidhaltiger Zuckerlösung das Kopfgewebe, insbesondere die Hypopharynxdrüsen, sowie Honigmagen und Darm auf Rückstände untersucht. Für diese Versuche wurde ausschließlich mit Clothianidin gearbeitet, da es unmöglich war, in der gegebenen Zeit auch andere Pestizide auf diese Weise detailliert zu behandeln. Jedoch wurden auch mögliche Metabolisierungsprodukte (TZMU und TZNG) von Clothianidin in die Untersuchung miteinbezogen.

Für die Bestimmung von Clothianidin und seinen Metaboliten wurde der Einsatz von LC-MS und LC-MS/MS vorgesehen, da die zu erwartenden Mengen unterhalb der Nachweisgrenze in der HPLC (zirka 1-2 ng absolut) lagen. Dies brachte die Schwierigkeit mit sich, dass Matrixsignale zu starker Signalunterdrückung der relevanten Analytenpeaks führten. Deshalb musste hier eine Vorreinigung entsprechender Fraktionen per HPLC erfolgen, die sehr aufwendig war.

4.3.4.2 Durchführung

Für diese Experimente wurde ein Fütterungsprotokoll erstellt, wobei Clothianidin in der entsprechenden Menge (4 oder 6 ng in jeweils 10 µL Zuckerlösung) je Ammenbiene (Alter zirka 6 Tage) individuell per Handfütterung dargeboten wurde. Um die Hypopharynxdrüse (HPG) zum Zeitpunkt der vollen funktionalen Ausreifung, das heißt zum Zeitpunkt ihrer höchsten Aktivität zu präparieren, benötigt man Ammenbienen im Alter von 5-6 Tagen. Dafür wurden entweder markierte Jungbienen in ein Kleinvolk mit Brut zugesetzt und am 5. Tag wieder entnommen oder Bienen für 5 Tage in einem Becher gehalten und durch Zugabe von Jungbienen die Ammentätigkeit der Testbienen aktiviert. Ohne das Vorhandensein von Brut oder Jungbienen unterbleibt die Stimulierung der Hypopharynxdrüsenaktivität in den Testbienen. Es zeigte sich, dass sich die HPG-Drüsen bei Ammenbienen aus einem Kleinvolk besser entwickelten als in Bienen, welche im Becher gehalten wurden.

Für den Nachweis von Clothianidin in der Honigbiene wurde zuallererst die Dosis bestimmt, die eine Biene ohne äußerlich erkennbare Veränderung verträgt. Da nicht alle Bienen die Fütterung von 6 ng/Biene überlebten und einige Bienen gravierende Verhaltensänderungen zeigten, wurden für die weiteren Versuche die Bienen mit jeweils 4 ng Clothianidin gefüttert. Weiters wurde das Extraktionsprotokoll auf die Aufarbeitung von Bienengewebe angepasst. Bienen, die die gefütterte Pestizidlösung nicht überlebten, wurden nicht analytisch aufgearbeitet, da man davon ausging, dass bei diesen Tieren der Stoffwechsel oder die Weitergabe von Pestizid im Körper nicht repräsentativ erfolgte.

Da die Zeitspanne eines potentiellen Übergangs von Clothianidin ins Kopfgewebe oder auch in den Darm der Bienen nicht bekannt war, wurden die Bienen nach 2, 4, 6 und 12 Stunden untersucht. Zur Verfolgung des aufgenommenen Zuckerwassers mit dem zugesetzten Clothianidin innerhalb der Biene wurden zunächst Ammenbienen mit einer Mischung aus Zuckerwasser, Indigokarmin und Clothianidin gefüttert. Das Indigokarmin als intensiv blauer Farbstoff diente dabei zum optischen Nachweis, wie weit die gefütterte Lösung bereits im Verdauungstrakt angekommen und verarbeitet wurde, also ob sie den absorptionsfähigen Bereich des Verdauungssystems der Biene erreicht (siehe Abbildung 4.29)

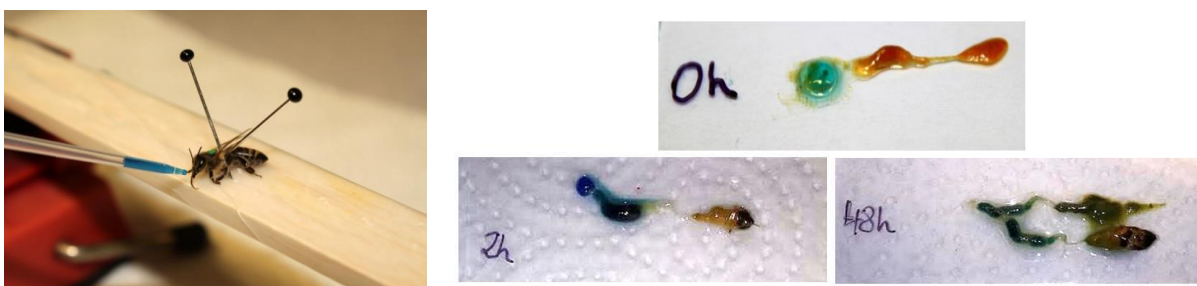


Abbildung 4.29: links: Individuelle Fütterung einer Amme mit Zuckerlösung, der Indigokarmin als Farbstoff zugesetzt wurde; rechts Farbstoffanreicherung im Verdauungstrakt direkt, respektive. 2 und 48 Stunden nach Fütterung (Foto: ©Lisa-Maria Karner).

4.3.4.3 Ergebnis

Die Blaufärbung durch Indigokarmin konnte im Verdauungstrakt (Mitteldarm bis Rektalblase) innerhalb von 2-48 h beobachtet werden, was zeigt, dass über Zuckerlösung eingefütterte, lösliche Stoffe im absorptionsfähigen Teil des Verdauungssystems ankommen. Der weitere Transport des stark hydrophilen Indigokarmins und der eher lipophilen Pestizide ist selbstverständlich nicht näher vergleichbar.

Die Aufarbeitung des Gewebes erfolgte unmittelbar nach Töten der Versuchsbiene dergestalt, dass die zu untersuchenden Gewebesteile mit Pinzetten und Mikro-Skalpellen präpariert und sogleich in ein Eppendorfgefäß mit vorgelegter Ringerlösung überführt. Hernach wurde mit Ultraschallstab homogenisiert und das Aufarbeitungsprotokoll entsprechend der modifizierten Methode nach Bonmatin et al. (2003) durchgeführt.

Das entnommene Gewebe wurde nach Extraktion mit Acetonitril getrocknet und anschließend mittels HPLC aufgereinigt, um die vor allem in der LC-MS störenden Matrixsignale, die vom Gewebe herrühren, gering zu halten. So wurden dann unter Zeitkontrolle die entsprechenden Fraktionen der Pestizide auf der HPLC aufgefangen, getrocknet, und dann erst auf der LC-MS vermessen. Dieses zeitaufwendige Verfahren lässt sich grundsätzlich auch dann anwenden, wenn aufgrund der geringen Mengen auf der HPLC kein Peak des Analyten zu erwarten ist. So wurde eine Fraktion zwischen Minute 13-16 gesammelt und anschließend eine qualitative und quantitative Analyse mittels einer Offline Nano-Elektrospray-MS (positiver und negativer Modus) durchgeführt.

Die LC-MS-Analyse erfolgte ebenfalls im Hinblick auf das Vorhandensein der beiden Hauptmetabolite des Clothianidins (S. Abb. 4.30), nämlich TZNG und TZMU.

Der Versuch einer Nachverfolgung von Clothianidin in Kopfgewebe (was die Hypopharynxdrüsen, Speicheldrüsen und das Gehirn miteinschließt), Honigmagen und Mitteldarm zwei und sechs Stunden nach Fütterung von Clothianidin-hältiger Zuckerlösung an Ammenbienen ergab, dass Clothianidin mit den hier vorgestellten Methoden in diesen Geweben nicht nachweisbar war. Dies gilt auch für seine zwei Hauptmetabolite, TZMU (*N*-(2-Chlorothiazol-5-ylmethyl)-*N*-methylharnstoff) und TZNG (*N*-(2-Chlorothiazol-5-ylmethyl)-*N*-nitroguanidin). Auch bei einer Fütterung mit 6 ng/Biene konnte kein Clothianidin nachgewiesen werden. Der Befund war also der, dass in diesen Proben nach Aufarbeitung mit einer modifizierten Literaturmethode (Bonmatin et al., 2003) und Fraktionierung des für Clothianidin im HPLC-Chromatogramm in Frage kommenden Zeitfensters (13-16 min), Aufkonzentrierung der gesammelten Fraktion und Injektion eines Teilvolumens in das Massenspektrometer mit MS/MS weder der Hauptpeak des Clothianidin (Molekülion), noch charakteristische Fragmente, auch nicht von den Hauptmetaboliten (s. Abb. 4.30) gefunden wurde.

Die Nachweisgrenze für Clothianidin auf der LC-MS betrug in unserem Falle 0.2 ng (absolut).

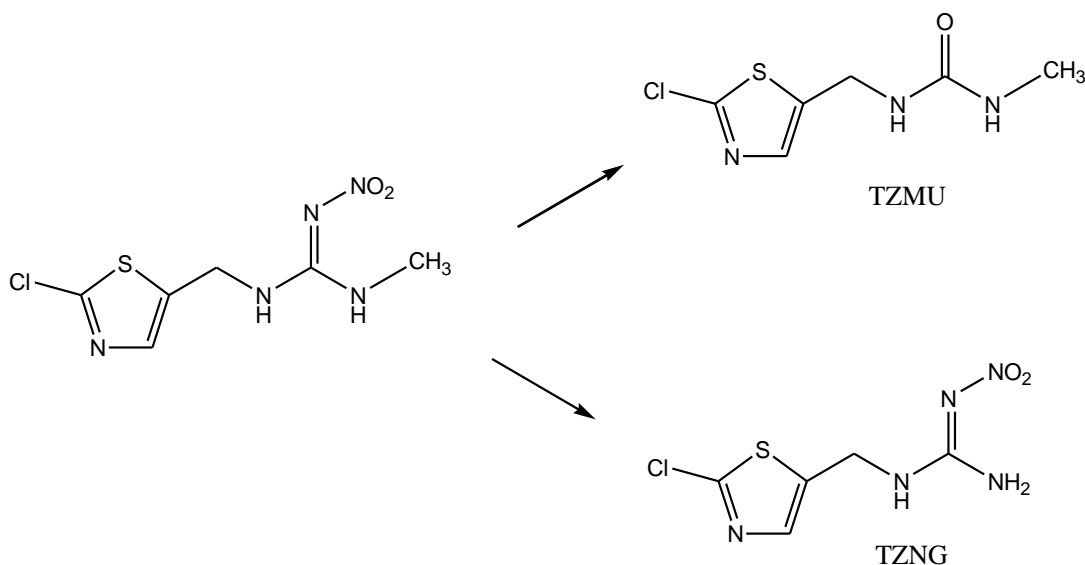


Abbildung 4.30: Clothianidin und seine Hauptmetabolite TZMU (*N*-(2-Chlorothiazol-5-ylmethyl)-*N*-methylharnstoff) und TZNG (*N*-(2-Chlorothiazol-5-ylmethyl)-*N*-nitroguanidin).

Die Nichtauffindbarkeit von Clothianidin und seinen Metaboliten nach Fütterung im Kopfgewebe, Honigmagen und Mitteldarm der Honigbiene kann mehrere Gründe haben. Eine Erklärung könnte sein, dass Acetonitril, das bei der Aufarbeitung eingesetzt wird, die starke, eventuell sogar kovalente Bindung zwischen Clothianidin und dem Körpergewebe der Bienen, insbesondere den nikotinischen Acetylcholinrezeptoren nicht löst und somit Clothianidin nicht extrahiert und damit nicht mittels LC-MS nachweisbar ist. Es kann auch sein, dass das Clothianidin bereits in der Rektalblase, welche in diesem Versuch nicht untersucht wurde, angereicht war. Des weiteren könnte auch ein schneller Entgiftungs- oder Metabolisierungsmechanismus der Bienen verantwortlich sein, dass Clothianidin in seiner nativen Form nicht zu finden ist. Möglicherweise wird Clothianidin in der Honigbiene auch zu anderen Metaboliten abgebaut, welche in dieser Arbeit nicht weiter untersucht wurden, da die zwei untersuchten und in der Literatur meist genannten Metaboliten nicht notwendigerweise die in der Biene vorkommenden Hauptmetabolite sein müssen.

Eine schwer überprüfbare, aber möglicherweise zutreffende Erklärung betrifft eine erfolgte Aufnahme von Clothianidin ins Gewebe des Vormagens (Honigmagen) bei fehlender Weiterdiffusion in andere Körpergewebe, sodass es zu einer eigentlichen Verdauung im Mitteldarm nicht kommt und damit die Verteilung von Clothianidin via Hämolymphe in andere Körperteile unterbleibt. Conner et al. (1978) konnten zeigen, dass die Aufnahme eines Pestizides aus dem Honigmagen direkt proportional zu seiner Lipophilie steigt, während seine Penetration durch die Membran des Honigmagens diese Abhängigkeit nicht zeigt. Auch konnte gezeigt werden, dass sich die Aufnahme von Pestiziden grundsätzlich zur Zuckerkonzentration im Lumen des Honigmagens umgekehrt proportional verhält. Dies sind alle Parameter, die wir hier experimentell nicht in Betracht ziehen konnten. Der Honigmagen wurde von uns zwar untersucht, aber möglicherweise blieb Clothianidin unextrahierbar im Honigmagengewebe sitzen, auch könnte es sein, dass Clothianidin vom Honigmagen aus in die Hämolymphe überging, wobei wir jedoch die Hämolymphe hier nicht untersucht hatten. Dies würde einem normalen Nährstoffweg, bei dem Stoffe aus dem Mitteldarm in die Hämolymphe übergehen, widersprechen.

4.3.4.4 Diskussion

Auch wenn wir in den Validierungsversuchen zugesetztes (gespiktes) Pestizid im HPLC-Chromatogramm ansprechen konnten, und daher per HPLC fraktionieren, anreichern und über Massenspektrometrie analysieren konnten, heißt dies nicht, dass ein so durchgeführtes Spiken die Situation im Gewebe realistisch wiedergibt, da wir zu bereits abgestorbenem, nicht mehr im nativen Zustand vorliegenden Gewebe unseren Standard zugeben. Es handelt sich daher um zwei verschiedene Vorgänge: Die Aufnahme eines Pestizids durch eine lebende Biene (inklusive der Verteilung des Pestizids in Körpergewebe) und die Zugabe eines Pestizids in totes Bienengewebe zu Anfang einer analytischen Aufarbeitung. Beide Szenarien müssen analytisch nicht zu vergleichbaren Ergebnissen führen.

Dieses Dilemma ist auch kommerziellen Anbietern von Analysendienstleistungen bekannt.

Die hier dargestellten Ergebnisse mögen vorderhand unzufriedenstellend sein. Wir sehen darin Initialversuche für weitere vertiefte Studien, die auf diesem Gebiet unbedingt notwendig erscheinen.

Die Beantwortung der biologischen Fragestellung, welche hier zu weiteren Fragen führte, hängt zwar in entscheidendem Maße von der Effizienz der analytischen Methoden ab. Jedoch konnten in der verfügbaren Zeit nicht alle möglichen Szenarien für eine Pestizidaufnahme und -eindiffusion in Gewebe erfasst werden. Darüberhinaus sind sicher auch die Wahl geeigneter experimenteller Parameter für die Fütterung inklusive das Auffinden des adäquaten Zeitregimes für die Aufnahme und Verteilung der Pestizide in den Ammenbienen entscheidend.

Eine vollständige Beantwortung der Fragen, die in diesem Teil von Modul 4 gestellt wurden, konnte daher nicht erreicht werden. Die hier präsentierten Ergebnisse haben keinesfalls abschließenden Charakter zu diesem Themenkomplex und sind nicht gleichbedeutend mit der Aussage, dass keine Pestizidweitergabe (Amme-Königin oder Amme-Larve) erfolgen kann.

4.3.5 Versuche mit radioaktiv markiertem Imidacloprid

4.3.5.1 Einleitung

Da die aus Fütterungsexperimenten und HPLC, respektive LC-MS-Analytik erhaltenen Daten zur Weitergabe von Clothianidin durch die Amme an die Königin nicht aussagekräftig genug waren bezüglich der Beantwortung der Frage, ob von den Ammen aufgenommenes Clothianidin über die Hypopharynxdrüsen zu den Larven oder zur Königin gelangt, wurde ein Fütterungsversuch mit ¹⁴C-radioaktiv markiertem Imidacloprid an Königinnen gemacht. Es wurde Imidacloprid gewählt, da radioaktiv markiertes Clothianidin am Markt nicht zu hinnehmbaren Preisen verfügbar war, in Kauf nehmend, dass mit dem Einsatz von Imidacloprid anstelle von Clothianidin eine direkte Vergleichbarkeit mit den unter 4.2.11 beschriebenen, mit Clothianidin durchgeführten Versuchen, nicht gegeben ist.

Die analytischen Schwierigkeiten bei der Verwendung von nichtmarkiertem Pestizid betreffen die Nachweisgrenze, die schon nahe der LC₅₀ liegt. Mit der Verwendung von radioaktiv markiertem Pestizid, welches eine geringere Nachweisgrenze ermöglicht, hofften wir, eine Aussage bezüglich der Pestizidweitergabe an Königinnen treffen zu können. Dabei muss man natürlich im Auge behalten, dass der Nachweis von Radioaktivität zwar auf das zugefütterte ¹⁴C-Imidacloprid zurückgeht, dass jedoch damit nichts über den Zustand des Imidacloprids in der Biene gesagt werden kann, das heißt, dass auch Bruchstücke (Metabolisierungsprodukte) von Imidacloprid,

sofern sie radioaktiv markiert sind, erfasst werden, respektive dass eine Verstoffwechslung, die zum Verlust des die Radioaktivität tragenden ^{14}C -Atoms infolge Oxidation und Abatmung als $^{14}\text{CO}_2$ führen wird, die Ergebnisse verzerren kann.

Einschränkend muss weiters gesagt werden, dass über den Übertragungsweg von via Ammen-bienen eingefüttertem Imidacloprid keine Aussage getroffen werden kann. Ob das zu den Königinnen gelangende Imidacloprid, dessen Radioaktivität gemessen und auf eine Dosis pro Tier umgerechnet wurde, dem aus Kopfdrüsen (Hypopharynx- oder Mandibeldrüsen) oder aus dem Futtersekret beigemengten Honigmageninhalt stammt, bleibt ungeklärt. Gewebsspezifische Imidaclopridkonzentrationen herauszuarbeiten, war in dem vorgegebenen Rahmen nicht möglich. Hier sollte, basierend auf den dargestellten Ergebnissen, die weitere Forschung zu diesem Thema ihren Ausgang nehmen.

Die Frage der Weitergabe von Pestiziden durch Ammensekret ist in der allgemein zugänglichen wissenschaftlichen Literatur bislang nicht behandelt worden, es findet sich aber eine Arbeit über die Verteilung von ^{14}C -Imidacloprid in Bienen (Suchail et al., 2004) und eine Arbeit über die Verteilung von radioaktiv markiertem Nikotin in Bienengewebe (du Rand et al., 2017). Beide geben jedoch über die Verhältnisse in den Ammen keine Auskunft.

4.3.5.2 Versuchsaufbau und Ergebnisse

Voraussetzung für diese Versuchsreihe war die am Institut erfolgreich durchgeführte Königinnen-zucht (siehe Abbildung 4.31). Das radioaktive Imidacloprid wurde per HPLC auf Reinheit und Gehalt kontrolliert. Die Versuche wurden so durchgeführt, dass zirka 30 Königinnen jeweils einzeln in kleinen Plastikbechern gehalten wurden, und von einer Schar Ammen (ca. 500-700 Ammen), welche Zugang zu Zuckerlösung und Pollen hatten und die in einer unter den Königinnenbechern liegenden Plastikwanne lebten, versorgt wurden.

Dadurch, dass die Ammen durch ein Metallgitter von den Königinnen getrennt wurden, beschränkte sich der Kontakt zwischen Amme und Königin auf die Futterübergabe. Die Zuckerlösung, die für die Ammen zur Verfügung stand, wurde nun mit 6 ng Imidacloprid (^{14}C -markiert, spezifische Aktivität 4.312 MBq/mg, molare Aktivität 1107 MBq/mmol) pro 30 μL Zuckerlösung dotiert. Der Versuch dauerte 24 h, nach dieser Zeit wurden die Königinnen eingefroren und bis zur Analyse der aufgenommenen Radioaktivität bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ aufbewahrt. Auch die Ammen wurden zur Analyse herangezogen.

Als Ergebnis dieses Königinnenfütterungsversuches, der zwei Wochen später wiederholt wurde, ergab sich, dass in den die Königinnen versorgenden Ammen Radioaktivitätswerte gefunden wurden, die umgerechnet auf die Menge an Pestizid 2-9 ng Imidacloprid/Biene entsprachen. In den Königinnen wurden entsprechend 3-5 ng Imidacloprid/Königin gefunden. Damit konnte gezeigt werden, dass in der Tat Radioaktivität, die aus dem markierten Imidacloprid (oder dessen Metaboliten) stammt und welches den Ammen dargeboten wird, den Weg zur Königin findet. Hierbei konnte aber nicht zwischen einer Weitergabe via Kopfdrüsen (Hypopharynx- oder Mandibeldrüsen) oder aufgrund der Beimischung von Honigmageninhalt differenziert werden. Für die weitere Forschung bleibt als interessantes Gebiet, die nach Ammenfütterung gewebsspezifischen Imidaclopridkonzentrationen, insbesondere auch bei eierlegenden Königinnen, deren Stoffwechsel von nicht-eierlegenden Königinnen verschieden ist, herauszuarbeiten.

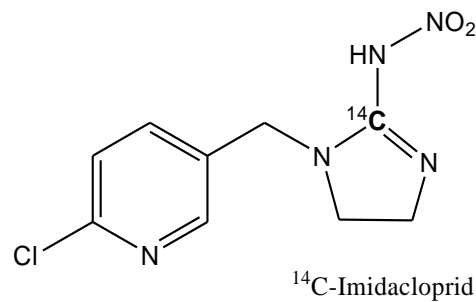


Abbildung 4.31: Königinnenzucht: links Königin im Schlupfkäfig, rechts Königin wird über Futterkontakte über ein Metallgitter hinweg ernährt, oben rechts radioaktiv markiertes Imidacloprid. (Fotos: ©Sophie Krainer).

Um die Versuche abzurunden, wurde im Anschluss an den Königinnenversuch noch eine Fütterungsreihe mit Arbeiterinnen durchgeführt mit dem Ziel, radioaktives Imidacloprid in der Hämolymphe oder dem Kopfgewebe (Drüsengewebe des Kopfes) nachzuweisen. Diese Versuche wurden gegen Ende der Saison (August-September 2016) durchgeführt, sodass berücksichtigt werden muss, dass es sich großenteils schon um Winterbienen gehandelt hat. Die Ergebnisse hierzu lassen sich wie folgt zusammenfassen: In den mit 6 ng ¹⁴C-Imidacloprid/10 µL Zuckerlösung von Hand gefütterten Bienen konnte nach 24 h kein radioaktives Imidacloprid in der Hämolymphe oder im Kopfgewebe, ebensowenig im Thorax, nachgewiesen werden. Praktisch die gesamte Radioaktivität befand sich im Mitteldarm respektive im Honigmagen der Bienen.

4.3.5.4 Diskussion

Mit den im Rahmen von Zukunft Biene für Modul 4 durchgeführten Experimenten konnte eine Annäherung an viele Fragen der Bienengesundheit, die im Zusammenhang mit Pestizidexposition stehen, erreicht werden. Jedoch blieben auch einige Fragen ungelöst und weitere wurden während des experimentellen Arbeitens aufgeworfen. Die Forschung auf diesem Gebiet erbrachte in den letzten Jahren eine fast unüberblickbar große Menge an Daten, wobei wir hoffen, mit unseren publizierten Ergebnissen klärend zur Forschungslandschaft beigetragen zu haben.

Manche experimentell ermittelte Ergebnisse waren unerwartet und mögen vordergründig für Teilaspekte der aktuellen, pestizidbedingten Bienengefährdung entwarnenden Charakter besitzen. Jedoch sei hier ausdrücklich nochmals darauf hingewiesen, dass die hier dargestellten Ergebnisse Verallgemeinerungen i.d.R. nicht zulassen.

4.5 Zusammenfassung

Im Zuge der Bearbeitung von Modul 4 (Individuelle Schadtoleranz), das sich auf die Bereiche „kumulierte Effekte subletaler Vergiftungen“, „physiologische Leistungsprüfung“ und „Entgiftungsmaßnahmen“ erstreckte, wurde während der Laufzeit von Zukunft Biene (2014-2017) mit den Bienenwesen Larven, Arbeiterinnen und Königinnen, sowie mit Hummeln gearbeitet. Dabei wurden jeweils Pestizide ausgewählt, deren Wirkung auf die Tiere getestet wurde, auch wurden kumulierte Effekte, wie sie bei Gegenwart von Pestiziden und Krankheitskeimen zu erwarten sind, erforscht. Die Anzahl der ausgewählten Pestizide blieb ressourcenbedingt gering, dem müssen auch weitergehende Interpretationen der hier vorgestellten Ergebnisse Rechnung tragen.

Die Überlebensraten von Larven, welche Pestiziddosen unterhalb der LC_{50} ausgesetzt waren, ergab, neben der Feststellung, dass Literaturangaben zur LD_{50} von uns oftmals nicht reproduziert werden konnten, eine stringent erscheinende kumulative Toxizitätswirkung der drei im Mix verabreichten Pestizide. Für frisch geschlüpfte Bienen konnte dieser Effekt nicht gezeigt werden, wohl aber für Hummeln.

Ferner konnte gezeigt werden, dass die Futterraufnahme von Bienen bei Darbietung von pestizidversetztem Futter einen fraßhemmenden Effekt ausübt und dass ein angebotener Pestizid-Mix in unserem Versuchsaufbau nicht zu einer signifikant reduzierten Lernleistung beim Rüsselstreckreflex (Proboscis-Extensor-Reflex) führt.

Flugleistungsexperimente ergaben keine signifikante Schwächung der reinen Flugleistung bei mit Pestiziden gefütterten Bienen.

Das gleichzeitige Vorhandensein eines der Insektizide Clothianidin, Dimethoat und einer Infektion (Amerikanische Faulbrut) hat einen signifikanten Einfluss auf die Sterblichkeit von Bienenlarven dergestalt, dass die Letaleffekte der beiden Stressoren im Zusammenspiel mehr als nur additiv wirken. Für das Biozid Fluvalinat konnte dieser Zusammenhang nicht gezeigt werden. Bei Clothianidin- oder Dimethoat-exponierten Larven fanden sich deutliche Veränderungen in der zellulären Immunantwort, i.e. eine niedrigere Gesamtzahl an Hämozyten und eine veränderte Population differenzierter Hämozyten, wobei letztere für die Rekrutierung einer Immunantwort in Bienenlarven verantwortlich sind.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass kutikulare Kohlenwasserstoffmuster bei Bienen, die mit Pestiziddosen behandelt wurden und denen gleichzeitig mit Lipopolysaccharid eine Bakterieninfektion vorgetäuscht wurde, gegenüber unbehandelten Kontrollbienen verändert sind und dass die Veränderung dieser Oberflächensubstanzen via Ammenbienen an die Königin „herangetragen“ wird, sodass die Königin daraufhin immunrelevante Gene aktiviert. Hierbei handelt es sich um einen Mechanismus, der bislang noch unbekannt war. In diese Richtung geht auch ein Versuch, in dem gezeigt werden konnte, dass Bienenlarven, welche Pestiziddosen ausgesetzt waren, ein verändertes Kohlenwasserstoffmuster auf ihrer Kutikula zeigen, was bei Ammen im Stock ein Ausräumverhalten diesen behandelten Larven gegenüber auslöst. Dieser Effekt wird auch durch orale Gabe von Lipopolysaccharid bei den Larven beobachtet.

Der Nachweis von Pestiziden in Gelée royale erwies sich als experimentell sehr schwierig. Es wurden verschiedene Extraktionsprotokolle auf ihre Brauchbarkeit für den Spurennachweis (in 1-10 mg Bienengewebe oder Gelée royale) hin untersucht. Ziel war es, aufgenommene Pestizide im Körper der Biene in einzelnen Geweben oder im Drüsensekret zu identifizieren und zu quantifizieren, um ihre Weitergabe von der Amme an die Larven oder die Königin zu verfolgen. Jedoch konnte der Nachweis von in die Hämolymphe aufgenommenem Clothianidin, welches dann via

Kopfdrüsen ins Sekret (Gelée royale) übergehen könnte, mit den hier eingesetzten Methoden nicht erbracht werden, was nicht gleichbedeutend mit der Nichtexistenz eines solchen Weges ist.

Eine Schutzwirkung von Gelée royale, wenn es pestizidhaltiger Kost zugesetzt wird, konnten wir experimentell nicht nachweisen.

Eine Weitergabe von Imidacloprid oder Imidaclopridbruchstücken (inkl. Metabolite) an unbegattete Königinnen durch Ammenfütterung konnte mittels Radioaktivitätsnachweis gezeigt werden. Hingegen konnten wir bei Winterbienen keine klare, zeitlich abhängige Aufnahme radioaktiven Materials (aus radioaktivem Imidacloprid) in die Hämolymphe nachweisen.

4.6 Dank

Wir danken Dr. Bernd Gesslbauer (Institut für Pharmazeutische Wissenschaften, Bereich Pharmazeutische Chemie) für die Durchführung von LC-MS-Analysen von Bienenproben.

Dank gebührt Anika Libor (Institut für Zoologie Graz) für die Durchführung der Analysen von radioaktivem Bienenmaterial sowie Dr. Bernhard Leonhard (Institut für Zoologie Graz) für hilfreiche Diskussionen.

(5) Trachtpflanzendiversität

5.1 Einleitung

Honig- und Wildbienen brauchen für die Versorgung mit Eiweiß und Fett Blütenpollen (Brodschneider & Crailsheim, 2010). Diesen sammeln sie im Flugkreis von den dort wachsenden Pflanzen (Donkersley et al., 2014). Doch Pollen ist nicht gleich Pollen, sondern es gibt große Unterschiede in seiner Verdaulichkeit, in seinem Protein-, Lipid-, und Vitamingehalt und dem Anteil an essentiellen Aminosäuren, wie chemische Analysen gezeigt haben (Crailsheim et al., 1993; Roulston & Cane, 2000; Di Pasquale et al., 2013; Omar et al., 2017). Damit wird dargelegt, dass Bienen hochqualitativen Pollen oder verschiedene Pollenquellen benötigen, um sich vollwertig ernähren zu können. Di Pasquale et al. (2013) haben zum Beispiel die Bedeutung von multifloralem Pollen für das Überleben von mit dem Krankheitserreger *Nosema ceranae* infizierten Bienen nachgewiesen. Eine gute Versorgung mit Pollen ist auch bei Varroa-Befall vorteilhaft (Annoscia et al., 2017). In der Untersuchung von Omar et al. (2017) haben wir im Kästchenversuch erwachsenen Bienen unterschiedliche monoflorale Diäten (Pollen der Sonnenblume, Senfpollen, Spargelpollen mit Anteilen von *Silphium perfoliatum*, Pollen der Edelkastanie, ein Gemisch der genannten Pollen, und Feedbee, ein kommerziell erhältliches Pollenersatzfutter) gefüttert, und die Entwicklung ihrer Hypopharynxdrüsen und der sauren Giftblase unter dem Mikroskop vermessen. Außerdem haben wir die unterschiedlichen Pollen an Völker verfüttert, um herauszufinden, welche von den Bienen bevorzugt gefressen werden. Wir haben die Pollen auch auf ihre Aminosäuren-Zusammensetzung untersucht. In dieser Untersuchung haben wir Folgendes nachweisen können: 1. Die Entwicklung beider Drüsen ist abhängig von der Qualität des Pollens – das zeigt sich vor allem bei den Hypopharynxdrüsen, weniger bei der sauren Giftblase. In beiden Fällen zeigen jedoch Bienen, die mit der Pollenmischung, reinem Spargel- oder Edelkastanienpollen gefüttert wurden, die beste Entwicklung. 2. Nicht jede Diät wird gleich gerne von Bienen gefressen. Vor allem eine Mischdiät aus mehreren Pollensorten, aber auch der Pollen der Edelkastanie, wird von den Bienen vermehrt konsumiert. Getestet wurde dies in Völkern, denen gleichzeitig unterschiedliche Diäten angeboten wurden.

Ein häufig genannter Faktor für den Rückgang von Bestäubungsinsekten ist die Artenarmut an Blütenpflanzen durch Monokulturen und Herbizid-Einsatz (Goulson et al., 2015). Weitere Faktoren, die besonders für Wildbienen eine Rolle spielen, sind der Verlust von speziellen Nahrungs- und Nisthabitaten durch auf- und ausgeräumte Landschaften und Bodenversiegelung (Potts et al., 2010). Mögliche Auswege für Regionen mit zeitweise auftretender Pollenarmut oder vorwiegend minderwertigen Pollentrachten könnten die gezielte Pflanzung von Mischkulturen oder – bei Honigbienen – notfalls Zufütterungen von Proteindiäten sein, um damit diese Mängel im Nahrungsangebot und der Nahrungszusammensetzung auszugleichen.

Für Österreich liegen bislang noch keine flächendeckenden Untersuchungen zur Kenntnis der saisonal und regional von Bienen genutzten Pollenquellen und deren Diversität vor. Ziel des Projektmoduls ist es, diese Lücke zu schließen, um zu diesen sowohl für die Volksentwicklung als auch für die Bienengesundheit wichtigen Fragen grundlegende Informationen zu erhalten. Wir haben uns dabei zu einer Einbindung von ImkerInnen als freiwillige ProbennehmerInnen, sogenannten „Citizen Scientists“ oder „BürgerwissenschaftlerInnen“, entschlossen.

Im Vorfeld dieses Moduls wurde ab dem Jahr 2013 begonnen, ein internationales Netzwerk („C.S.I. Pollen“) aufzubauen. Sowohl in Österreich (seit August 2013) als auch in den Niederlanden (seit Mai 2013) wurden dazu erste Pilotstudien durchgeführt. In den Jahren 2014 und 2015 wurde

diese Untersuchung in Österreich und auch in mehreren anderen Ländern Europas durchgeführt. Damit ist es möglich, Vergleiche im größeren, europäischen Maßstab – allerdings nur auf die Zahl der in den Pollenproben vorgefundenen Farben – zu machen. Im Rahmen von Zukunft Biene haben wir für Österreich einen Teil der Proben eingesammelt und zusätzlich einer lichtmikroskopischen Pollenanalyse zur Differenzierung verschiedener Pollenformen unterzogen.

Die an der AGES in den vergangenen Jahren aufgebaute Pollendatenbank PONET (<http://ponet.ages.at>) und pollenanalytisch erfahrene MitarbeiterInnen an der AGES-Außenstelle Lunz/See der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz waren eine wichtige Voraussetzung für die Durchführung der pollenanalytischen Untersuchungen der gesammelten Proben.

5.2 Material und Methoden

5.2.1 ImkerInnen und Versuchsstandorte

Im Rahmen von Imkerveranstaltungen und einem Artikel in der österreichischen Fachzeitschrift „Bienen aktuell“ wurde das Projekt vorgestellt und InteressentInnen angeworben. Diese wurden während der ganzen Versuchstätigkeit immer wieder kontaktiert und bei Fragen betreut. Im Internet wurde eine Anleitung zum Ablauf der Pollensammlung bereitgestellt. Die Teilnahme an den Untersuchungen war freiwillig und wurde nicht abgegolten.

Insgesamt wurden von interessierten ImkerInnen aus allen Bundesländern im Jahr 2014 Pollenproben von 38 Bienenständen und im Jahr 2015 von 36 Bienenständen eingesandt.

Die Betreuung der Bienenvölker, der Einbau der Pollen-Fallen und die Sammelaktivitäten in den vorausbestimmten Zeitabschnitten erfolgten eigenständig durch die ImkerInnen. Probengefäße und vorgedruckte Etiketten wurden von der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES per Post an die ImkerInnen verschickt.

Zur Pollensammlung wurden den teilnehmenden ImkerInnen pro Bienenstand 3 Pollenfallen aus Mitteln des Projektes „Zukunft Biene“ zur Verfügung gestellt. Jene TeilnehmerInnen, die bereits eigene Pollen-Fallen zur Blütenpollengewinnung im Betrieb in Verwendung hatten, verwendeten diese auch im Projekt weiter. Abbildung 5.1a gibt einen Überblick über die Verteilung der Versuchsstände in Österreich im Jahr 2014, Abbildung 5.1b im Jahr 2015.

Das Modul ist in zwei Ebenen der Datengewinnung gegliedert, die einerseits die beteiligten ImkerInnen, betreut von der Uni Graz, und andererseits die AGES, Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz, Außenstelle Lunz am See, einbinden.

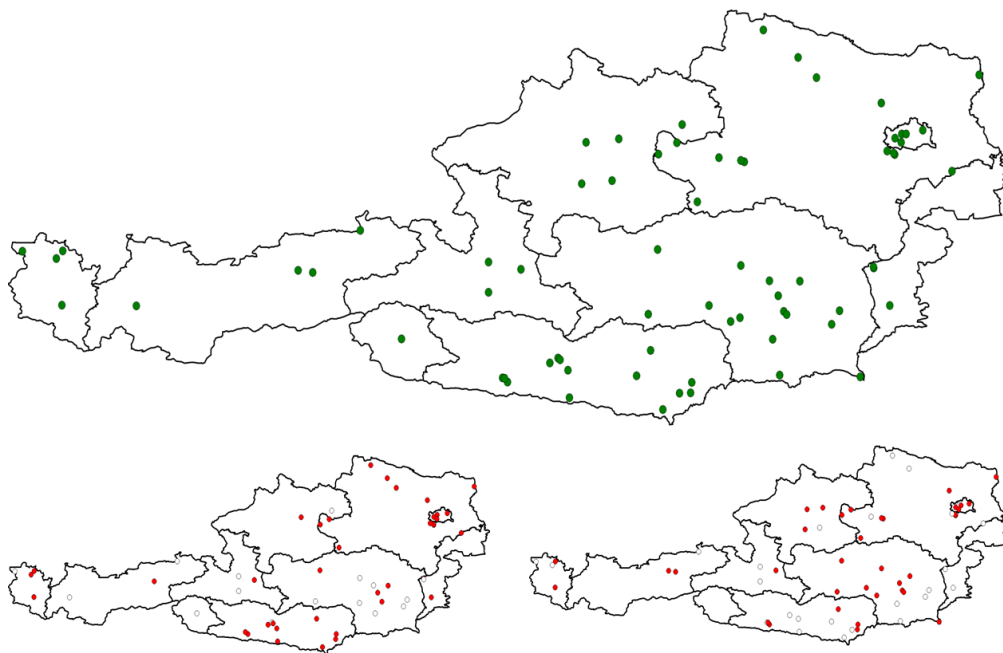


Abbildung 5.1: Standorte der Bienenstände an denen Pollen gesammelt wurden (oben), und von denen im Jahr 2014 (rote Punkte unten links) bzw. 2015 (rote Punkte unten rechts) gesammelte Pollenproben lichtmikroskopisch analysiert wurden. Leere Kreise zeigen die Standorte der Bienenstände der ImkerInnen die Pollenproben für C.S.I. Pollen gesammelt haben, deren Proben aber nicht lichtmikroskopisch analysiert wurden.

5.2.2 Pollensammlung und Farbzuordnung der Pollenladungen

In Ebene 1 wurde die Datenerfassung selbständig von den ImkerInnen durchgeführt. C.S.I. Pollen, so der Name der ersten Ebene und des internationalen Teils der Untersuchung, steht für „Citizen Scientist Investigation on Pollen Diversity available for Honey Bees“, was sich in etwa mit „Untersuchung der für Honigbienen verfügbaren Pollendiversität mit Bürgerbeteiligung“ übersetzen lässt.

Vom Zoologischen Institut der Universität Graz wurde ein Protokoll entwickelt, das in einfachen Worten und Bildern die Probenahme und Analyse durch ImkerInnen beschreibt. Die Probensammlung durch die ImkerInnen wurde über das Institut für Zoologie der Universität Graz organisiert und koordiniert. Dabei sammelten die teilnehmenden ImkerInnen gemäß einem vorher festgelegten Sammelkalender zu bestimmten Terminen bei 1-3 Völkern eines Bienenstandes den Pollen mit Pollenfallen gemäß C.S.I. Pollen-Anleitung (Download und weitere Infos auf:

<http://bienenstand.at/c-s-i-pollen/c-s-i-oesterreich/>). Die Sammeltermine für beide Jahre finden sich in Tabelle 5.1.

Die zu den jeweiligen Sammelterminen gezogenen Pollenproben wurden anschließend von den TeilnehmerInnen selbst einer einfachen ersten Analyse unterzogen. Dazu wurden etwa 20 g Pollenhöschen (= ein Honigglasdeckel bis zum Rand gefüllt) auf ein Blatt Papier geleert und Pollenladungen nach unterschiedlichen Farben sortiert. Die jeweiligen Farben wurden dann nach folgenden Häufigkeitskriterien klassifiziert (siehe Abbildung 5.2):

- HÄUFIGE Farben in der Probe (>20 Pollenhöschen)
- SELTENE Farben in der Probe (3-20 Pollenhöschen)
- SEHR SELTENE Farben in der Probe (1-2 Pollenhöschen).

Tabelle 5.1: Probenahmetermini der Untersuchung C.S.I. Pollen – Trachtpflanzendiversität im Jahr 2014 und 2015.

Termine 2014	Termine 2015
3.-6. April	2.-5. April
24.-27. April	23.-26. April
15.-18. Mai	14.-17. Mai
5.-8. Juni	4.-7. Juni
26.-29. Juni	25.-28. Juni
17.-20. Juli	16.-19. Juli
7.-10. August	6.-9. August
28.-31. August	27.-30. August
18.-21. September	17.-20. September



- Farbe
- Menge:
- ausreichend
- zu wenig



Abbildung 5.2: Schematischer Ablauf der Pollensammlungen im Rahmen des Moduls „Trachtpflanzendiversität“.

Die von den ImkerInnen gemäß C.S.I. Pollen-Anleitung selbst durchgeführte Sortierung nach Farben erlaubt eine Grobbeurteilung der Trachtpflanzendiversität im Hinblick auf:

1. die zeitliche und räumliche Charakterisierung des Pollenangebots für Honigbienen,
2. die Identifikation besonders pollenartenarmer oder pollenartenreicher Lebensräume anhand einfacher Charakterisierung der Habitats (zum Beispiel: Stadt, Dorf, Auwald, Alm),
3. die Korrelation des Pollenangebots mit geographischen Parametern (zum Beispiel: Seehöhe),
4. die Erfassung von bienenvolkspezifischen Unterschieden der am selben Standort gesammelten Pollenarten.

Für die Übermittlung der relevanten Ergebnisse durch ImkerInnen stand ein speziell dafür unter Verwendung von Limesurvey Version 1.91+ erstelltes online-Werkzeug zur Verfügung. Damit konnten die beteiligten ImkerInnen ihre Daten zum Standort der Bienenvölker (mit Hilfe von Luftbildern und Google maps) und zu den ermittelten Farben der gesammelten Pollenhöschen online eingeben. Diese Daten werden dabei automatisch in Tabellenform übernommen und stehen für weitere Auswertungen zur Verfügung. Die Ergebnisse dieser Ebene der Untersuchung werden gemeinsam mit den Ergebnissen der anderen teilnehmenden Länder an anderer Stelle publiziert, und sind nicht Teil dieses Berichts.

Nach dem Sortieren der Pollen nach Farben gemäß C.S.I. Pollen-Anleitung und Eintragung der Ergebnisse in die C.S.I. Pollen-Datenbank, füllten die ImkerInnen pro Volk und Termin einen Honigglasdeckel mit Pollen (zirka 20 g) und ließen den Pollen an der Luft trocknen. Anschließend sandten sie die Pollenproben entsprechend etikettiert (ImkerIn, Standort, Sammeldatum, Volksnummer) an die Außenstelle Lunz/See der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES ein. Konnten weniger als die genannten 20 g Pollen gesammelt werden, wurde die gesamte Menge zur Pollenanalyse eingeschickt.

5.2.3 Lichtmikroskopische Analyse der Pollenladungen

In der zweiten Ebene der Datenerfassung erfolgte eine lichtmikroskopische Untersuchung der Pollenproben. Diese ist notwendig, da eine exakte botanische Zuordnung nur in den seltensten Fällen allein mit Hilfe der Farbe der Pollenhöschen möglich ist. Einerseits kann die Farbe der Pollenhöschen innerhalb einer Pflanzenart entsprechend dem Trocknungszustand variieren, andererseits können gleichfarbige Pollenhöschen auch von verschiedenen Pflanzenarten stammen. Mehr und exaktere Informationen liefert daher eine lichtmikroskopische Pollenanalyse des gesammelten Materials, wobei aber selbst mit dieser Methode nicht in jedem Fall eine Differenzierung bis auf Artniveau möglich ist. Der Grund liegt darin, dass sich die Pollenkörner von Pflanzenarten bestimmter Gattungen in ihren lichtmikroskopisch erkennbaren Merkmalen kaum unterscheiden, bzw. noch nicht der Pollen jeder Pflanzenart klassifiziert und in der Pollendatenbank erfasst ist.

Die eingesandten Pollenproben wurden dann hinsichtlich der vorkommenden Pollenformen (= botanische Herkunft) und deren Häufigkeit analysiert. Damit ist eine vertiefende Aussage zu den tatsächlich im Flugkreis der Bienen genutzten Pollenquellen und den Unterschieden in deren Nutzung zwischen den beprobten Völkern desselben Standes möglich.

Für die Herstellung der Präparate zur Pollenanalyse wurde die Methode von Barth et al. (2010) adaptiert, um auch beim Versand plattgedrückte, verklebte Pollenproben homogen aufbereiten zu können.

Nach dem Einlangen der Probe in der Abteilung für Bienenkunde und Bienenschutz in Lunz/See, wurde sie mit einem Eingangsdatum und der internen Probennummer (Labor Informationssystem AGES-Nummer: „LISA“) beschriftet (Abbildung 5.3). Alle am Etikett ersichtlichen Parameter und das Gewicht (Abbildung 5.4) der Probe wurden in eine Excel-Liste eingetragen. Um eventuelle Schreibfehler zu vermeiden, wurde die LISA-Nummer der Etikette mittels Barcode-Scanner übernommen. Bis zur weiteren Bearbeitung wurden die Proben tiefgekühlt gelagert, um Schädlingsbefall oder ein Verschimmeln des Pollens zu verhindern.

Bei der Probenvorbereitung für die Pollenanalyse wurde die gesamte Probe in ein Becherglas überführt (Abbildung 5.5). War die Probe feucht und klebrig, wurde das Probensackerl zusätzlich mit destilliertem Wasser ausgespült. Je nach Gewicht und Trocknungszustand der Pollenprobe wurde nun destilliertes Wasser (Abbildung 5.6) zugegeben und die Probe mit Hilfe eines Magnetrührers so lange gerührt, bis alle Pollenhöschen vollständig zerfallen waren und eine homogene Suspension entstanden war (Abbildung 5.7). Mit einer Mikropipette wurde dann während des Rührvorganges eine kleine Menge der Suspension entnommen (Abbildung 5.8 und 5.9) und in der Größe des Deckglases auf einen Objektträger aufgebracht (Abbildung 5.10). Nach dem Abtrocknen des Sediments auf einer Heizplatte, wurde dieses in Glyceringelatine eingebettet (Abbildung 5.11) und anschließend mit einem Deckglas abgedeckt (Abbildung 5.12). Der Rest der Probe wurde in einem Einwegplastikgebilde mit Schraubverschluss bei 18°C tiefgefroren aufbewahrt (Abbildung 5.13). Abbildung 5.14 zeigt die unterschiedlichen Farben der Pollensuspensionen vor dem Einfrieren.

Nach dem Trocknen des Präparates für 24 Stunden erfolgte die Auszählung und Identifikation der Pollenkörner im Lichtmikroskop bei 400-1000 facher Vergrößerung unter Ölimmersion. Dabei wurden die im Präparat vorhandenen Pollenformen unter Verwendung der an der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz etablierten Pollendatenbank „PONET“ (<http://ponet.ages.at>), bzw. anhand von Vergleichspräparaten aus der Präparatesammlung, so weit als möglich identifiziert. Der relative Anteil der vorhandenen Pollenformen wurde gemäß Barth et al. (2010) durch Auszählung von 500 Pollenkörnern/Probe bestimmt. Die gefundenen Pollenformen und deren Häufigkeiten wurden in das für jede Probe angelegte Auszählprotokoll (Excel-File) eingetragen.

Pollenformen verschiedener verwandter Arten, die sich lichtmikroskopisch nicht unterscheiden lassen, werden im Auszählprotokoll als größere systematische Kategorien (Gattung, Familie) ausgewiesen. Pollenformen verschiedener, systematisch nicht näher verwandter Arten, werden als gemeinsame Gruppe unter Angabe der Gattung ausgewiesen (zum Beispiel „*Malus*, *Pyrus*, *Crataegus*“). Nicht identifizierbare Pollenformen werden als solche separat ausgewiesen. Unbekannte Pollenformen mit größerer Häufigkeit werden mikroskopisch vermessen und klassifiziert. Der daraus resultierende sechsstellige Pollenschlüssel wird für diese Pollenformen in der Auszählungsliste mit angeführt (zum Beispiel „unbekannt 776131“. Nur als Einzelpollen vorhandene unbekannte Pollenformen verschiedener Pflanzenarten werden als Sammelgruppe „unbekannt“, ohne Angabe eines Pollenschlüssels, ausgewiesen.



Laufende Probennummer des AGES-
Laborinformationssystems („LISA“)

Eingangsdatum

Abbildung 5.3: Eingesandte Probe. Die Säckchen werden den TeilnehmerInnen bereits mit Beschriftungsetikett zur Verfügung gestellt. Die Nummer des beprobten Volkes und das Datum der Probenahme sind von den TeilnehmerInnen auszufüllen.



Abbildung 5.4: Die eingesandte Probenmenge wird gewogen.



Abbildungen 5.5 und 5.6: Die Probe wird in ein Becherglas überführt und nach Bedarf destilliertes Wasser zugegeben, damit die Pollenhöschen zerfallen.



Abbildung 5.7: Homogene Suspension nach dem Rührvorgang am Magnetrührer.



Abbildung 5.8 und 5.9: Entnahme einer kleinen Menge der Suspension.



Abbildung 5.10: Aufbringen der Suspension auf den Objektträger.



Abbildung 5.11: Das abgetrocknete Sediment wird in Glyceringelatine eingebettet.



Abbildung 5.12: Abdeckung des Sediments mit einem Deckglas.

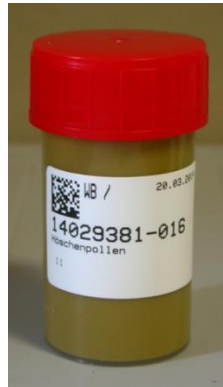


Abbildung 5.13: Der Rest der Pollenprobe wird tiefgefroren.



Abbildung 5.14: Vergleich verschiedener Farben der homogenisierten Pollenproben.

5.3 Ergebnisse Pollenanalysen 2014 und 2015

Im Jahr 2014 wurden von 38 teilnehmenden ImkerInnen mit 38 Bienenständen an 9 Probenahmeterminen (Tabelle 5.1) insgesamt 804 Höschepollenproben aus Pollenfallen gesammelt und an die Außenstelle Lunz/See der Abteilung Bienenkunde und Bienenschutz der AGES eingeschickt. Im Jahr 2015 stammten die Proben von 34 ImkerInnen mit 36 Bienenständen (2 ImkerInnen hatten jeweils 2 Stände zur Verfügung gestellt). An den 9 Probenahmeterminen (Details siehe Tabelle 5.1) wurden insgesamt 818 Höschepollenproben gesammelt und eingeschickt.

Bei der lichtmikroskopischen Auswertung wurden im Jahr 2014 203 Pollenformen unterschieden, im Jahr 2015 waren es 207 Pollenformen. Im Jahr 2014 konnten davon 187 Pollenformen identifiziert und systematischen botanischen Einheiten unterschiedlicher Niveaus (Art, Gattung, Familie) oder Gruppen von lichtmikroskopisch nicht unterscheidbaren Pollenformen (zum Beispiel „*Malus*, *Pyrus*, *Crataegus*“-Form) zugeordnet werden, im Jahr 2015 waren dies 193 Pollenformen.

Unbekannte Pollenformen mit größeren Häufigkeiten wurden hinsichtlich ihrer morphologischen Merkmale vermessen und der sechsstellige numerische Pollencode ermittelt. In diesem Code stehen die einzelnen Stellen in der Reihenfolge von links nach rechts für Länge, Breite, Keimstellenzahl, Keimstellenart, Exinestruktur, Aggregation (für EDV-Verarbeitung adaptiert nach Vorwohl (1968).

Dieser wurde dann zur Bezeichnung „unbekannt“ hinzugefügt (zum Beispiel: „unbekannt 776131“). Dadurch wäre zu einem späteren Zeitpunkt eine nachträgliche Zuordnung möglich, sollte die zugehörige Pflanze bekannt werden. Selten gefundene, nicht identifizierte Pollen erhielten die

Sammelbezeichnung „unbekannt“ und wurden unter dieser Bezeichnung als Sammelgruppe erfasst.

5.3.1 Relative Häufigkeiten der verschiedenen Pollenformen

In beiden Versuchsjahren erreichten die Maximalwerte der größten relativen Häufigkeit (%) von einzelnen Pollenformen bei Einzelvölkern Werte von nahezu 100% (Tabelle 5.2a: 2014 und Tabelle 5.3a: 2015).

Versuchsjahr 2014

Im Jahr 2014 waren die Spitzenreiter mit Werten über 90% *Hedera helix* (Efeu), *Rubus* spp. (Himbeere, Brombeere), *Trifolium pratense*-Form (Rotklee-Gruppe), *Sinapis* spp. (Senf), *Castanea sativa* (Edelkastanie), *Impatiens* spp. (Springkraut) und *Salix* spp. (Weide). Insgesamt wurden in 46,1% der Pollenproben (371 von 804 untersuchten Proben) Pollenformen mit relativen Häufigkeiten >50% gefunden (Tabelle 5.2b; Pollenformen die nur in einer Probe mit einem Anteil von >50% gefunden wurden, werden nicht dargestellt). Die häufigsten Spezies sind ebenfalls in Tabelle 5.2a ersichtlich. Es gab aber auch eine Reihe von Proben, in denen bestimmte Pollenformen nur in Einzelfällen gefunden wurden und relative Häufigkeiten von weniger als 1% erreichten.

Einige Pollen werden in den Auswertungen als „nicht aufgequollen“ geführt. Ein Beispiel dafür ist in Abbildung 5.15 zu sehen. Bei diesen nicht aufgequollenen Pollen handelt es sich um verschiedene Pollenformen, die aus bisher unbekanntem Gründen – entgegen der normalen Reaktion – in der flüssigen Glyceringelatine nicht aufgequollen sind.

Tabelle 5.2a: Mittelwerte und Maxima des relativen Anteils der 203 im Untersuchungsjahr 2014 unterschiedenen Pollenformen (in alphabetischer Reihenfolge). Anzahl positiver Proben für diese Pollenformen und prozentuelle Häufigkeit positiver Nachweise der Pollenformen bezogen auf die im Jahr 2014 insgesamt untersuchte Zahl von 804 Proben. Anmerkungen werden am Ende der Tabelle erklärt.

Spezies	Mittelwert von %-Anteil	Maximum von %-Anteil	Anzahl positiver Proben für diese Pollenform	% positive Proben für diese Pollenform (bezogen auf 804 untersuchte Proben)
<i>Acer</i> spp.	16,0	87,2	256	31,8
<i>Achillea</i> -Form ¹	2,3	63,4	271	33,7
<i>Aesculus hippocastanum</i>	9,1	77,0	129	16,0
<i>Aesculus x carnea</i>	3,9	31,2	31	3,9
<i>Ailanthus altissima</i>	0,8	3,0	17	2,1
<i>Ajuga</i> spp.	4,0	13,0	5	0,6
<i>Allium</i> spp.	0,7	3,2	77	9,6
<i>Alnus</i> spp.	0,3	0,6	8	1,0
<i>Ambrosia</i> spp.	17,9	40,0	5	0,6
<i>Amorpha fruticosa</i>	1,8	28,4	103	12,8
<i>Anemone</i> spp., <i>Clematis</i> spp., <i>Pulsatilla</i> spp., <i>Ranunculus</i> spp.*	6,3	12,4	2	0,2
Apiaceae	3,8	70,8	296	36,8
<i>Arctium</i> spp.	1,3	16,4	53	6,6
<i>Artemisia</i> spp.	2,4	12,2	24	3,0
<i>Aruncus dioicus</i>	5,8	38,4	69	8,6
<i>Asparagus officinalis</i>	18,7	61,4	17	2,1
<i>Asperula</i> spp., <i>Cruciata</i> spp., <i>Galium</i> spp.*	1,8	12,4	19	2,4
Asteraceae	6,5	83,6	407	50,6
<i>Atriplex</i> spp., <i>Bassia</i> spp., <i>Chenopodium</i> spp., <i>Suaeda</i> spp.*	1,1	16,0	99	12,3
<i>Atropa bella-donna</i>	0,5	2,8	30	3,7
<i>Begonia</i> spp.	8,4	78,6	61	7,6
Berberidaceae	1,0	4,8	51	6,3
<i>Betula</i> spp.	3,2	58,2	71	8,8
Boraginaceae	1,6	1,6	1	0,1
<i>Borago officinalis</i>	0,4	1,2	6	0,7
<i>Brassica</i> spp.	19,3	79	95	11,8
Brassicaceae	5,7	80,0	338	42,0
<i>Buddleja</i> spp., <i>Cyclamen</i> spp., <i>Primula</i> spp.*	6,9	65,4	135	16,8
<i>Buxus sempervirens</i>	2,8	19,6	28	3,5
<i>Calluna vulgaris</i>	5,2	26,6	14	1,7
<i>Calystegia</i> spp.	0,2	0,8	114	14,2
<i>Campanula</i> spp., <i>Jasione</i> spp., <i>Legousia</i> spp., <i>Phyteuma</i> spp.*	0,6	2,8	72	9,0
<i>Cannabis sativa</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Carpinus betulus</i>	1,2	6,2	38	4,7

Caryophyllaceae	0,5	5,4	194	24,1
<i>Castanea sativa</i>	22,3	92,8	51	6,3
<i>Catalpa</i> spp.	0,2	0,2	4	0,5
<i>Centaurea jacea</i> -Form	3,1	46,8	211	26,2
<i>Centaurea scabiosa</i>	0,9	1,6	3	0,4
<i>Cercis siliquastrum</i>	3,9	7,8	4	0,5
<i>Cirsium</i> spp., <i>Carduus</i> spp., <i>Silybum</i> spp.*	1,4	35,0	317	39,4
<i>Citrus</i> spp.	0,6	1,4	3	0,4
<i>Colchicum autumnale</i>	0,4	1,2	23	2,9
<i>Colchicum</i> spp.	0,5	1,4	19	2,4
<i>Convolvulus</i> spp.	0,4	3,4	132	16,4
<i>Cornus sanguinea</i>	1,1	20,6	155	19,3
<i>Corylus avellana</i>	1,9	9,8	14	1,7
<i>Cotinus coggygria</i>	15,4	46,8	9	1,1
<i>Cotoneaster</i> spp.	18,7	30,8	3	0,4
<i>Crocus</i> spp.	0,8	3	25	3,1
<i>Cucurbita pepo</i>	0,2	0,4	16	2,0
Cucurbitaceae	0,5	0,8	4	0,5
<i>Cyanus montanus</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Cyanus segetum</i>	4,9	60,0	98	12,2
Cyperaceae	0,6	4,2	79	9,8
<i>Datura</i> spp.	0,3	0,4	3	0,4
<i>Datura stramonium</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Datura suaveolens</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Diervilla</i> spp.	0,3	0,4	10	1,2
<i>Echinops sphaerocephalus</i>	0,5	6,4	30	3,7
<i>Echium</i> spp.	3,2	36,0	54	6,7
<i>Elaeagnus angustifolium</i>	0,3	1,0	8	1,0
<i>Epilobium angustifolium</i>	0,2	0,4	20	2,5
<i>Epilobium</i> spp.	0,3	1,0	15	1,9
<i>Erica arborea</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Erica carnea</i>	1,0	4,0	19	2,4
Ericaceae	0,2	0,4	10	1,2
<i>Euphorbia</i> spp.	1,2	3,2	3	0,4
<i>Fagopyrum esculentum</i>	7,8	83,0	105	13,1
<i>Fagus sylvatica</i>	3,4	28,6	72	9,0
<i>Filipendula</i> spp.	9,3	79,6	89	11,1
<i>Fragaria ananassa</i>	4,4	19,8	13	1,6
<i>Fragaria vesca</i>	1,4	14,6	60	7,5
<i>Frangula alnus</i>	0,4	1,0	18	2,2
<i>Fraxinus excelsior</i>	1,4	3,6	17	2,1
<i>Genista</i> spp.	0,6	1,2	3	0,4
<i>Geranium</i> spp.	0,3	6,4	209	26,0
<i>Geum</i> spp.	5,2	5,2	1	0,1
<i>Gleditsia triacanthos</i>	13,5	79,6	35	4,4
<i>Hedera helix</i>	32,9	99,8	104	12,9

<i>Helianthemum</i> spp.	0,7	8,2	128	15,9
<i>Helianthus</i> spp.	1,7	36,8	95	11,8
<i>Helleborus niger</i>	1,9	5,0	6	0,7
<i>Heracleum</i> spp.	3,2	79,6	105	13,1
<i>Hibiscus</i> spp.	0,2	0,2	3	0,4
<i>Hippocrepis</i> spp.	4,8	4,8	1	0,1
Hyacinthaceae	0,3	0,4	4	0,5
<i>Hydrangea</i> spp.	8,8	42,8	12	1,5
<i>Hypericum</i> spp.	15,9	72,2	31	3,9
<i>Ilex aquifolium</i>	1,5	11,8	16	2,0
<i>Impatiens</i> spp.	9,4	98,2	177	22,0
Iridaceae	0,2	0,2	1	0,1
<i>Juglans</i> spp.	1,0	9,2	77	9,6
<i>Juncus</i> spp., <i>Luzula</i> spp.*	2,0	31,8	77	9,6
<i>Juniperus communis</i>	1,0	2,6	4	0,5
<i>Knautia</i> spp.	0,3	9,6	183	22,8
Lamiaceae	2,0	2,0	1	0,1
<i>Lamium</i> -Form ² (6 Kst.)	0,5	4,4	155	19,3
<i>Lamium</i> -Form ³ (3 Kst.)	5,6	46,4	79	9,8
<i>Lathyrus</i> spp.	1,0	1,4	4	0,5
<i>Leucojum vernum</i>	1,7	3,0	2	0,2
<i>Ligustrum vulgare</i>	4,2	48,6	98	12,2
<i>Lilium</i> spp.	0,4	4,8	94	11,7
<i>Linum</i> sp.	0,3	0,6	6	0,7
<i>Liriodendron tulipifera</i>	1,2	16,4	50	6,2
<i>Lonicera</i> spp.	0,5	5,4	116	14,4
<i>Loranthus europaeus</i>	11,0	63,4	12	1,5
<i>Lotus</i> spp.	1,8	23,0	90	11,2
<i>Lupinus</i> spp.	2,8	6,6	3	0,4
<i>Lythrum salicaria</i>	1,5	12,8	27	3,4
<i>Malus</i> spp., <i>Pyrus</i> spp., <i>Crataegus</i> spp.*	14,1	71,4	246	30,6
<i>Malva</i> -Form ⁴	0,2	0,6	43	5,3
<i>Melampyrum</i> spp.	25,9	78,4	22	2,7
<i>Mercurialis</i> spp.	4,3	9,6	4	0,5
<i>Muscari</i> spp.	1,3	6,8	22	2,7
<i>Myosotis</i> spp.	0,8	6,0	27	3,4
<i>Narcissus</i> spp.	1,1	1,8	3	0,4
nicht aufgequollen	26,3	73,8	36	4,5
<i>Nymphaea</i> spp.	0,5	1,0	4	0,5
<i>Ocimum basilicum</i>	0,3	1,0	26	3,2
<i>Oenothera tetragona</i>	0,3	1,6	62	7,7
<i>Onobrychis</i> spp.	3,4	27,8	50	6,2
<i>Ononis spinosa</i>	3,1	5,6	4	0,5
<i>Onopordum</i> spp.	0,2	0,2	1	0,1
<i>Ornithogalum</i> spp.	3,9	6,4	3	0,4
<i>Pachysandra terminalis</i>	0,2	0,2	3	0,4

<i>Paeonia</i> spp.	0,2	0,2	5	0,6
<i>Papaver rhoeas</i>	11,0	79,2	45	5,6
<i>Papaver somniferum</i>	30,2	79,6	5	0,6
<i>Papaver</i> spp.	9,7	31,0	4	0,5
<i>Parthenocissus</i> spp.	6,8	74,0	184	22,9
<i>Persicaria bistorta</i>	0,7	4,4	18	2,2
<i>Persicaria maculosa</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Petasites</i> spp.	2,9	14,4	23	2,9
<i>Petunia</i> spp.	3,0	38,8	48	6,0
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	14,0	64,6	52	6,5
<i>Phlox</i> spp.	0,2	0,4	5	0,6
<i>Physocarpus monogyna</i>	22,2	44,0	5	0,6
<i>Picea abies</i> , <i>Abies alba</i>	0,2	0,6	128	15,9
<i>Pinus</i> spp.	0,9	65,4	142	17,7
<i>Plantago</i> spp.	9,2	72,8	540	67,2
Poaceae	1,4	32,0	328	40,8
<i>Polemonium caeruleum</i>	0,3	0,6	5	0,6
<i>Potentilla</i> spp.	5,6	79,6	100	12,4
<i>Prunus avium</i>	25,9	70,4	22	2,7
<i>Prunus domestica</i>	1,7	8,4	12	1,5
<i>Prunus padus</i>	3,8	17,4	33	4,1
<i>Prunus persica</i>	0,8	0,8	1	0,1
<i>Prunus</i> spp.	16,3	71,2	87	10,8
<i>Pterocarya fraxinifolia</i>	0,7	1,2	3	0,4
<i>Quercus</i> spp.	10,6	45,0	78	9,7
<i>Ranunculus</i> spp.	5,4	86,8	494	61,4
<i>Rhamnus</i> spp.	4,4	35,0	35	4,4
<i>Rhododendron</i> spp., <i>Vaccinium</i> spp.*	2,6	18,2	50	6,2
<i>Ribes</i> spp.	1,0	2,8	7	0,9
<i>Robinia pseudacacia</i>	3,3	28,2	15	1,9
Rosaceae	3,9	38,4	155	19,3
<i>Rubus</i> spp.	10,1	99,0	207	25,7
<i>Rumex</i> spp.	1,2	26,8	109	13,6
<i>Salix</i> spp.	21,5	92,2	202	25,1
<i>Salvia glutinosa</i>	21,3	88,6	75	9,3
<i>Salvia officinalis</i>	0,5	0,8	2	0,2
<i>Sambucus</i> spp., <i>Philadelphus coronarius</i> *	15,8	72,8	8	1,0
<i>Scabiosa</i> spp.	0,3	1,0	36	4,5
<i>Scilla</i> spp.	0,4	0,4	1	0,1
<i>Silphium perfoliatum</i>	0,8	1,6	6	0,7
<i>Sinapis</i> spp.	14,8	91,0	185	23,0
<i>Sophora</i> spp., <i>Linaria</i> spp.*	0,2	0,2	1	0,1
<i>Symphytum</i> spp.	0,6	1,4	13	1,6
<i>Syringa vulgaris</i>	2,1	45,4	110	13,7
<i>Taraxacum</i> -Form ⁵	6,2	79,8	605	75,2

<i>Taxus baccata</i>	0,4	0,4	1	0,1
<i>Tilia</i> spp.	2,8	68,6	134	16,7
<i>Tragopogon</i> spp.	0,8	2,0	6	0,7
<i>Trifolium pratense</i> -Form ⁶	8,2	94,2	304	37,8
<i>Trifolium repens</i> -Form ⁷	11,4	87,4	501	62,3
„unbekannt“ (Sammelgruppe)	2,3	34,2	654	81,3
unbekannt 223351	7,3	11,6	3	0,4
unbekannt 223361	9,8	50,8	34	4,2
unbekannt 333311	31,8	58,2	2	0,2
unbekannt 333361	4,9	34,0	11	1,4
unbekannt 334311	5,8	14,2	6	0,7
unbekannt 443111	10,1	20,6	4	0,5
unbekannt 443221	24,2	75,2	7	0,9
unbekannt 443261	1,7	3,2	2	0,2
unbekannt 443321	4,6	15,4	7	0,9
unbekannt 443361	10,1	47,4	9	1,1
unbekannt 553261	6,3	24,6	16	2,0
unbekannt 553311	48,8	48,8	1	0,1
unbekannt 553361	11,5	20,2	2	0,2
unbekannt 663261	21,6	39,6	3	0,4
unbekannt 663361	4,2	4,4	2	0,2
unbekannt 773361	3,0	3,0	1	0,1
unbekannt 776131	5,8	5,8	1	0,1
<i>Urtica</i> spp., <i>Parietaria</i> spp.	2,6	12,6	13	1,6
<i>Veronica</i> spp.	1,9	4,2	3	0,4
<i>Viburnum</i> spp.	3,7	49,0	69	8,6
<i>Vicia</i> spp.	12,0	84,2	107	13,3
<i>Viola tricolor</i>	0,4	3,0	97	12,1
<i>Viscum album</i>	0,4	0,6	4	0,5
<i>Vitis vinifera</i>	1,9	2,2	2	0,2
<i>Weigela</i> spp.	0,4	1,8	39	4,9
<i>Zea mays</i> , <i>Triticum</i> <i>aestivum</i>	2,2	56,0	102	12,7
Gesamtergebnis	5,8	99,8	13759	

¹ *Achillea* spp., *Anthemis* spp., *Argyranthemum* spp., *Chrysanthemum* spp., *Leucanthemopsis* spp., *Leucanthemum* spp., *Tanacetum* spp., *Tripleurospermum* spp.

² *Acinos* spp., *Agastache* spp., *Clinopodium* spp., *Dracocephalum* spp., *Glechoma* spp., *Lavandula* spp., *Melissa* spp., *Mentha* spp., *Monarda* spp., *Nepeta* spp., *Ocimum* spp., *Origanum* spp., *Prunella* spp., *Rosmarinus* spp., *Salvia* spp., *Satureja* spp., *Thymus* spp.

³ *Ajuga* spp., *Ballota* spp., *Betonica* spp., *Caryopteris* spp., *Galeobdolon* spp., *Galeopsis* spp., *Lamium* spp., *Leonorus* spp., *Marrubium* spp., *Melittis* spp., *Moluccella* spp., *Nepeta* spp., *Phlomis* spp., *Prasium* spp., *Scutellaria* spp., *Sideitis* spp., *Stachys* spp., *Teucrium* spp., *Vitex* spp.

⁴ *Althaea* spp., *Dinacrusa hirsuta*, *Lavatera* spp., *Malva* spp.

⁵ *Cicerbita* spp., *Cichorium* spp., *Crepis* spp., *Hieracium* spp., *Hypochaeris* spp., *Lactuca* spp., *Lapsana* spp., *Leontodon* spp., *Picris* spp., *Prenanthes* spp., *Reichardia* spp., *Scorzonera* spp., *Scorzoneroides* spp., *Sonchus* spp., *Taraxacum* spp., *Urospermum* spp., *Willemetia* spp.

⁶ *T. pratense*, *T. hybridum*, *T. alexandrinum*, *T. incarnatum*

⁷ *T. repens*, *T. montanum*, *T. nigrescens*

* lichtmikroskopisch nicht genauer differenzierbar

Tabelle 5.2b: Anzahl an Proben aus dem Jahr 2014, in denen Pollenformen mit einem relativen Anteil >50% aufgetreten sind, in absteigender Reihenfolge (Gesamtzahl untersuchter Proben: 804).

Pollenform (Species)	Maximale relative Häufigkeit %	Anzahl Proben 2014 mit >50 % dieser Species
<i>Hedera helix</i>	99,8	36
<i>Salix</i> spp.	92,2	36
<i>Trifolium repens</i> -Form ⁷	87,4	30
<i>Acer</i> spp.	87,2	28
<i>Plantago</i> spp.	72,8	21
<i>Salvia glutinosa</i>	88,6	16
<i>Sinapis</i> spp.	91,0	16
<i>Trifolium pratense</i> -Form ⁶	94,2	15
<i>Brassica</i> spp.	79,0	11
<i>Impatiens</i> spp.	98,2	11
<i>Malus</i> spp., <i>Pyrus</i> spp., <i>Crataegus</i> spp.*	71,4	11
Asteraceae	83,6	10
<i>Prunus</i> spp.	71,2	10
<i>Vicia</i> spp.	84,2	10
<i>Castanea sativa</i>	92,8	9
Brassicaceae	80,0	8
<i>Ranunculus</i> spp.	86,8	7
nicht aufgequollen	73,8	6
<i>Rubus</i> spp.	99,0	6
<i>Taraxacum</i> -Form ⁵	79,8	6
<i>Melampyrum</i> spp.	78,4	5
<i>Parthenocissus</i> spp.	74,0	5
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	64,6	5
<i>Prunus avium</i>	70,4	5
<i>Asparagus officinalis</i>	61,4	4
<i>Fagopyrum esculentum</i>	83,0	4
<i>Hypericum</i> spp.	72,2	4
<i>Aesculus hippocastanum</i>	77,0	3
<i>Begonia</i> spp.	78,6	3
<i>Buddleja</i> spp., <i>Cyclamen</i> spp., <i>Primula</i> spp.*	65,4	3
<i>Gleditsia triacanthos</i>	79,6	3
Apiaceae	70,8	2
<i>Filipendula</i> spp.	79,6	2
<i>Papaver rhoeas</i>	79,2	2
<i>Papaver somniferum</i>	79,6	2
<i>Potentilla</i> spp.	79,6	2
<i>Achillea</i> -Form ¹	63,4	1
<i>Betula</i> spp.	58,2	1
<i>Cyanus segetum</i>	60,0	1
<i>Heracleum</i> sp.	79,6	1
<i>Loranthus europaeus</i>	63,4	1
<i>Pinus</i> sp.	65,4	1

<i>Sambucus</i> sp., <i>Philadelphus coronarius</i> *	72,8	1
<i>Tilia</i> sp.	68,6	1
unbekannt 223361	50,8	1
unbekannt 333311	58,2	1
unbekannt 443221	75,2	1
<i>Zea mays</i> , <i>Triticum aestivum</i>	56,0	1

Legende zu hochgestellten Anmerkungsziffern bei Pollenformen: siehe Tabelle 5.2a.

Eine Übersicht über die Zahl an Proben mit positiven Nachweisen für die einzelnen Pollenformen geben die Abbildungen 5.14a bis 5.14c. Für folgende fünf Pollenformen wurde die größte Zahl an Proben mit positivem Nachweis registriert: *Taraxacum*-Form, *Plantago* spp., *Trifolium repens*-Form, *Ranunculus* spp., Asteraceae (nicht identifizierte) (siehe Abbildung 5.14a).

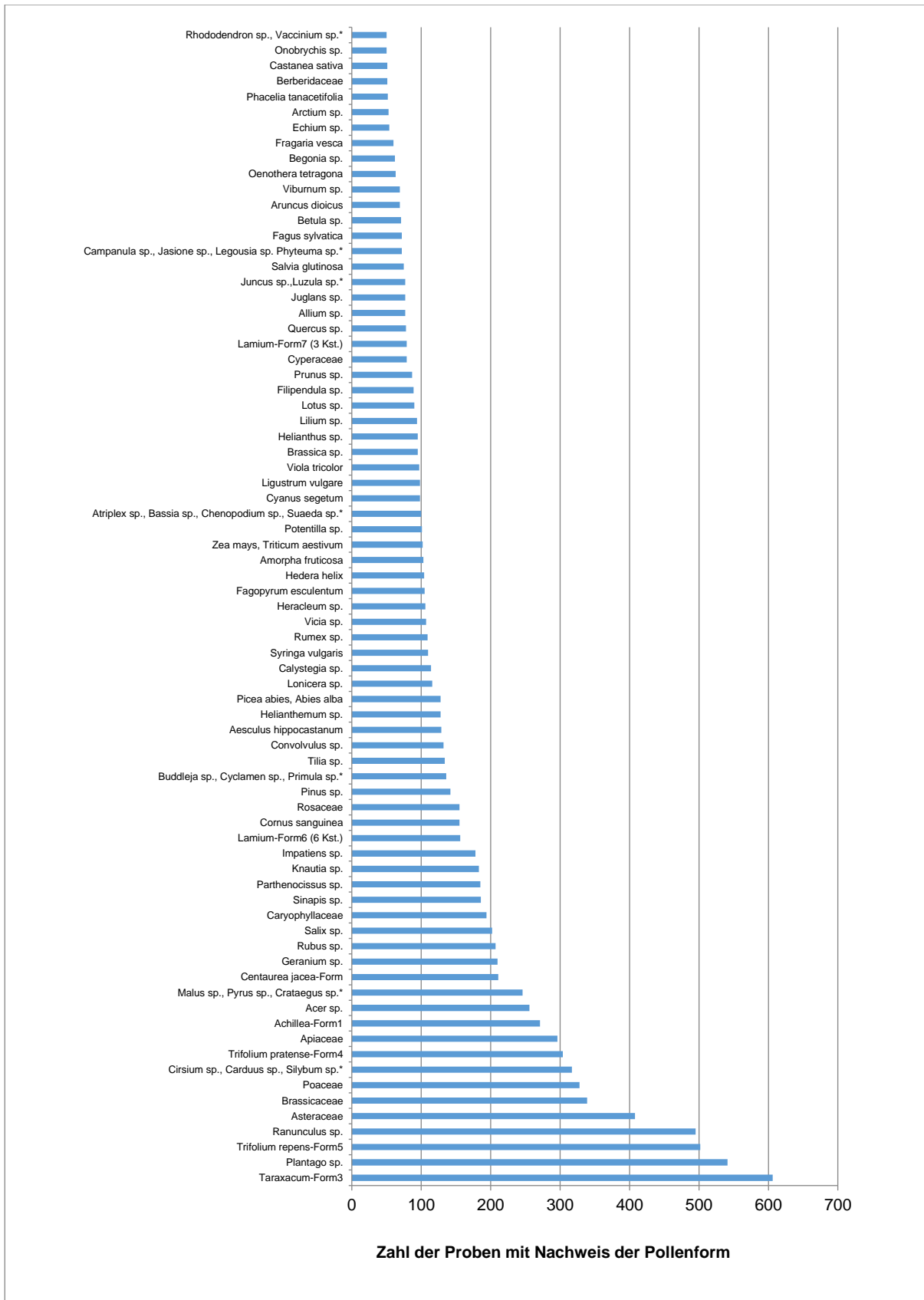


Abbildung 5.14a: Pollenformen mit 50 oder mehr Nachweisen in den Proben aus dem Jahr 2014. (* Pollen dieser Pflanzenarten lassen sich lichtmikroskopisch nicht eindeutig unterscheiden.)

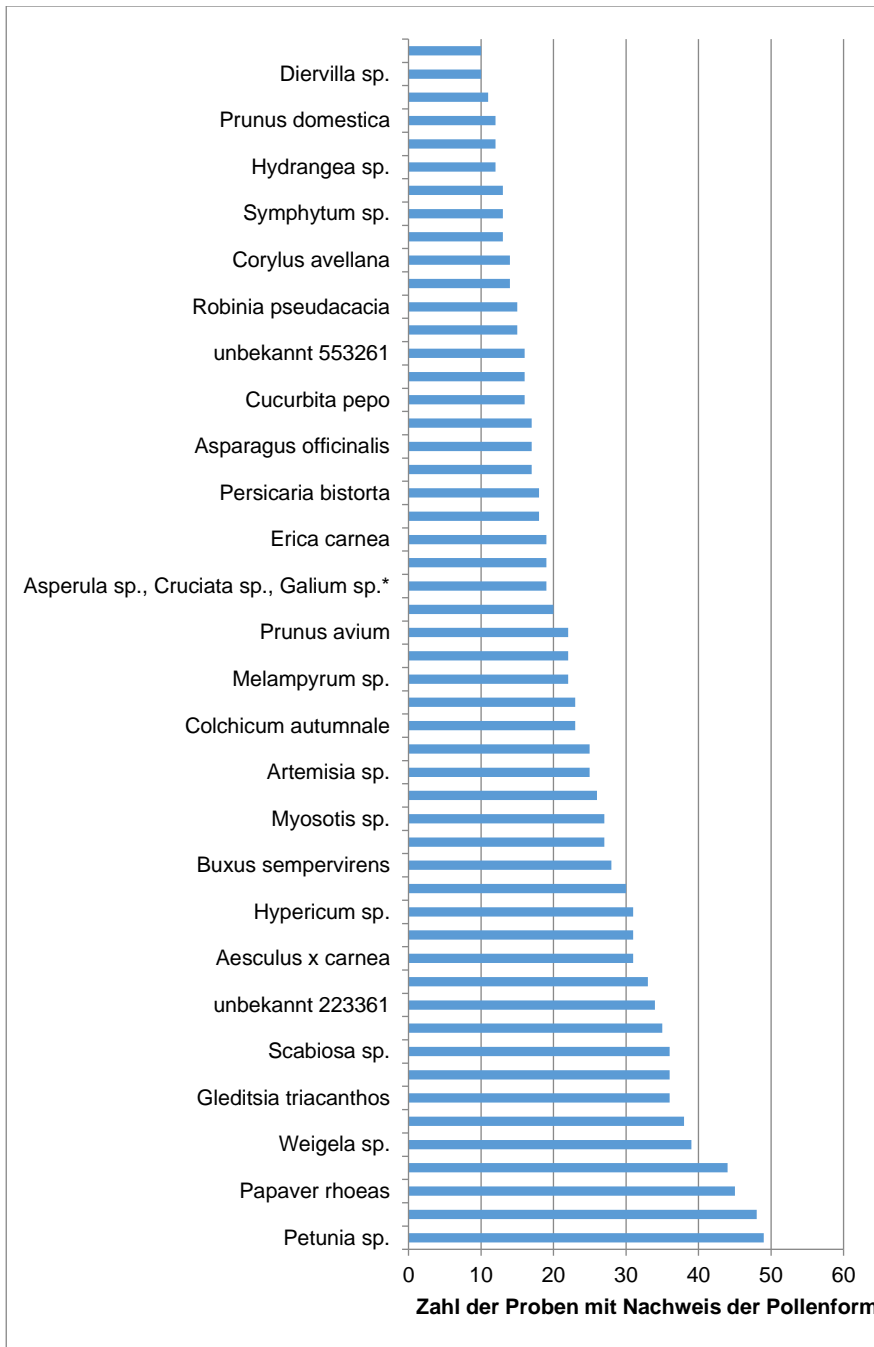


Abbildung 5.14b: Pollenformen mit Nachweishäufigkeiten zwischen 10 und 49 Funden in den Proben aus dem Jahr 2014. (* Pollen dieser Pflanzenarten lassen sich lichtmikroskopisch nicht eindeutig unterscheiden.)

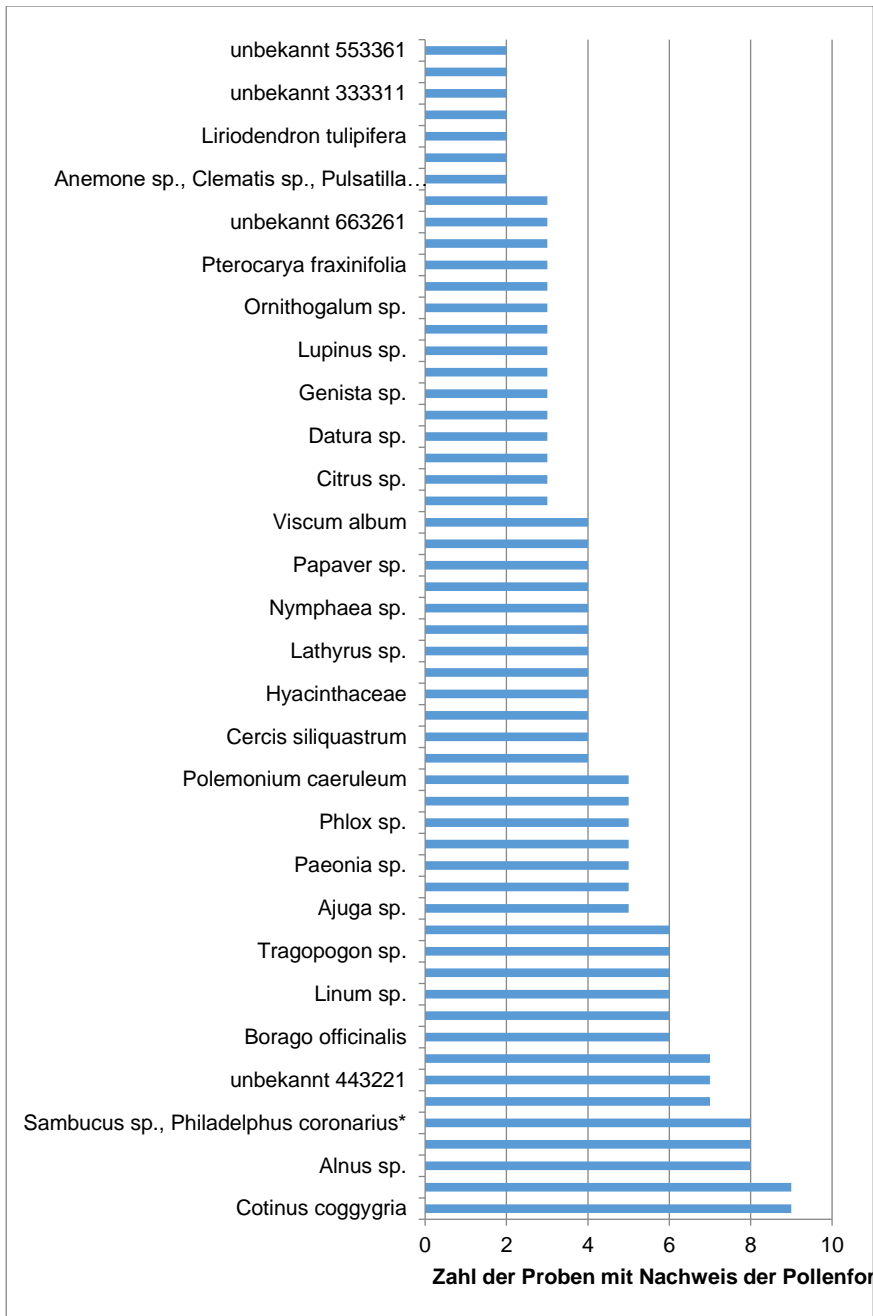


Abbildung 5.14c: Pollenformen mit Nachweishäufigkeiten zwischen 2 und 9 Funden in den Proben aus dem Jahr 2014. (* Pollen dieser Pflanzenarten lassen sich lichtmikroskopisch nicht eindeutig unterscheiden.)

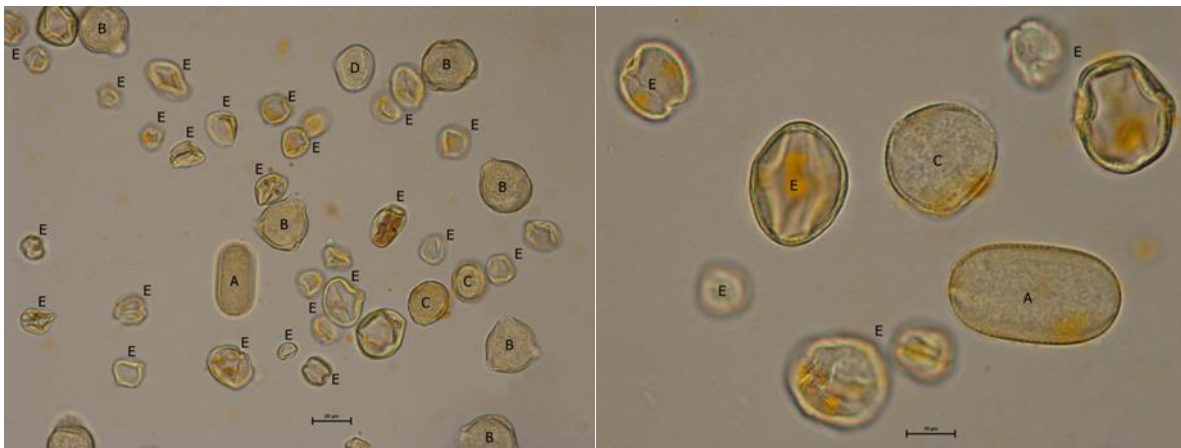


Abbildung 5.15: Beispiel für eine lichtmikroskopische Pollenanalyse. A=*Onobrychis* spp., B=*Prunus* spp., C=*Papaver rhoeas*, D=*Trifolium repens*, E=nicht aufgequollener Pollen.

Versuchsjahr 2015

Im Jahr 2015 erreichten *Acer* spp., *Castanea sativa*, *Hedera helix*, *Hypericum* spp., *Impatiens* spp., *Plantago* spp., *Rubus* spp., *Salix* spp., *Salvia glutinosa*, *Sinapis* spp., *Trifolium repens*-Form, *Vicia* spp. bei Einzelvölkern relative Pollenhäufigkeiten (%) von über 90% (Tab. 5.3a).

Insgesamt wurden in 53,7% der Pollenproben (439 von 818 untersuchten Proben) Pollenformen mit relativen Häufigkeiten >50% gefunden, die sich auf 47 Pollenformen bzw. -gruppen verteilen (Tabelle 5.3b). Die häufigsten Spezies sind ebenfalls in Tabelle 5.3a ersichtlich. Es gab auch in diesem Jahr wieder eine Reihe von Proben, in denen bestimmte Pollenformen nur in Einzelfällen gefunden wurden und relative Häufigkeiten von weniger als 1% erreichten.

Tabelle 5.3a: Mittelwerte und Maxima des relativen Anteils der im Untersuchungsjahr 2015 unterschiedenen 207 Pollenformen (in alphabetischer Reihenfolge). Anzahl positiver Proben für diese Pollenformen und prozentuelle Häufigkeit positiver Nachweise der Pollenformen bezogen auf die im Jahr 2015 insgesamt untersuchte Zahl von 818 Proben. Anmerkungen werden am Ende der Tabelle erklärt.

Spezies	Mittelwert von %-Anteil	Maximum von %-Anteil	Anzahl positiver Proben für diese Pollenform	% positive Proben für diese Pollenform (bezogen auf 818 untersuchte Proben)
<i>Acer</i> spp.	11,9	91,2	183	22,4
<i>Achillea</i> -Form ¹	3,3	51,6	187	22,9
<i>Aesculus hippocastanum</i>	5,2	45,8	105	12,8
<i>Aesculus x carnea</i>	4,2	45,4	18	2,2
<i>Ailanthus altissima</i>	3,1	24,6	22	2,7
<i>Allium</i> spp.	1,1	6,0	78	9,5
<i>Alnus</i> spp.	0,2	0,4	8	1,0
<i>Ambrosia</i> spp.	2,2	9,4	8	1,0
<i>Amorpha fruticosa</i>	3,2	54,6	85	10,4
<i>Anemone</i> spp., <i>Clematis</i> spp., <i>Pulsatilla</i> spp., <i>Ranunculus</i> spp.*	3,9	65,0	418	51,1
Apiaceae	8,5	88,8	247	30,2

<i>Arctium</i> spp.	0,7	6,8	52	6,4
<i>Artemisia</i> spp.	3,7	17,6	26	3,2
<i>Aruncus dioicus</i>	2,8	32,0	46	5,6
<i>Asparagus officinalis</i>	3,8	20,0	14	1,7
<i>Asperula</i> spp., <i>Cruciata</i> spp., <i>Galium</i> spp.*	0,4	0,8	7	0,9
Asteraceae	6,6	82,4	407	49,8
<i>Atriplex</i> spp., <i>Bassia</i> spp., <i>Chenopodium</i> spp., <i>Suaeda</i> spp.*	4,5	60,2	109	13,3
<i>Atropa bella-donna</i>	0,4	1,2	14	1,7
<i>Begonia</i> spp.	3,2	46,0	50	6,1
Berberidaceae	0,7	8,8	60	7,3
<i>Betula</i> spp.	2,1	40,8	29	3,5
Boraginaceae	0,2	0,2	2	0,2
<i>Borago officinalis</i>	8,6	8,6	1	0,1
<i>Brassica</i> spp.	22,5	82,2	80	9,8
Brassicaceae	7,5	79,4	375	45,8
<i>Buddleja</i> spp., <i>Cyclamen</i> spp., <i>Primula</i> spp.*	7,4	66,6	119	14,5
<i>Buxus sempervirens</i>	3,2	22,2	56	6,8
<i>Calluna vulgaris</i>	6,8	64,4	42	5,1
<i>Calystegia</i> spp.	0,2	1,6	85	10,4
<i>Campanula</i> spp., <i>Jasione</i> spp., <i>Legousia</i> spp. <i>Phyteuma</i> spp.*	0,6	4,6	42	5,1
<i>Cannabis sativa</i>	17,4	70,6	11	1,3
<i>Carpinus betulus</i>	0,3	1,0	18	2,2
Caryophyllaceae	0,7	10,0	133	16,3
<i>Castanea sativa</i>	17,3	91,6	55	6,7
<i>Catalpa</i> spp.	0,2	0,2	3	0,4
<i>Centaurea jacea</i> -Form	1,8	26,2	150	18,3
<i>Centaurea scabiosa</i>	0,4	0,4	4	0,5
<i>Cirsium</i> spp., <i>Carduus</i> spp., <i>Silybum</i> spp.*	1,7	48,6	320	39,1
<i>Cistus</i> spp.	0,2	0,2	1	0,1
<i>Clinopodium vulgare</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Colchicum autumnale</i>	0,6	2,8	13	1,6
<i>Colchicum</i> spp.	0,4	2,0	22	2,7
<i>Convolvulus</i> spp.	0,6	24,8	105	12,8
<i>Cornus sanguinea</i>	3,0	37,6	127	15,5
<i>Corylus avellana</i>	0,2	0,2	2	0,2
<i>Cotinus coggygria</i>	22,1	54,6	4	0,5
<i>Crocus</i> spp.	0,3	1,4	13	1,6
<i>Cucurbita pepo</i>	0,2	0,2	14	1,7
Cucurbitaceae	0,3	1,0	13	1,6
<i>Cyanus montanus</i>	0,4	0,4	1	0,1
<i>Cyanus segetum</i>	1,6	18,0	78	9,5
<i>Cyanus triumfetti</i>	1,9	24,0	26	3,2
Cyperaceae	0,7	4,4	72	8,8
<i>Datura</i> spp.	0,6	1,6	4	0,5

<i>Datura stramonium</i>	0,2	0,4	5	0,6
<i>Datura suaveolens</i>	2,0	2,0	1	0,1
<i>Diervilla</i> spp.	1,9	10,6	13	1,6
<i>Echinops sphaerocephalus</i>	0,4	1,2	13	1,6
<i>Echium</i> spp.	1,3	10,4	37	4,5
<i>Elaeagnus angustifolia</i>	1,8	10,0	22	2,7
<i>Epilobium angustifolium</i>	0,3	0,8	17	2,1
<i>Epilobium</i> spp.	0,3	2,0	26	3,2
<i>Erica carnea</i>	1,9	5,2	17	2,1
Ericaceae	1,5	11,6	42	5,1
<i>Euphorbia</i> spp.	2,1	6,0	4	0,5
<i>Fagopyrum esculentum</i>	9,4	80,4	154	18,8
<i>Fagus sylvatica</i>	0,4	1,2	28	3,4
<i>Filipendula</i> spp.	8,3	75,0	71	8,7
<i>Fragaria ananassa</i>	4,1	19,0	14	1,7
<i>Fragaria</i> spp.	3,0	6,6	3	0,4
<i>Fragaria vesca</i>	1,2	11,0	27	3,3
<i>Frangula alnus</i>	1,1	7,4	27	3,3
<i>Fraxinus excelsior</i>	3,7	29,6	39	4,8
<i>Fraxinus ornus</i>	8,2	21,4	14	1,7
<i>Geranium</i> spp.	0,3	1,6	159	19,4
<i>Gleditsia triacanthos</i>	5,8	46,4	62	7,6
<i>Hedera helix</i>	27,1	99,8	75	9,2
<i>Helianthemum</i> spp.	1,5	33,8	114	13,9
<i>Helianthus</i> spp.	2,5	44,4	80	9,8
<i>Helleborus</i> spp.	1,1	5,2	10	1,2
<i>Heracleum</i> spp.	2,7	27,8	83	10,1
<i>Hibiscus</i> spp.	0,2	0,2	2	0,2
<i>Hippocrepis</i> spp.	20,7	49,4	5	0,6
<i>Humulus lupulus</i>	4,0	7,0	2	0,2
Hyacinthaceae	0,3	0,6	20	2,4
<i>Hydrangea</i> spp.	11,0	85,2	26	3,2
<i>Hypericum</i> spp.	25,3	92,4	39	4,8
<i>Ilex aquifolium</i>	0,9	4,0	19	2,3
<i>Impatiens</i> spp.	10,5	93,6	151	18,5
Iridaceae	0,2	0,2	1	0,1
<i>Juglans</i> spp.	1,1	13,2	64	7,8
<i>Juncus</i> spp., <i>Luzula</i> spp.*	3,5	43,8	57	7,0
<i>Juniperus communis</i>	0,8	1,2	2	0,2
<i>Knautia</i> spp.	0,3	1,2	114	13,9
Lamiaceae-Form ² (6 Kst.)	0,6	10,0	142	17,4
Lamiaceae-Form ³ (3 Kst.)	2,5	17,2	48	5,9
<i>Lantana camara</i>	0,2	0,2	2	0,2
<i>Lathyrus</i> spp.	1,7	3,2	3	0,4
<i>Ligustrum vulgare</i>	7,5	73,8	105	12,8
<i>Lilium</i> spp.	0,6	6,8	75	9,2
<i>Linum</i> spp.	0,2	0,2	3	0,4

<i>Liriodendron tulipifera</i>	1,7	43,6	36	4,4
<i>Lonicera</i> spp.	0,8	11,2	78	9,5
<i>Loranthus europaeus</i>	4,3	10,2	10	1,2
<i>Lotus</i> spp.	1,6	22,8	63	7,7
<i>Lunaria rediviva</i>	4,0	10,4	3	0,4
<i>Lysimachia</i> spp.	1,9	15,8	79	9,7
<i>Lythrum salicaria</i>	4,7	86,0	47	5,7
<i>Macleaya cordata</i>	1,4	1,4	1	0,1
<i>Malus</i> spp., <i>Pyrus</i> spp., <i>Crataegus</i> spp.*	20,7	79,0	199	24,3
Malven-Form ⁴	0,2	0,4	32	3,9
<i>Medicago</i> spp.	19,8	54,2	5	0,6
<i>Melampyrum</i> spp.	14,9	90,0	35	4,3
<i>Muscari</i> spp.	0,6	1,8	18	2,2
<i>Myosotis</i> spp.	3,3	21,2	21	2,6
nicht aufgequollen	13,9	40,6	23	2,8
<i>Nymphaea</i> spp.	0,2	0,2	2	0,2
<i>Ocimum basilicum</i>	0,2	0,6	44	5,4
<i>Oenothera tetragona</i>	0,2	0,4	60	7,3
<i>Onobrychis</i> spp.	4,3	26,4	22	2,7
<i>Onopordum</i> spp.	0,2	0,2	1	0,1
<i>Pachysandra terminalis</i>	0,3	0,4	3	0,4
<i>Papaver rhoeas</i>	13,3	57,2	16	2,0
<i>Papaver somniferum</i>	25,4	43,6	6	0,7
<i>Papaver</i> spp.	12,0	56,2	6	0,7
<i>Parthenocissus</i> spp.	10,0	86,0	214	26,2
<i>Passiflora</i> spp.	0,2	0,2	3	0,4
<i>Persicaria bistorta</i>	0,2	0,6	17	2,1
<i>Persicaria maculosa</i>	0,3	1,6	23	2,8
<i>Petasites</i> spp.	0,9	3,4	19	2,3
<i>Petunia</i> spp.	7,1	59,4	70	8,6
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	20,2	87,4	74	9,0
<i>Phlox</i> spp.	0,2	0,2	1	0,1
<i>Physocarpus monogynus</i>	20,6	88,4	14	1,7
<i>Picea abies</i> , <i>Abies alba</i>	0,2	1,0	142	17,4
<i>Pinus</i> spp.	0,3	4,2	156	19,1
<i>Plantago</i> spp.	14,4	99,0	567	69,3
<i>Platanus acerifolia</i>	1,1	4,0	11	1,3
Poaceae	2,0	59,0	329	40,2
<i>Polemonium caeruleum</i>	0,2	0,2	6	0,7
<i>Populus</i> spp.	1,3	2,8	3	0,4
<i>Potentilla</i> spp.	2,3	28,2	65	7,9
<i>Primula acaulis</i> , <i>P. elatior</i> , <i>P. veris</i>	0,4	0,8	5	0,6
<i>Prunus domestica</i>	1,3	5,8	51	6,2
<i>Prunus padus</i>	27,5	64,4	9	1,1
<i>Prunus</i> spp.	12,9	83,4	131	16,0
<i>Pterocarya fraxinifolia</i>	4,9	7,2	3	0,4

<i>Pulmonaria</i> spp.	0,4	0,4	1	0,1
<i>Quercus</i> spp.	2,1	22,2	27	3,3
<i>Rhamnus</i> spp.	5,8	32,8	26	3,2
<i>Rhododendron</i> spp., <i>Vaccinium</i> spp.*	2,6	12,2	18	2,2
<i>Robinia pseudacacia</i>	7,2	88,2	36	4,4
Rosaceae	5,1	39,2	102	12,5
Rubiaceae	4,2	8,2	5	0,6
<i>Rubus</i> spp.	9,7	93,8	217	26,5
<i>Rumex</i> spp.	1,0	9,6	86	10,5
<i>Salix</i> spp.	32,6	99,8	151	18,5
<i>Salvia glutinosa</i>	20,5	91,6	65	7,9
<i>Sambucus nigra</i>	13,2	13,2	1	0,1
<i>Sambucus</i> spp., <i>Philadelphus coronarius</i> *	3,0	14,4	8	1,0
<i>Sanguisorba officinalis</i>	0,2	0,2	1	0,1
<i>Scabiosa</i> spp.	0,2	0,6	19	2,3
<i>Scilla</i> spp.	1,8	3,2	3	0,4
<i>Sedum</i> spp.	0,2	0,2	1	0,1
<i>Sida hermaphrodita</i>	0,7	1,8	5	0,6
<i>Sinapis</i> spp.	23,2	99,2	114	13,9
<i>Solanum</i> spp.	5,8	13,8	4	0,5
<i>Soldanella</i> spp.	14,9	25,6	3	0,4
<i>Symphytum</i> spp.	0,3	0,8	6	0,7
<i>Syringa vulgaris</i>	3,0	33,2	86	10,5
<i>Taraxacum</i> -Form3	4,3	76,0	598	73,1
<i>Taxus baccata</i>	0,4	0,8	3	0,4
<i>Thuja</i> spp.	0,3	0,6	4	0,5
<i>Tilia</i> spp.	1,1	47,8	103	12,6
<i>Tragopogon</i> spp.	1,1	2,4	3	0,4
<i>Trifolium pratense</i> -Form ⁶	5,6	65,6	299	36,6
<i>Trifolium repens</i> -Form ⁷	17,2	93,6	499	61,0
<i>Ulmus</i> spp.	14,8	14,8	1	0,1
unbekannt	1,8	18,0	654	80,0
unbekannt 223311	12,3	32,4	9	1,1
unbekannt 223321	0,2	0,2	1	0,1
unbekannt 223351	19,5	27,4	2	0,2
unbekannt 223361	5,8	36,0	30	3,7
unbekannt 333311	14,6	26,2	5	0,6
unbekannt 333361	14,2	61,6	29	3,5
unbekannt 443251	28,5	41,2	4	0,5
unbekannt 443261	26,5	85,0	4	0,5
unbekannt 443311	9,0	32,6	12	1,5
unbekannt 443321	5,5	16,2	3	0,4
unbekannt 443361	3,8	13,0	7	0,9
unbekannt 553251	3,6	13,0	4	0,5
unbekannt 553321	10,6	10,6	1	0,1
unbekannt 553361	2,1	10,0	7	0,9

unbekannt 663311	15,0	15,0	1	0,1
unbekannt 663361	10,9	16,4	2	0,2
<i>Urtica</i> spp., <i>Parietaria</i> spp.	0,4	0,6	3	0,4
<i>Valeriana</i> spp.	1,1	5,0	8	1,0
<i>Verbascum</i> spp.	15,6	28,6	5	0,6
<i>Viburnum</i> spp.	1,6	16,6	60	7,3
<i>Vicia</i> spp.	19,4	98,8	59	7,2
<i>Vinca</i> spp.	0,2	0,2	1	0,1
<i>Viola tricolor</i>	0,3	1,2	68	8,3
<i>Viscum album</i>	0,6	3,4	14	1,7
<i>Vitis vinifera</i>	17,4	68,8	9	1,1
<i>Weigela</i> spp.	0,3	1,2	25	3,1
<i>Zea mays</i> , <i>Triticum aestivum</i>	2,0	42,8	93	11,4
Gesamtergebnis	6,5	99,8	12540	

Legende zu hochgestellten Anmerkungsziffern bei Pollenformen: siehe Tabelle 5.2a.

Tabelle 5.3b: Anzahl an Proben aus dem Jahr 2015, in denen Pollenformen mit einem relativen Anteil >50% aufgetreten sind, in absteigender Reihenfolge (Gesamtzahl untersuchter Proben: 818).

Pollenform (Spezies)	Maximale relative Häufigkeit %	Anzahl Proben 2015 mit >50 % dieser Species
<i>Trifolium repens</i> -Form ⁷	93,6	56
<i>Plantago</i> spp.	99,0	51
<i>Salix</i> spp.	99,8	48
<i>Malus</i> spp., <i>Pyrus</i> spp., <i>Crataegus</i> spp.*	79,0	35
<i>Sinapis</i> spp.	99,2	25
<i>Hedera helix</i>	99,8	16
<i>Parthenocissus</i> spp.	86,0	16
<i>Phacelia tanacetifolia</i>	87,4	16
Asteraceae	82,4	13
<i>Salvia glutinosa</i>	91,6	13
<i>Brassica</i> spp.	82,2	12
Brassicaceae	79,4	10
<i>Impatiens</i> spp.	93,6	10
<i>Fagopyrum esculentum</i>	80,4	9
<i>Castanea sativa</i>	91,6	8
<i>Hypericum</i> spp.	92,4	8
<i>Taraxacum</i> -Form ⁵	76,0	8
<i>Vicia</i> spp.	98,8	8
<i>Acer</i> spp.	91,2	7
Apiaceae	88,8	6
<i>Ligustrum vulgare</i>	73,8	6
<i>Prunus</i> spp.	83,4	5
<i>Buddleja</i> spp., <i>Cyclamen</i> spp., <i>Primula</i> spp.*	66,6	4
<i>Filipendula</i> spp.	75,0	4
<i>Melampyrum</i> spp.	90,0	4

<i>Rubus</i> spp.	93,8	4
<i>Trifolium pratense</i> -Form ⁶	65,6	4
<i>Atriplex</i> spp., <i>Bassia</i> spp., <i>Chenopodium</i> spp., <i>Suaeda</i> spp.*	60,2	3
<i>Lythrum salicaria</i>	86,0	3
Poaceae	59,0	3
unbekannt 333361	61,6	3
<i>Anemone</i> spp., <i>Clematis</i> spp., <i>Pulsatilla</i> spp., <i>Ranunculus</i> spp.*	65,0	2
<i>Calluna vulgaris</i>	64,4	2
<i>Cannabis sativa</i>	70,6	2
<i>Physocarpus monogynus</i>	88,4	2
<i>Robinia pseudacacia</i>	88,2	2
<i>Achillea</i> -Form ¹	51,6	1
<i>Amorpha fruticosa</i>	54,6	1
<i>Cotinus coggygria</i>	54,6	1
<i>Hydrangea</i> spp.	85,2	1
<i>Medicago</i> spp.	54,2	1
<i>Papaver rhoeas</i>	57,2	1
<i>Papaver</i> spp.	56,2	1
<i>Petunia</i> spp.	59,4	1
<i>Prunus padus</i>	64,4	1
unbekannt 443261	85,0	1
<i>Vitis vinifera</i>	68,8	1

Legende zu hochgestellten Anmerkungsziffern bei Pollenformen: siehe Tabelle 5.2a.

Eine Übersicht über die Zahl an Proben mit positiven Nachweisen für die einzelnen Pollenformen geben die Abbildungen 5.15a bis 5.15c. Für folgende fünf Pollenformen wurde die größte Zahl an Proben mit positivem Nachweis registriert: *Taraxacum*-Form, *Plantago* spp., *Trifolium repens*-Form, *Ranunculus* spp., Asteraceae (nicht identifizierte) (siehe Abbildung 5.15a).

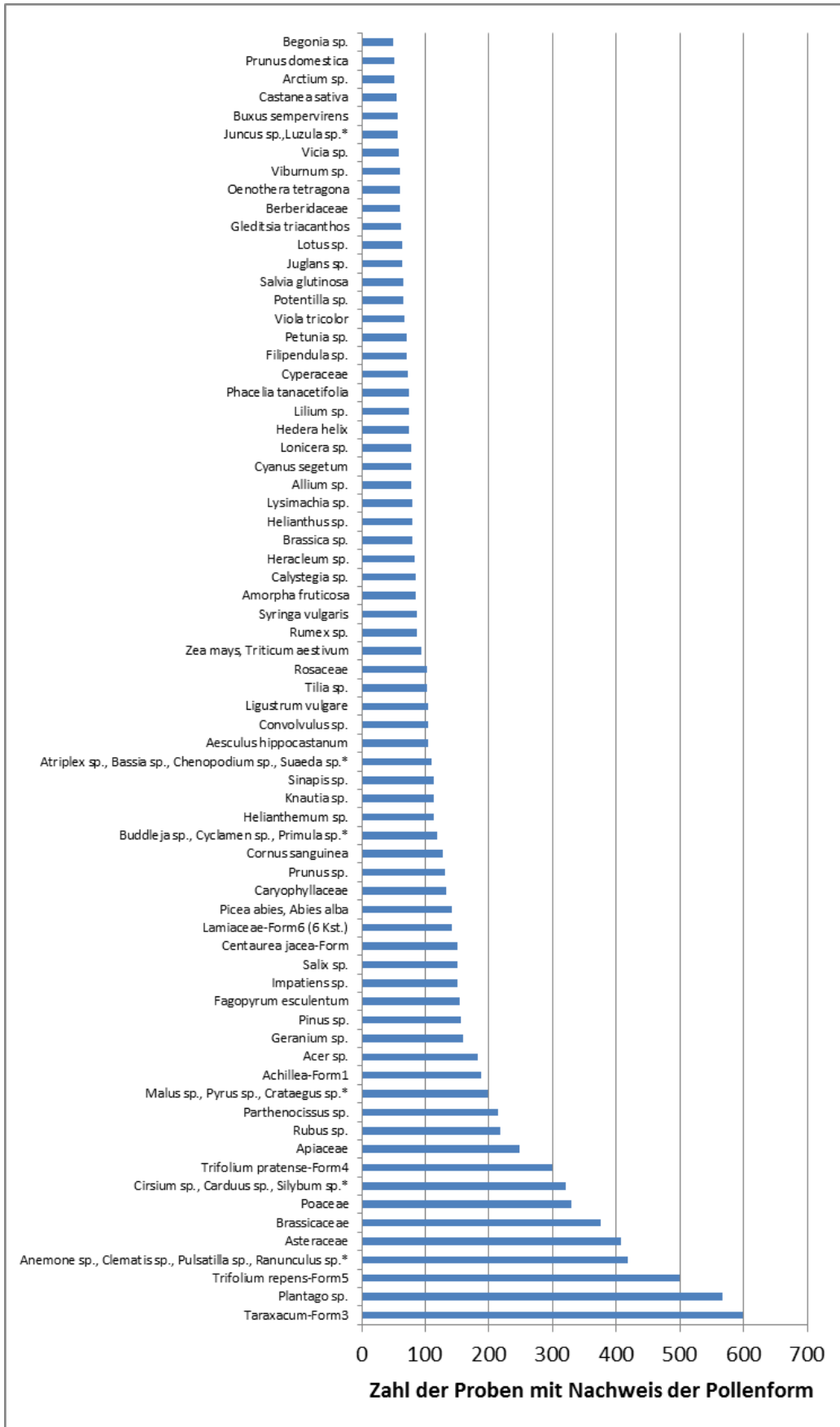


Abbildung 5.15a: Pollenformen mit 50 oder mehr Nachweisen in den Proben aus dem Jahr 2015. (* Pollen dieser Pflanzenarten lassen sich lichtmikroskopisch nicht eindeutig unterscheiden.)

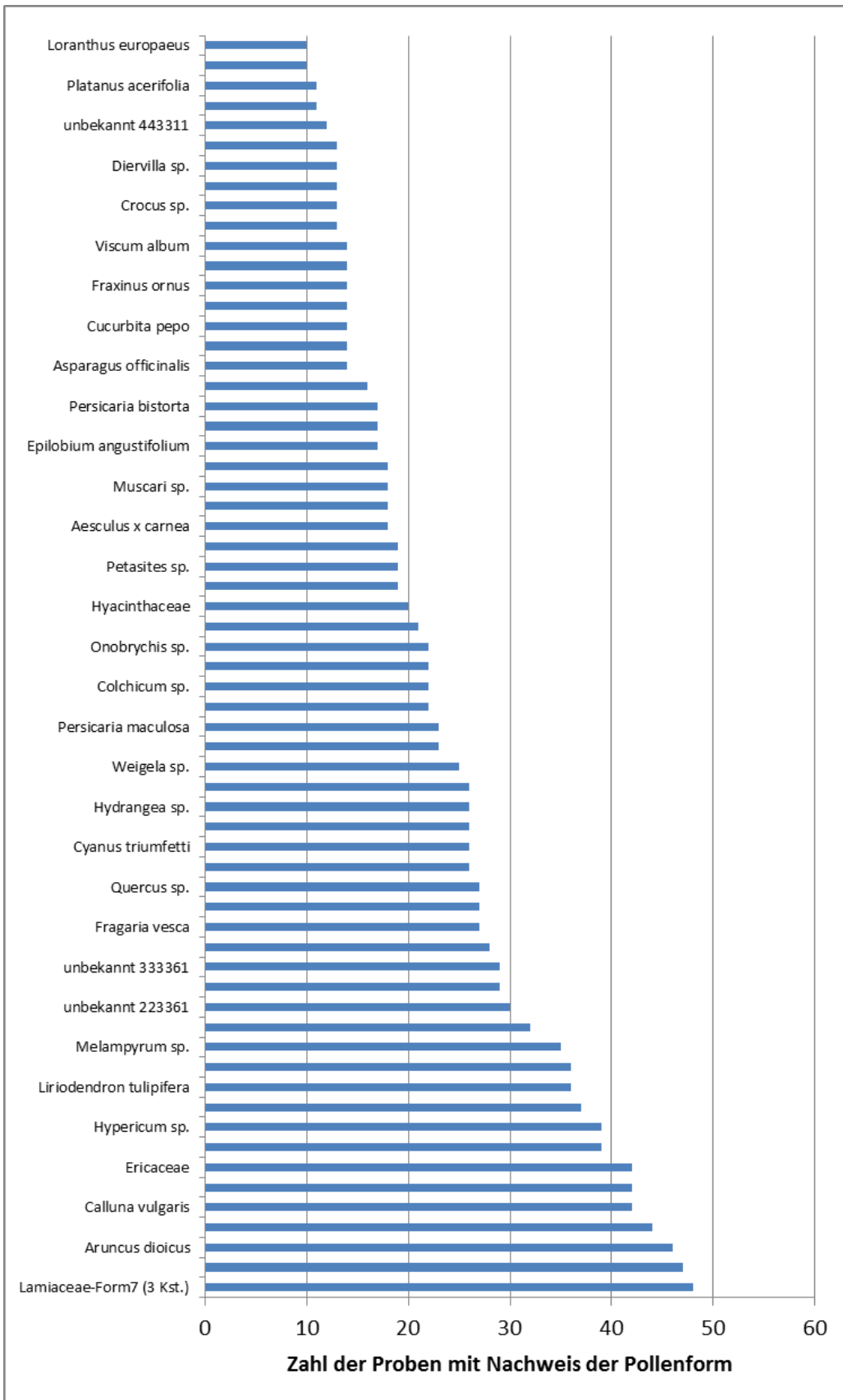


Abbildung 5.15b: Pollenformen mit Nachweishäufigkeiten zwischen 10 und 49 Funden in den Proben aus dem Jahr 2015. (* Pollen dieser Pflanzenarten lassen sich lichtmikroskopisch nicht eindeutig unterscheiden.)

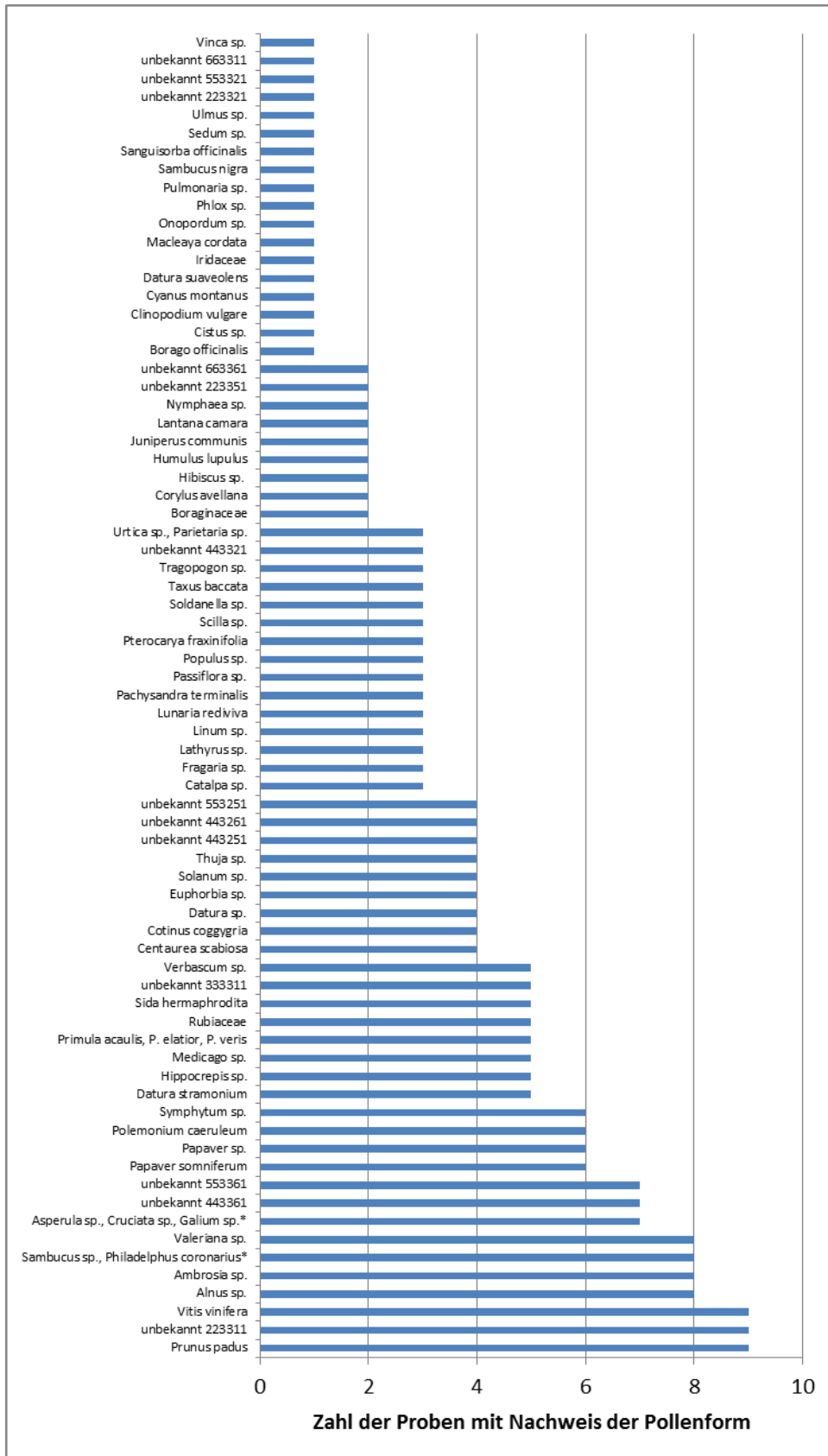


Abbildung 5.15c: Pollenformen mit Nachweishäufigkeiten zwischen 1 und 9 Funden in den Proben aus dem Jahr 2015. (* Pollen dieser Pflanzenarten lassen sich lichtmikroskopisch nicht eindeutig unterscheiden.)

5.3.2 Stadt-Land-Vergleich von zwei Standorten anhand ihres Pollenspektrums

Wie aus den in Tabelle 5.4 und Abbildung 5.16 gezeigten Beispielen hervorgeht, lassen sich mit dieser Methode sowohl standortbedingte Vegetationsunterschiede als auch die phänologischen Blühabfolgen (diese entsprechen den 9 Probenahmeterminen) an Hand ausgewählter Pollenformen darstellen. Exemplarisch verglichen wurden der Standort Graz (Stadtgebiet im Universitätsviertel) und der Standort Thunau/Kamp (NÖ, Ackerbaugesamt) mit Hilfe ausgewählter Pollenformen, die typisch für das Stadtgebiet bzw. ein Ackerbaugesamt sind.

Beispielsweise hatte *Aesculus hippocastanum* (Rosskastanie) im Stadtgebiet von Graz einen hohen relativen Anteil am Pollensammelgut im Frühjahr, während sie in Thunau zu denselben Zeitpunkten zwar gefunden wurde, aber nur gering vertreten war. Auch die Edelkastanie (*Castanea sativa*) und der Tulpenbaum (*Liriodendron tulipifera*, ein typischer Parkbaum) kommen in diesem Zweiervergleich nur am Standort Stadt Graz vor. Umgekehrt war es bei Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*), der in Thunau eine beträchtliche relative Pollenhäufigkeit erreichte, aber in der Stadt Graz komplett fehlte.

Tabelle 5.4: Stadt-Land-Vergleich von zwei Standorten an Hand ausgewählter, standorttypischer Pollenformen. Dargestellt ist Mittelwert (MW) von %-Anteil der Pollenformen pro Sammeltermin bzw. pro Bienenstand.

Pollenform	Graz (Stadt)									MW	Thunau / Kamp (Ackerland)									MW
	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9		2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9	
<i>Acer</i> spp.	5,2	22,9	7,5							11,8	1,1	0,9	8,9						4,0	
<i>Aesculus hippocastanum</i>	1,2	17,2	42,8							20,4		5,4	1,9						4,0	
<i>Anemone</i> spp., <i>Clematis</i> spp., <i>Pulsatilla</i> spp., <i>Ranunculus</i> spp.*			12,4							12,4										
<i>Artemisia</i> spp.																12,2			12,2	
<i>Aruncus dioicus</i>				18,2						18,2			0,4	0,4					0,4	
Asteraceae				0,3	0,3	2,0	0,5	27,0	0,6	5,0						0,4		6,2	3,3	
<i>Begonia</i> spp.						1,4	20,8	7,5	14,5	12,8										
<i>Brassica</i> spp.												24,5	8,6	0,2					15,2	
<i>Buddleja</i> spp., <i>Cyclamen</i> spp., <i>Primula</i> spp.*						10,5	7,3	2,6		7,3			0,2						0,2	
<i>Castanea sativa</i>				56,5	90,6	4,8				63,7										
<i>Fagopyrum esculentum</i>													0,2		1,5	31,7	5,1	47,3	19,0	
<i>Gleditsia triacanthos</i>			4,2			0,5				2,4										
<i>Hedera helix</i>							0,5	81,3		40,9								35,5	35,5	
<i>Hydrangea</i> spp.						23,8				23,8										
Lamium-Form ⁷ (3 Kst.)			5,4							5,4										
<i>Liriodendron tulipifera</i>			8,3	3,1	0,3	0,2				3,9										
<i>Malus</i> spp., <i>Pyrus</i> spp., <i>Crataegus</i> spp.*	9,0	30,5	1,2							13,6	6,9	12,6	5,7						8,4	
<i>Papaver rhoeas</i>												8,0	1,6						4,8	
<i>Parthenocissus</i> spp.						15,5	0,4	0,8		8,0				0,2					0,2	
<i>Phacelia tanacetifolia</i>												0,4		41,0					20,7	
<i>Physocarpus monogyna</i>			44,0							44,0										
<i>Plantago</i> spp.				0,5	0,3	11,3	35,1	44,3	1,2	17,2			0,5		8,9	1,5	0,2		3,1	
<i>Prunus avium</i>	52,8									52,8										
<i>Prunus domestica</i>	4,7									4,7										

Tabelle 5.4: (Fortsetzung)

Pollenform	Graz (Stadt)										Thunau / Kamp (Ackerland)										
	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9	MW	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9	MW	
<i>Prunus</i> spp.											63,3	3,2	0,2								38,6
<i>Quercus</i> spp.	1,9	1,2								1,5		40,7	0,2								24,5
<i>Ranunculus</i> spp.	0,3	2,8	1,8	1,5	0,2	4,0	11,3	6,4	7,9	4,8	0,4		1,5		0,2						1,0
<i>Salix</i> spp.	4,3	0,2	0,8							2,8	27,0										27,0
<i>Sinapis</i> spp.		1,5		0,6						1,3		0,7	28,5	25,3	55,5				26,2		29,6
<i>Trifolium pratense</i> -Form ⁶					0,2		11,2	9,0	0,5	6,2				1,3		60,4	34,3	91,2	0,6		37,6
<i>Trifolium repens</i> -Form ⁷			0,2	0,6	2,1	36,0	8,7	6,9	0,4	9,1			6,1	20,6	1,5	3,6	2,0	0,4			6,9
unbekannt (553361)			11,5							11,5											
unbekannt 223361														0,2	7,0	37,0	17,2	1,2			11,4
<i>Vicia</i> spp.														30,1	0,2				0,2		18,2

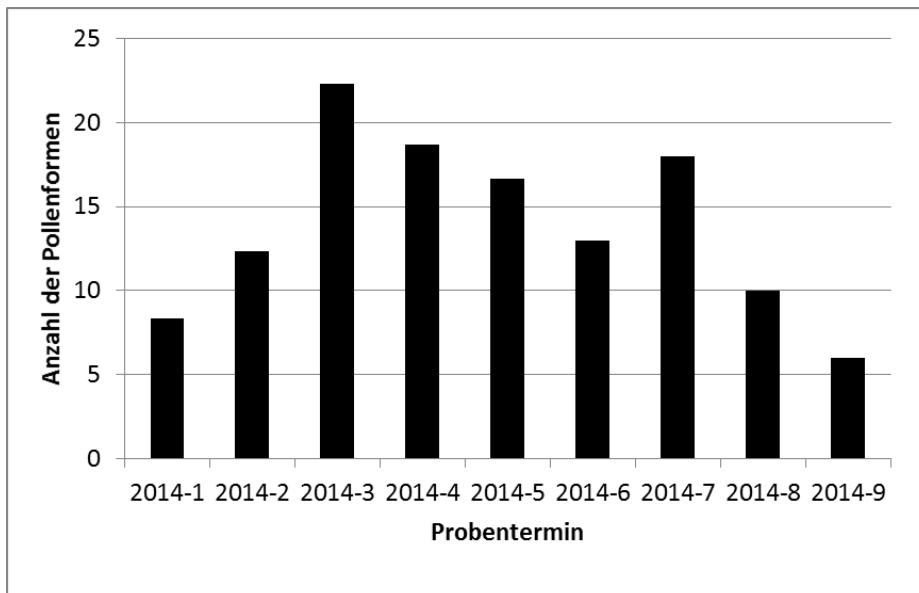
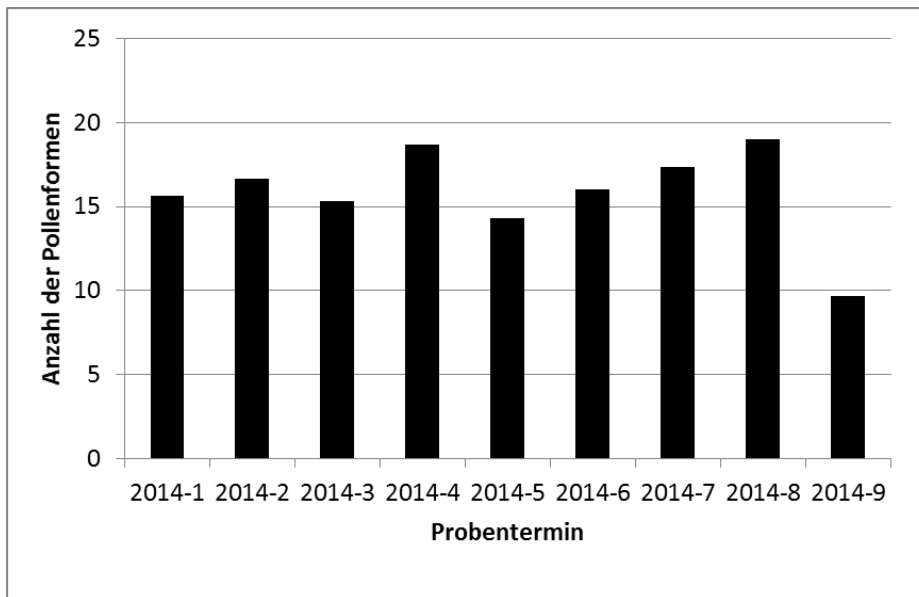


Abbildung 5.16: Mittlere Anzahl von jeweils 3 Völkern der in der lichtmikroskopischen Untersuchung gefundenen Pollenformen am Standort Stadt (Graz, oben) und Land (Thunau am Kamp, unten).

5.3.3 Vergleich von Standorten hinsichtlich der Phänologie und relativen Häufigkeit ausgewählter wichtiger Pollenformen

Für diesen Vergleich wurden im Jahr 2014 12 Standorte und im Jahr 2015 6 Standorte mit jeweils vollständigen Proben aller 9 Sammeltermine von je 3 Bienenvölkern ausgewählt. Bei den anderen Standorten fehlten teilweise Werte von Einzelvölkern oder von einzelnen Sammelterminen. Meist waren schlechte Wetterbedingungen (vor allem beim April-Termin 2015), Probleme mit der Pollenfalle oder Zeitmangel der freiwilligen ProbennehmerInnen die Ursache für diese Datenlücken.

Wie die Tabellen 5.5a und b beispielhaft für die Jahre 2014 und 2015 zeigen, bestanden sowohl hinsichtlich der relativen Häufigkeiten ausgewählter Pollenformen als auch der phänologischen Abfolge zum Teil große Unterschiede zwischen den Standorten. Diese spiegeln einerseits die unterschiedliche Florenzusammensetzung im Flugkreis des Bienenstandes und andererseits die unterschiedlichen klimatischen Bedingungen wider, die sich in der phänologischen Abfolge der gleichen Pollenformen auf den Einzelstandorten zeigen.

Tabelle 5.5a: Vergleich von 12 Standorten mit vollständigen Datensätzen hinsichtlich phänologischer Abfolge und relativer Häufigkeiten (%) ausgewählter häufiger und interessanter Bienenweidepflanzen im Jahr 2014.

Stand	Sampling	Acer spp.	Aesculus hippocastanum	Asparagus officinalis	Brassica spp.	Castanea sativa	Cucurbita pepo	Fagopyrum esculentum	Helianthus spp.	Impatiens spp.	Malus spp., Pyrus spp., Crataegus spp.*	Parthenocissus spp.	Phacelia tanacetifolia	Plantago spp.	Prunus avium	Prunus domestica	Prunus padus	Prunus persica	Prunus spp.	Quercus spp.	Ranunculus spp.	Robinia pseudacacia	Rubus spp.	Salix spp.	Sinapis spp.	Taraxacum-Form3	Tilia spp.	Trifolium pratense-Form4	Trifolium repens-Form5	Zea mays, Triticum aestivum	
1	2014-1		1,4		16						10								46	0,3			0,2	21	0,2	6,6					
	2014-2	1,9	5,5		64						5,4								0,2		3,1				0,6	0,2					
	2014-3		0,2		0,2									0,8						17			6	0,6	0,3	0,2				0,5	
	2014-4					8,4		0,4			0,3									0,9			2,6			80	0,2		0,3	2	
	2014-5			40	3,6		0,2	2,4				1,3	0,4	3,8								17				15	1,4	0,4		0,5	
	2014-6				35	0,2		0,4	5,7	1,4	0,4			1,3								4,1			0,2	5,1	0,6			3,8	
	2014-7						0,2	1,2		1	1,3			3,7								10				19	2,4			3,7	0,2
	2014-8								0,6	0,2	0,4			1,1								1,8				67	0,6			1,1	
	2014-9								0,4	0,2																37	0,4				
MW 1		1,9	3,6	37	22	8,4	0,3	2,1	1	0,9	6	8,9	0,4	3,5					21	0,3	7,6		2,9	11	30	1,7	0,4	0,3	2	0,2	
2	2014-1				1,5						11								46					38		1,7					
	2014-2	2,1	33		27						13								0,2	0,6	5,5			0,2	4,4	1					
	2014-3	6	2,2		0,2						2,1		1,2	0,4					0,2		3,4	14		1,4	12				3,2		
	2014-4							1,6					1,9												1,9		0,2	11	0,9		

	2014-5			37				5,4	0,3			0,3	30	1,1								1				25	0,2	0,6	0,2	3,2						
	2014-6			1,4				2,8	29			5	0,5	2,9								3,6				2,7	1		1,3	6,7	0,2					
	2014-7			9	0,2			2,9	0,3	5,3		0,3	4,2	0,4								1,7				17	0,3			0,3						
	2014-8			1,9				5	0,4	2,6			40	1								2,7				25	0,3			1,2						
	2014-9			1,6				3,3					33	0,4								8,6				4,7			0,4	0,6						
MW 2		4,4	18	10	11			3,3	11	4,2	8,9	1,1	20	1,1								27	0,6	3,2	14		19	12	0,8	0,5	4,5	2,6	0,2			
	2014-1	5,2	1,2								9				53	4,7	4,1	0,8				1,9	0,3			4,3		3,5								
	2014-2	23	17								31											1,2	2,8			5,6	0,2	1,5	0,9							
	2014-3	7,5	43								1,2											1,8	1,4			0,8						0,2				
	2014-4					57							0,5									1,5				0,6	0,5	0,5		0,6						
	2014-5					91							0,3									0,2		1,8			0,2	0,5	0,2	2,1						
	2014-6					4,8	0,2			0,6		16	11									4					1,4	0,2		36	0,2					
	2014-7									1,4		0,4	35									11					1,2		11	8,7	0,4					
	2014-8									0,3	0,3		0,8	44								6,4					0,9		9	6,9						
	2014-9												1,2									7,9					0,2		0,5	0,4						
MW 3		12	20			64	0,2		0,3	0,7	14	8	17	53	4,7	4,1	0,8				1,5	4,8	1,4	3,3	2,8	1,3	1,3	0,5	6,2	9,1	0,3					
	2014-1	7,3	1,3			1,8					12			56	0,4											3,1		15								
	2014-2	3,8	43			38					7,5			0,4								3,3					0,7									
	2014-3	1	0,2			0,7					4,7		2,1			0,2						0,6			1,4		0,9		0,6	1,7						
	2014-4					20					4,5	0,6	0,6		1,2							1,2				44	0,2	0,9	0,7	2,3						
	2014-5					1,5						0,8	2,3									2,1	19	1,6	2	5,5		9,9								
	2014-6											11	3,7									3,4		0,2		4,2	0,2	6,1	19							
	2014-7							7,1	0,2			0,6	3,8									1,2	1,2		9,8	2	0,2	0,9	12							
	2014-8							0,7	0,6			1,3	52	4,9								0,3				1,4	2,6		0,5	2,1						
	2014-9					0,2						2,2										8,6				11	0,2			1,2						
MW 4		4	22			17	6,1	3,9	0,4	7,1	3,6	26	2,9	42	0,4	0,7						2,6	12	2,7	16	3,5	2,2	2	7,5							
	2014-1																					1,3			36											
	2014-2	1,1									1,7					0,3						15	4,3			55		7,7								

Tabelle 5.5b: Vergleich von 6 Standorten mit vollständigen Datensätzen hinsichtlich phänologischer Abfolge und relativer Häufigkeiten (%-MW) ausgewählter häufiger und interessanter Bienenweidepflanzen im Jahr 2015.

Stand	Sampling	Pollenform (Mittelwert von %-Anteil) nach Sammeltermin																									
		Acer spp.	Aesculus hippocastanum	Asparagus officinalis	Brassica spp.	Castanea sativa	Cucurbita pepo	Fagopyrum esculentum	Helianthus spp.	Impatiens spp.	Malus spp., Pyrus spp., Crataegus spp.*	Parthenocissus spp.	Phacelia tanacetifolia	Plantago spp.	Prunus domestica	Prunus spp.	Quercus spp.	Robinia pseudacacia	Rubus spp.	Salix spp.	Sinapis spp.	Taraxacum-Form ⁵	Tilia spp.	Trifolium pratense-Form ⁶	Trifolium repens-Form ⁷	Zea mays, Triticum aestivum	
AG	2015-1														58,6				15,4		0,8						
	2015-2	7,9	0,2		27,1					15,6				1,1	32,7				5,9		7,1						
	2015-3	13,1	1,4		14,6					2,8		0,4	1,0		0,2		1,2	1,4			0,2			3,0			
	2015-4	1,6		0,8									0,5					5,5	0,2	0,2		0,8	0,6				
	2015-5				3,2				0,2			20,3	40,3	1,3				0,4				0,5	1,3	0,5	0,4		
	2015-6							0,2	3,2			44,3		1,8								0,3				1,2	0,2
	2015-7							0,2		0,6		7,7		4,5							0,2					1,0	0,2
	2015-8				0,2				0,2	0,4		6,5	0,4	1,2							1,0	0,7				1,4	0,2
	2015-9								0,4	0,2	0,2				0,2						66,1	0,5			0,5		
BW	2015-1													0,2						74,7		1,5					
	2015-2									9,9					0,8	20,2				63,5		2,8					
	2015-3	0,6	19,7		2,6						13,7			1,0	0,2				22,9			7,7	0,6	5,1	2,3		
	2015-4				0,4									0,6					10,7		18,7	0,5	0,2	2,3	28,3		
	2015-5					1,7		0,2				1,7		20,9					16,5		4,1	0,6		0,3	46,1		

	2015-6				0,9			1,0		0,2				3,9						0,2		6,5	50,2	3,3	
	2015-7									0,4				2,2					0,3	0,2		3,1	2,7	0,7	
	2015-8						0,2	0,2	1,2					4,7					83,8	0,7			1,7		
	2015-9						0,2		0,3				5,4						94,3	0,2			2,7		
BR	2015-1									10,0				0,2	10,1				60,3		0,4				
	2015-2	9,1	2,9							49,1				0,2	21,1				0,8		3,1				
	2015-3	16,5	38,8							4,2	0,2		0,4			8,7	4,5				0,3		21,0		
	2015-4			0,4		25,8							1,1				3,0			0,2	0,4	0,2	3,7		
	2015-5					78,7					9,9		0,5				1,8			0,3	0,3		2,5		
	2015-6									31,3			5,9				0,3				4,6		25,0	4,5	
	2015-7								0,2	1,2			62,0								0,3		0,2	2,7	0,5
	2015-8								1,6	0,4			72,5						0,2	1,3		0,4	1,5		
	2015-9																							0,2	
HP	2015-1			0,2						6,4					1,0			12,8		1,7		0,2			
	2015-2	1,9			2,9					52,6				2,7	14,3			15,6		5,5			1,0		
	2015-3	8,5	1,4		68,1					2,3			0,2								0,5				
	2015-4	2,6			19,9					16,6			0,4			1,9	2,9		0,2	1,4		1,9	0,3		
	2015-5			0,2					0,2		1,0		47,8				18,7			3,6		0,2	18,0		
	2015-6							0,2	0,4				2,5							0,5		45,0	49,7	0,2	
	2015-7						0,3		4,6		0,2	0,6	23,1					0,2		0,2		0,9	69,7	0,6	
	2015-8					45,6		1,4		0,2	0,6	11,6								0,3		9,1	25,2		
	2015-9					12,4	1,1	0,3				58,0	0,9								1,3		0,9	20,2	0,2
HC	2015-1	2,1								44,3					6,1			24,7		0,6					
	2015-2	8,7	4,2							63,7					6,5	0,4		0,3		1,9					
	2015-3	3,5	0,5							2,8			0,3			3,4				0,2		0,6	0,3		
	2015-4				0,6	1,2					0,8	1,3					28,9		0,2	0,5		0,6			
	2015-5					0,2				26,8	8,8	4,5					0,6		7,9	2,9		0,2			
	2015-6					0,8	0,9			75,5	0,2	4,1					0,2		1,9				0,7		

	2015-7							0,2			13,5		30,8							7,7		0,2	1,5		
	2015-8					0,2		0,3	2,2		1,7		42,6							4,6		0,2	1,9		
	2015-9								0,2		0,2		2,9							6,5			1,0		
SB	2015-1														0,2				69,1		0,5				
	2015-2									3,4					60,5				3,4		30,6	0,2			
	2015-3	0,2	1,7		69,5					1,3			0,9			0,5	6,4	1,4		0,9		1,7	7,1		
	2015-4				17,3			0,4					4,3					14,2			0,3		3,4	34,7	
	2015-5							0,9			0,8	7,6	5,7					9,2		0,6	0,4	0,2		73,1	0,2
	2015-6							0,3				0,6	18,1								1,1		0,4	50,3	2,8
	2015-7							0,2	0,2	0,2				27,9							0,3		0,2	2,5	0,3
	2015-8							0,2	0,2	0,6				2,1						17,0			1,2	11,5	
	2015-9							0,8						0,4						70,5	0,4				

5.3.4 Saisonale Veränderungen in der Anzahl gefundener Pollenformen

Sowohl 2014 als auch 2015 zeigten sich saisonale Änderungen in der Anzahl gefundener Pollenformen pro Volk im Verlauf des Bienenjahres. Abbildung 5.17 gibt einen Überblick über Mittelwerte und Standardabweichungen für die unterschiedlichen Sammeltermine. Demnach stieg in den beiden Versuchsjahren im Frühling (Sammelperioden 1-3) die mittlere Zahl der pro Volk ermittelten Pollenformen nahezu um das Doppelte an und erreichte ein Maximum im Mai. Von diesem ausgehend erfolgte bis zum Hochsommer (Sammeltermine 4-8) tenzenziell ein leichter Rückgang, der sich im Spätsommer vom 8. zum 9. Sammeltermin verstärkte und wieder annähernd auf das Ausgangsniveau des Frühjahrs zurückführte. In der Abbildung 5.17 sind aus dem Jahr 2014 insgesamt 733 Werte von Einzelvölkern enthalten. Pro Sammeltermin standen minimal 70 und maximal 107 Zählwerte von Einzelvölkern zur Verfügung. Im Jahr 2015 sind 818 Werte von Einzelvölkern enthalten. Pro Sammeltermin standen minimal 40 und maximal 105 Zählwerte von Einzelvölkern zur Verfügung.

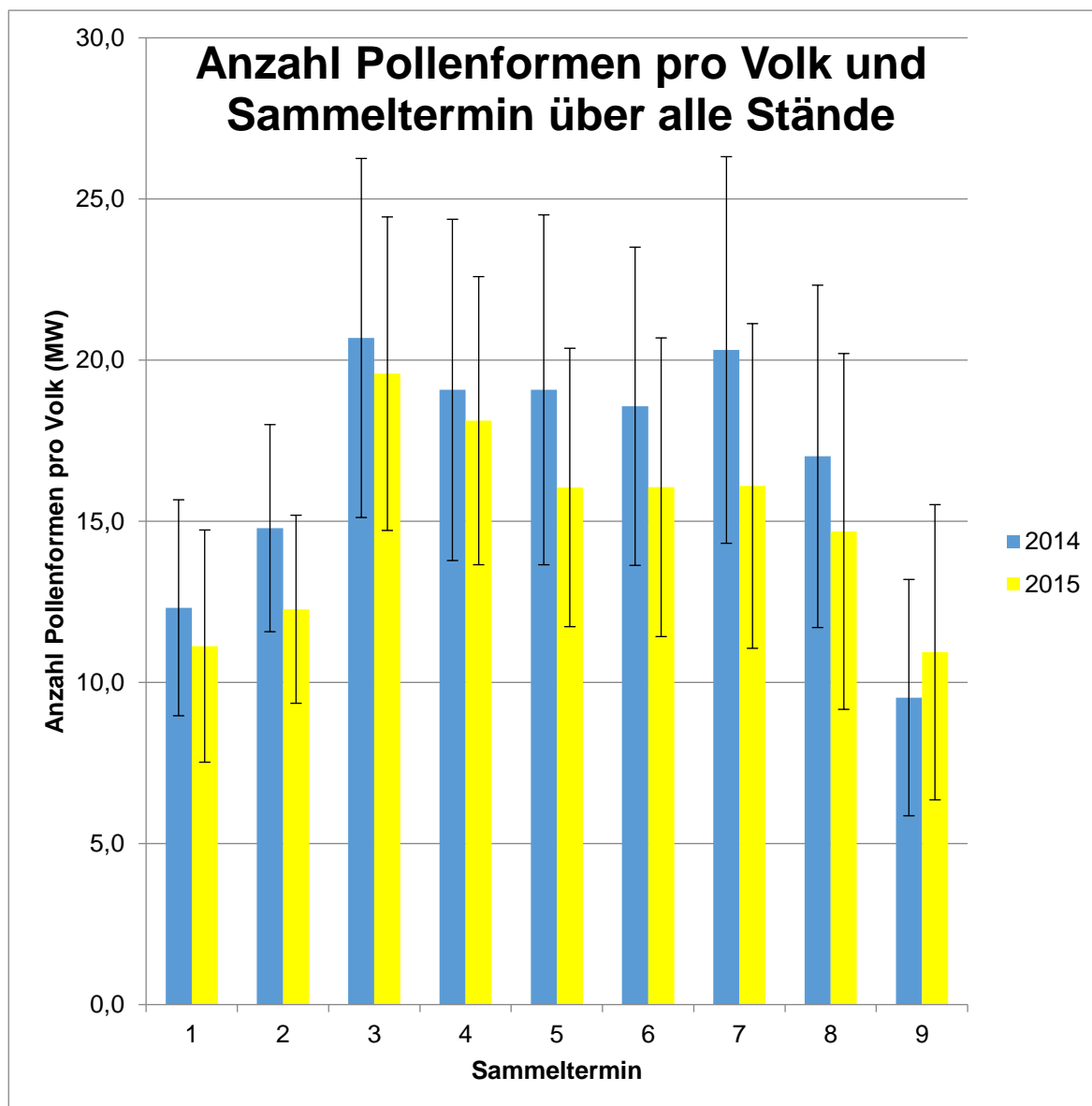


Abbildung 5.17: Verlauf der Anzahl gefundener Pollenformen pro Volk 2014 und 2015 (Mittelwert und Standardabweichung aus den Daten aller untersuchten Völker).

5.3.5 Unterschiede zwischen Bienenständen und Bienenvölkern in der Anzahl gefundener Pollenformen zu den einzelnen Sammelterminen

Versuchsjahr 2014

In Tabelle 5.6a sind die Einzelergebnisse zusammengefasst. Von 12 Bienenständen liegen vollständige Datensätze vor, das heißt, für alle neun Sammeltermine gibt es für jedes der drei Versuchsvölker pro Stand eine Pollenprobe. Diese Bienenstände sind in Tabelle 5.6a grau unterlegt. Für 26 Bienenstände sind die Datensätze inkomplett, das heißt, für einzelne Sammeltermine oder Völker liegen keine Pollenproben vor. Die Gründe dafür sind divers und liegen unter anderem in Problemen mit den Pollenfallen sowie einer zeitlichen Verhinderung der ImkerInnen bei einzelnen Probenahmen. In der Anzahl gefundener Pollenformen zeigen sich für den jeweiligen Sammeltermin geringfügige Unterschiede zwischen den Einzelvölkern desselben Standes und bedeutend größere Unterschiede zwischen den verschiedenen Versuchsständen.

Tabelle 5.6a: Einzelwerte der Anzahl bei unterschiedlichen Probeterminen (2014-1 bis 2014-9) gefundener Pollenformen nach Versuchsständen und Bienenvölkern. Komplette Datensätze sind grau unterlegt.

Stand	Volk	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9
1	1	12	16	16	15	22	19	23	18	15
	2	18	16	17	23	20	30	34	22	12
	3	11	16	12	14	23	22	27	20	11
2	1	11	10	22	18	18	12	17		9
	2	8	12	29	16	17	19	17		8
	3	11	16	28	22	20	23	11		11
3	1	9	15	24	14	20	26	22	14	10
	2	7	14	15	11	13	24	26	21	14
	3	9	18	16	16	19	24	20	15	15
4	1	7	17	22	20	23	21	28	12	11
	2	13	11	21	23	18	24	24	24	
	3	14	11	25	27	28	22	18	21	18
5	1	15	14	16	20	7	13	11	16	7
	2	14	18	15	18	20	17	17	19	13
	3	18	18	15	18	16	18	24	22	9
6	1		8		8				15	
	2		13						17	
	3		10						19	
7	1			26	14		11	22		
	2			21	14		12	20		
	3			27	10		9	23	20	

8	1	14	14	24	31	35	21	35	26	9
	2	9	12	33	28	27	25	25	20	3
	3	10	14	30	23	22	29	26	21	17
9	1	12	15	22	13	16	20	25	11	9
	2	12	18	19	16	21	24	18	17	13
	3	13	16	16	22	29	19	22	22	16
10	1		15							14
	2		12	20	24					17
	3		18							19
11	1	13	16	16	17	24	21	25	17	9
	2	10	11	15	17	28	21	21	21	13
	3	11	20	15	19	29	21	25	19	12
12	1	10	13	21	20	17	19	25	8	8
	2	10	17	24	24	19	22	22	13	8
	3	10	13	28	23	16	19	21	5	4
13	1	17	14	23	14	15	20	16	9	6
	2	14	18	20	17	13	19	21	13	5
	3	16	17	21	15	11	20	14	16	8
14	1		7	20	10	6	12	14		
	2	13	10	14	10		11	13		
	3		9	15	15	5	12	16		
15	1	9	15	22	19	18	24	15	10	6
	2	9	15	26	21	23	29	17	7	7
	3	9	13	19	26	19	26	27	9	8
16	1	14	23	29	28	23	16	31	27	8
	2	14	22	23	18	27	19	29	29	9
	3	16	13	21	29	24	20	32	19	10
17	1	15	15	14	14	15	19	17	15	7
	2	12	16	16	9	7	20	11	13	7
	3	14	16	24	12	17	18	20	13	3
18	1		12	19	28	17	19	26		
	2		10	24	21	22	19	19		
	3		13	28		21	15	28		
19	1			22	18	16	15	15	9	
	2		15	19	18	15	17	19	19	

	3			20	21	19	19	19	19	
20	1	20	14	23			12	18		
	2	17		26	23					
	3	14	14	23	22		20	14		
21	1		13	26	25		18	15		13
	2		15	24	18	16	13	14		13
	3		16	19	16	13	21	8		
22	1			20	21	18				
	2			22	18	20		23	18	
	3			14	17	17			23	
23	1	9	11		11	11	14	16	15	9
	2	8	14	14	11	13	12	14	10	9
	3	9	12		14	16	19	19	12	9
24	1			14	19		30		12	
	2			11	21		13		11	
	3			13	20		24		10	
25	1		15	15	13	16	18			9
	2		18	11		21	16	13		
	3		16	19	19	27	11			
26	1	7	11	21	19	18				
	2	9	13	20	19	16	8	15	11	4
	3	9	13	26	18	16	18	14	9	8
27	1	14		26	24	14	12	18	28	7
	2	16		18	26	18	21	14	20	9
	3	9		24	24	21	14	23	19	10
28	1		22	32	21	32	24	31	21	12
	2		17	34	24	26	1	32		9
	3		16	33	28	24	50	28	25	7
29	1				22	16	17		18	14
	2				16	19	20		18	7
	3				17	14	15		13	
30	1	16	19	16	25		17	20	24	11
	2	17	14	31	24		18	25	17	11
	3	17	18	20	23		15	15	18	12
31	1			13	24	23	18			7

	2				22	23	22			6
	3				24	22	18			8
32	1	5	19	8	20	15	8	6		8
	2	10	18	14	18	18	14	16		12
	3	13	19	13	5	16	14	24		5
33	1	11	16	27	23	20	26	25	20	12
	2	11	12	21	27	17	21	22	18	6
	3	10	19	25	28	22	14	21	19	11
34	1	18	11	21	17	21	21	26	13	
	2	17	15	28	21	22	20	21	9	
	3	16	12	15	24	18	18	24	15	
35	1		17	22	12	16	10		22	3
	2		16	30	11	18	12		20	2
	3		18	22	17	21	17		21	7
36	1	11	8	21	23	24				
	2	11	10	22	25	17				
	3	17	13	20	23	23				
37	1	17	17	16	18				25	11
	2	10	17	12	19			19	22	7
	3	11	14	14	22			14	20	4
38	1		15	20	17	11	18	18	21	12
	2		17	18	13	28	21	12	15	14
	3		21	24	9	19	22	17	10	7

Versuchsjahr 2015

Auch im Jahr 2015 zeigten sich zwischen Ständen und Völkern Unterschiede in der Anzahl gefundener Pollenformen.

In Tabelle 5.6b sind die Einzelergebnisse zusammengefasst. Von 6 Bienenständen liegen vollständige Datensätze vor, das heißt, für jeden der neun Sammeltermine gibt es für jedes der drei Versuchsvölker pro Stand eine Pollenprobe. Diese Bienenstände sind in Tabelle 5.6b grau unterlegt. Für 30 Bienenstände sind die Datensätze inkomplett, die Gründe dafür wurden bereits beim Versuchsjahr 2014 genannt.

Tabelle 5.7 zeigt die Mittelwerte der Anzahl gefundener Pollenformen für die 38 Versuchsstände des Jahres 2014 und für die 36 Versuchsstände des Jahres 2015. Daraus geht hervor, dass es sowohl zwischen den Ständen als auch zwischen den Sammelterminen zum Teil beträchtliche Unterschiede in der Anzahl der lichtmikroskopisch unterschiedenen Pollenformen gab.

Tabelle 5.6b: Einzelwerte der Anzahl bei unterschiedlichen Probeterminen (2015-1 bis 2015-9) gefundener Pollenformen nach Versuchsständen und Bienenvölkern. Komplette Datensätze sind grau unterlegt.

Stand	Volknr.	2015-1	2015-2	2015-3	2015-4	2015-5	2015-6	2015-7	2015-8	2015-9
1	1	6	13	23	22	19	19	16	27	15
	2	10	16	16	16	19	22	25	23	16
	3	6	13	15	16	20	24	17	17	13
2	1	10	11	23	24	18	16	18	12	11
	2	17	12	29	19	23	13	13	14	5
	3	14	8	25	21	19	27	15	10	5
3	1			20	9	17	23	16	16	11
	2				9	18	22	22	19	16
	3				15	11	21	16	11	18
4	1	13	11	17	14	9	9	7	14	3
	2	12	15	22	10	11	12	11	15	3
	3	10	16	25	20	10	8	14	14	2
5	1		11	22	21	13	14		20	8
	2		14	22	23	17	19		17	10
	3		14	25	20	17	20		9	15
6	1	9	12	14	15	24	19			
	2	12	14	20	24	27	15			
	3	10	16	21	23	26	25			
7	1		14	25	18	17	21		15	11
	2		12	19	18	16	14		15	23
	3		13	21	18	12	14		20	18
8	1		10	21	20	19	19	20	10	3
	2		9	16	21	20	18	22	14	12
	3		9	21	20	27	14	18	17	11
9	1	5	15	13	9	15	12	12	14	
	2	9	13	12		15	9	9	13	
10	1	8	12	23	17	18		11	12	13
	2	8	16	23	19	20		15	22	16
	3	6	10	22	20	20		20	24	17
11	1	13	11	20	17	23	14		10	12
	2	14	12	20	27	20	12		10	11
	3	12	13	19	22	17	14		10	10
12	1	11	10	17	22	13	9	17	11	12
	2	15	10	18	21	13	14	11	16	12
	3	14	10	15	24	11	11	14	17	10
13	1	11	19	23	22	17	19	17	20	13
	2	15	14	18	19	15	15	25	27	19
	3	14	15	22	22	20	14	25	23	14
14	40		21	19	28	12	15	15	13	
	41		13	19	20	15	15	14	16	
	43		14	21	25	12	15	7	9	
15	1	3	9	18	21	14	18	19	14	
	2		12	19	23	17	17	16	18	

	3	2	14	17	17	14	18	23	18	20
16	1			31	19	21		25	20	16
	2		16	19	19	21		25	27	14
	3		11	29	19			22	18	10
17	1	9	13	26	23	12	14	15	5	15
	2	15	16	23	24	8	14		8	10
	3	10	18	24	21	7	11	21	12	
18	1		6	22	17	14	14	14	11	8
	2		9	21	22	19	14	17	11	8
	3				11	11	17	21	14	
10	1		11	22	11	8	9	16	4	10
	2		15	22	20	13	8	9	9	
	3		14	23	17	8	12		8	
20	1	14	14	13	14	18	6		12	11
	2	11	14	19	20	19	14	23	21	21
	3	15	15	20	18	20	6	24	23	15
21	1		10	16	9	12	11	14	17	11
	2		8	9	13	12	17	9	12	8
	3		8	12		15	13	9	7	5
22	1		14	15	23	18	18	16	9	
	2		12	19	21	15	22	18	13	
	3		12	11	22	19	15	16	11	
23	1	15	17	19		11	14	20	23	10
	2	14	18	16		11	13	16	12	5
	3	12	15	22		16	17	20	14	10
24	1			21	20	13		16	18	8
	2			20	19	17		14	15	9
	3			21	17	14		19	15	17
25	1		6	24		17	16		11	12
	2		11	23	22	15	14		10	7
	3		9	25		16	12		19	9
26	1		10	21	19	17	21		14	10
	2		15	22	17	18	27		10	11
	3		14	20	15	15	24		13	8
27	1		13	12	20	17	16	20	11	8
	2		12	14	21	23	21	13	9	7
	3		10	12	23	21	18	16	12	11
28	1		14	12	20	14	22	17	15	13
	2		8	18	17	19	13	15	12	10
	3		11	12	12	15	15	11	9	7
29	1		10	19	20	18		8	11	16
	2		13	17	20	20		12	27	17
	3		12	16	21	10		11	13	15
30	1		9	13	15	20	19	13	7	7
	2		11	22	14	17	15	10	10	9
	3		11	22	18	19	29	13	16	11

31	1	14	7	30	19	15	22	25	9	6
	2	16	11	32	20	15	14	13	15	4
	3	11	6	26	17	15	15	12	9	6
32	1		10	8	15		19	18	17	11
	2		12	12	18	5	14	18	12	6
	3		15	14	19	16	18	29	8	12
33	1		12	29	21	14	16	11	7	8
	2		7	28	16	10	16	11	10	5
	3		13	23	18	12	11	11	14	5
34	1		12	19	16	14		11	29	17
	2		13	21	17	18		10	27	18
	3		17	17	16	17		24	28	20
35	1		12	20	7	17	24	10	13	11
	2		13	15	11	22	14	17	15	12
	3		9	15	12	23	16	24	14	8
36	1		10	17	12	17	17	9	13	7
	2			20	10	13	18	15	17	4
	3			11	4	9	13	18	26	7

Tabelle 5.7: Mittelwerte (= MW) der Anzahl gefundener Pollenformen für die 36 Versuchsstände für die unterschiedlichen Sammeltermine im Jahr 2014 und 2015.

Stand Nr.	Sammeltermine 2014									Sammeltermine 2015								
	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9	2015-1	2015-2	2015-3	2015-4	2015-5	2015-6	2015-7	2015-8	2015-9
1	13,7	16,0	15,0	17,3	21,7	23,7	28,0	20,0	12,7	7,3	14,0	18,0	18,0	19,3	21,7	19,3	22,3	14,7
2	10,0	12,7	26,3	18,7	18,3	18,0	15,0		9,3	13,7	10,3	25,7	21,3	20,0	18,7	15,3	12,0	7,0
3	8,3	15,7	18,3	13,7	17,3	24,7	22,7	16,7	13,0			20,0	11,0	15,3	22,0	18,0	15,3	15,0
4	11,3	13,0	22,7	23,3	23,0	22,3	23,3	19,0	14,5									
5	15,7	16,7	15,3	18,7	14,3	16,0	17,3	19,0	9,7	11,7	14,0	21,3	14,7	10,0	9,7	10,7	14,3	2,7
6											13,0	23,0	21,3	15,7	17,7		15,3	11,0
7		10,3		8,0				17,0										
8			24,3	12,7		10,7	21,7	20,0										
9	11,0	13,3	29,3	27,3	28,0	25,0	28,7	22,3	9,7	10,3	14,0	18,3	20,7	25,7	19,7			
10	12,3	16,3	19,0	17,0	22,0	21,0	21,7	16,7	12,7									
11		15,0	20,0	24,0					16,7		13,0	21,7	18,0	15,0	16,3		16,7	17,3
12	11,3	15,7	15,3	17,7	27,0	21,0	23,7	19,0	11,3		9,3	19,3	20,3	22,0	17,0	20,0	13,7	8,7
13	10,0	14,3	24,3	22,3	17,3	20,0	22,7	8,7	6,7									
14	15,7	16,3	21,3	15,3	13,0	19,7	17,0	12,7	6,3									
15	13,0	8,7	16,3	11,7	5,5	11,7	14,3											
16										7,0	14,0	12,5	9,0	15,0	10,5	10,5	13,5	
17	9,0	14,3	22,3	22,0	20,0	26,3	19,7	8,7	7,0	7,3	12,7	22,7	18,7	19,3		15,3	19,3	15,3
18										13,0	12,0	19,7	22,0	20,0	13,3		10,0	11,0
19										13,3	10,0	16,7	22,3	12,3	11,3	14,0	14,7	11,3
20	14,7	19,3	24,3	25,0	24,7	18,3	30,7	25,0	9,0	13,3	16,0	21,0	21,0	17,3	16,0	22,3	23,3	15,3
21	13,7	15,7	18,0	11,7	13,0	19,0	16,0	13,7	5,7		16,0	19,7	24,3	13,0	15,0	12,0	12,7	
22		11,7	23,7	24,5	20,0	17,7	24,3											
23		15,0	20,3	19,0	16,7	17,0	17,7	15,7		2,5	11,7	18,0	20,3	15,0	17,7	19,3	16,7	20,0
24											13,5	26,3	19,0	21,0		24,0	21,7	13,3
25	17,0	14,0	24,0	22,5		16,0	16,0			11,3	15,7	24,3	22,7	9,0	13,0	18,0	8,3	12,5

26		14,7	23,0	19,7	14,5	17,3	12,3		13,0			7,5	21,5	16,7	14,7	15,0	17,3	12,0	8,0
27			18,7	18,7	18,3		23,0	20,5				13,3	22,3	16,0	9,7	9,7	12,5	7,0	10,0
28											13,3	14,3	17,3	17,3	19,0	8,7	23,5	18,7	15,7
29	8,7	12,3	14,0	12,0	13,3	15,0	16,3	12,3	9,0			8,7	12,3	11,0	13,0	13,7	10,7	12,0	8,0
30												12,7	15,0	22,0	17,3	18,3	16,7	11,0	
31											13,7	16,7	19,0		12,7	14,7	18,7	16,3	8,3
32												20,7	18,7	14,7		16,3	16,0	11,3	
33												8,7	24,0	22,0	16,0	14,0		13,3	9,3
34												13,0	21,0	17,0	16,7	24,0		12,3	9,7
35												11,7	12,7	21,3	20,3	18,3	16,3	10,7	8,7
36			12,7	20,0		22,3		11,0											
37		16,3	15,0	16,0	21,3	15,0	13,0		9,0			11,0	14,0	16,3	16,0	16,7	14,3	12,0	10,0
38	8,3	12,3	22,3	18,7	16,7	13,0	14,5	10,0	6,0										
39	13,0		22,7	24,7	17,7	15,7	18,3	22,3	8,7			11,7	17,3	20,3	16,0		10,3	17,0	16,0
40		18,3	33,0	24,3	27,3	25,0	30,3	23,0	9,3										
41												10,3	19,0	15,7	18,7	21,0	12,0	11,0	9,0
42				18,3	16,3	17,3		16,3	10,5										
43	16,7	17,0	22,3	24,0		16,7	20,0	19,7	11,3	13,7	8,0	29,3	18,7	15,0	17,0	16,7	11,0	5,3	
44			13,0	23,3	22,7	19,3			7,0										
45	9,3	18,7	11,7	14,3	16,3	12,0	15,3		8,3			12,3	11,3	17,3	10,5	17,0	21,7	12,3	9,7
46	10,7	15,7	24,3	26,0	19,7	20,3	22,7	19,0	9,7			10,7	26,7	18,3	12,0	14,3	11,0	10,3	6,0
47												10,0	16,0	8,7	13,0	16,0	14,0	18,7	6,0
48	17,0	12,7	21,3	20,7	20,3	19,7	23,7	12,3											
49		17,0	24,7	13,3	18,3	13,0		21,0	4,0										
50	13,0	10,3	21,0	23,7	21,3														
51	12,7	16,0	14,0	19,7			16,5	22,3	7,3			14,0	19,0	16,3	16,3		15,0	28,0	18,3
52		17,7	20,7	13,0	19,3	20,3	15,7	15,3	11,0			11,3	16,7	10,0	20,7	18,0	17,0	14,0	10,3

5.3.6 Saisonale Abfolge der Nutzung ausgewählter Pflanzenarten

Werden die relativen Pollenhäufigkeiten (= Anteil am Sammelgut in % zu einem bestimmten Stichtag) der am meisten von den Bienen eingetragenen Pflanzenarten bzw. Pollenformen aufsummiert und über die Sammeltermine aufgetragen, ergibt sich eine klar erkennbare phänologische Abfolge bestimmter Pollenformen vom Frühjahr bis zum Herbst.

In Abbildung 5.18a und b sind für 16 ausgewählte Pollenformen die über alle 9 Sammeltermine aufsummierten relativen Anteile für die Jahre 2014 und 2015 zusammengestellt. In die Auswahl wurden auch häufig als Gründüngung angebaute Pflanzen (*Sinapis* spp., *Fagopyrum* spp., *Phacelia tanacetifolia*) aufgenommen.

Beim ersten Sammeltermin dominierte klar der Pollen von Weidenarten. Beim 2. Sammeltermin waren der Pollen von Weiden und Apfel, Birne und Weißdorn, aber auch Raps und Roßkastanie stark vertreten. Beim 3. Sammeltermin dominierte Ahorn, gefolgt von Raps, anderen Kreuzblütlern und verschiedenen Hahnenfußverwandten. Ab dem 4. Sammeltermin wurden Weißklee, Wegerich, Senf und Rotklee vermehrt als Pollenquellen genutzt. Die Wegericharten und der Weißklee blieben dann bis zum 7. bzw. 8. Sammeltermin dominant. Ab dem 7. Sammeltermin wurden auch verschiedene spät blühende Korbblütler, Senf, *Phacelia* und Buchweizen stark von den Bienen gesammelt.

Zum Saisonabschluss am 9. Sammeltermin war in beiden Jahren Efeu die dominierende Pollenform im Sammelgut der Honigbienen. Jeder, der im Herbst schon einmal bewusst blühenden Efeu beobachtet hat, wird den intensiven Bienenbeflug an dieser Pflanze noch in Erinnerung haben.

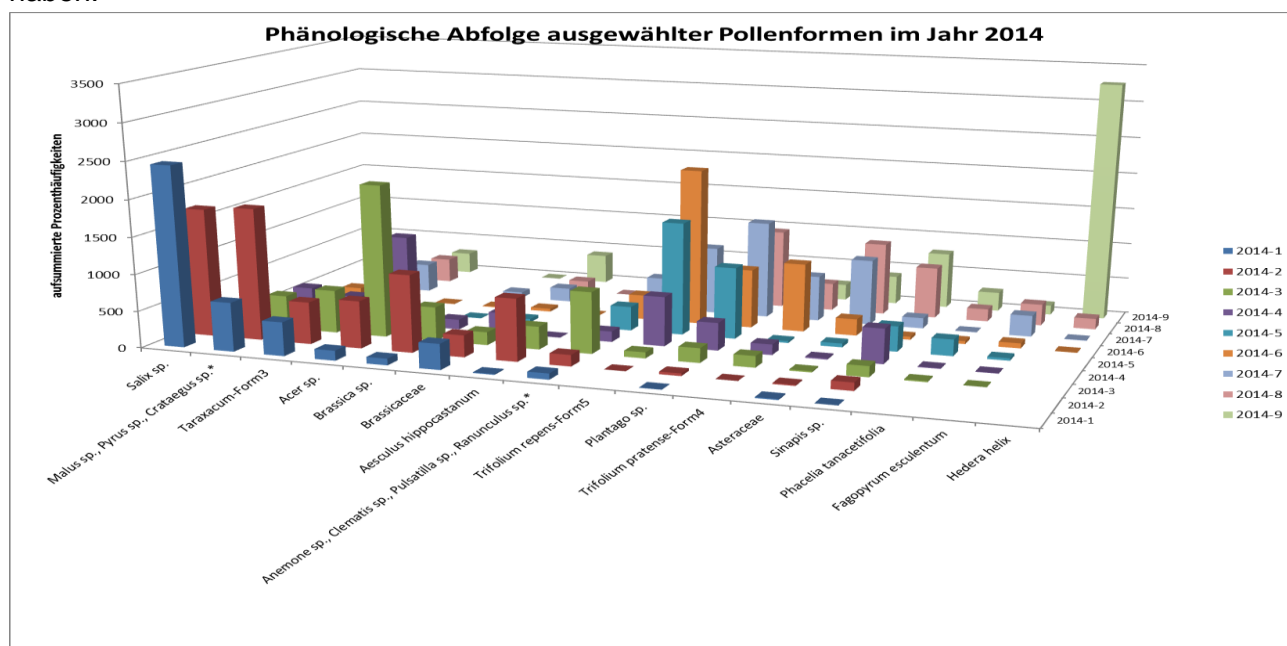


Abbildung 5.18a: Phänologische Abfolge von 16 ausgewählten Pollenformen im Jahresverlauf 2014. Aufgetragen sind die Summenwerte prozentueller Pollenhäufigkeiten für den jeweiligen Sammeltermin. Je höher der aufgetragene Summenwert ist, desto größer war in den Einzelproben auch die relative Häufigkeit der angeführten Pollenformen.

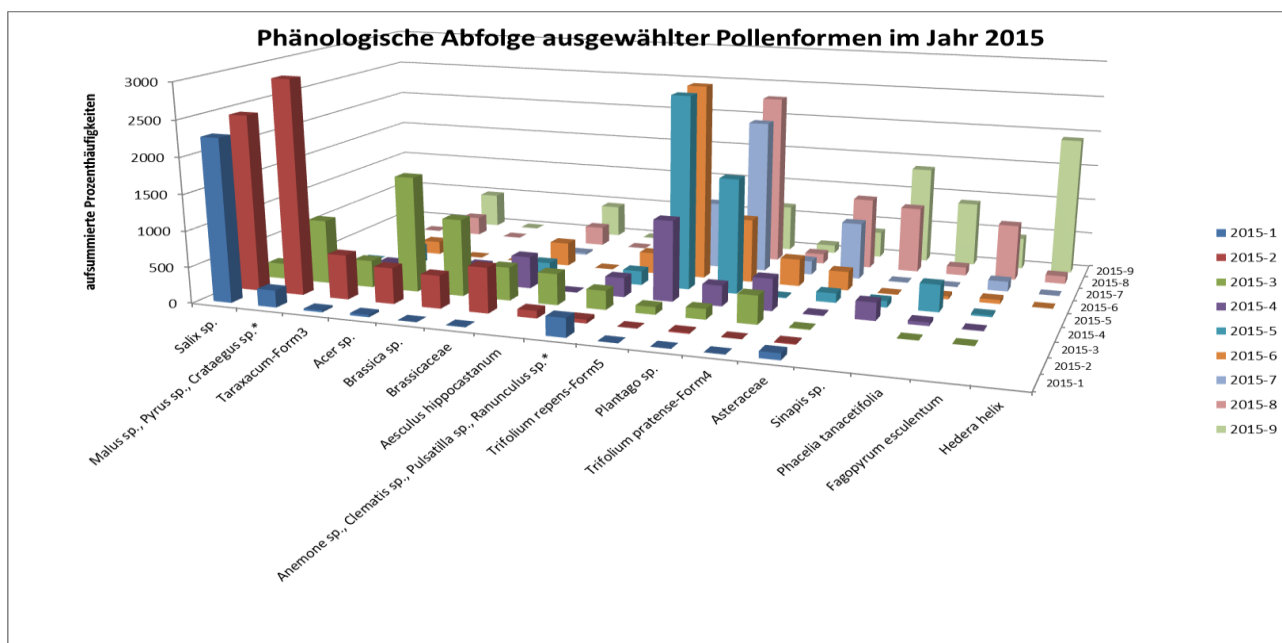


Abbildung 5.18b: Phänologische Abfolge von 16 ausgewählten Pollenformen im Jahresverlauf 2015. Aufgetragen sind die Summenwerte prozentueller Pollenhäufigkeiten für den jeweiligen Sammeltermin. Je höher der aufgetragene Summenwert ist, desto größer war in den Einzelproben auch die relative Häufigkeit der angeführten Pollenformen.

5.3.7 Saisonale Veränderung der Anzahl Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten von mehr als 50%, mehr als 80% und mehr als 90%

Über alle Sammeltermine betrachtet gab es sowohl im Jahr 2014 als auch im Jahr 2015 bei jedem Volk zumindest eine Probe, in der eine Pollenform eine relative Häufigkeit von mehr als 50% erreichte.

Bei der Aufschlüsselung nach Sammelterminen und relativen Pollenhäufigkeiten von >50 %, >80 % und >90 % ergibt sich ein differenzierteres Bild. In Tabelle 5.8a ist die Veränderung der Anzahl der Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten über 50%, über 80% und über 90% im saisonalen Verlauf anhand der Werte für die verschiedenen Sammeltermine dargestellt. In der Tabelle ist zusätzlich der prozentuelle Anteil dieser Völker – bezogen auf die Gesamtzahl von 114 Versuchsvölkern im Jahr 2014 – eingetragen.

Dabei zeigt sich beim 9. Sammeltermin ein sprunghafter Anstieg der Anzahl an Völkern, die in zumindest einer Probe einen relativen Pollenanteil von >50%, >80% und >90% hatten. Das heißt, das im Flugkreis verfügbare Angebot an Pollentrachtpflanzen bzw. die von den Bienen genutzte Auswahl daraus war auf einige wenige Arten beschränkt, wovon eine im Polleneintrag dominant vertreten war. In der Abbildung 5.19a wird dieser Effekt noch klarer erkennbar.

Tabelle 5.8a: Saisonale Veränderung der Anzahl der Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten von mehr als 50%, mehr als 80% und mehr als 90% für das Jahr 2014.

Völker	Sammeltermin								
	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9
Anzahl > 50%	42	35	31	47	37	41	31	40	67
Anteil > 50%	36,8	30,7	27,2	41,2	32,5	36,0	27,2	35,1	58,8
Anzahl > 80%	7	1	2	11	6	4	2	10	27
Anteil > 80%	6,1	0,9	1,8	9,6	5,3	3,5	1,8	8,8	23,7
Anzahl > 90%	2	0	0	2	2	0	0	3	16
Anteil > 90%	1,8	0,0	0,0	1,8	1,8	0,0	0,0	2,6	14,0

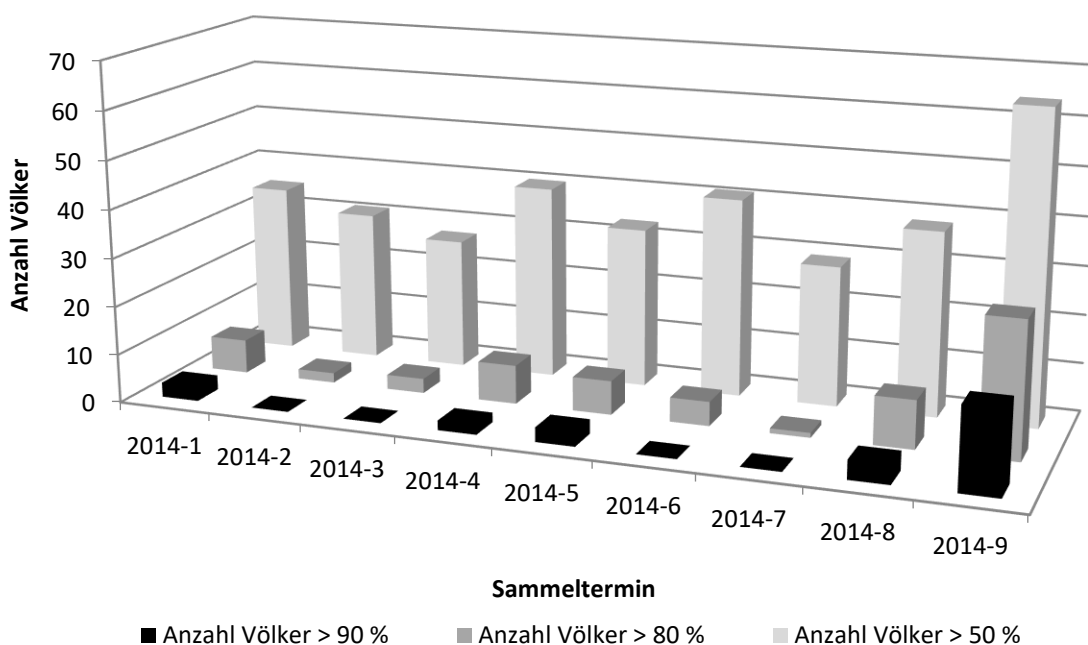


Abbildung 5.19a: Saisonaler Verlauf der Anzahl der Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten >50%, >80% und >90% im saisonalen Verlauf des Jahres 2014 (Völkergesamtzahl n = 114).

Für das Jahr 2015 ergibt sich ein ähnliches Grundmuster (Tab. 5.8b und Abb. 5.19b), wobei allerdings beim 9. Sammeltermin die Anzahl der Völker in den 3 unterschiedenen Gruppen etwas niedriger lag als 2014.

Tabelle 5.8b: Saisonaler Verlauf der Anzahl der Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten von mehr als 50%, mehr als 80% und mehr als 90% für das Jahr 2015.

Völker	2015-1	2015-2	2015-3	2015-4	2015-5	2015-6	2015-7	2015-8	2015-9
Anzahl > 50%	29	59	30	35	55	51	53	61	66
Anteil > 50%	27,1	55,1	28,0	32,7	51,4	47,7	49,5	57,0	61,7
Anzahl > 80%	13	10	4	9	11	17	11	19	20
Anteil > 80%	12,1	9,3	3,7	8,4	10,3	15,9	10,3	17,8	18,7
Anzahl > 90%	7	1	1	6	3	5	1	9	10
Anteil > 90%	6,5	0,9	0,9	5,6	2,8	4,7	0,9	8,4	9,3

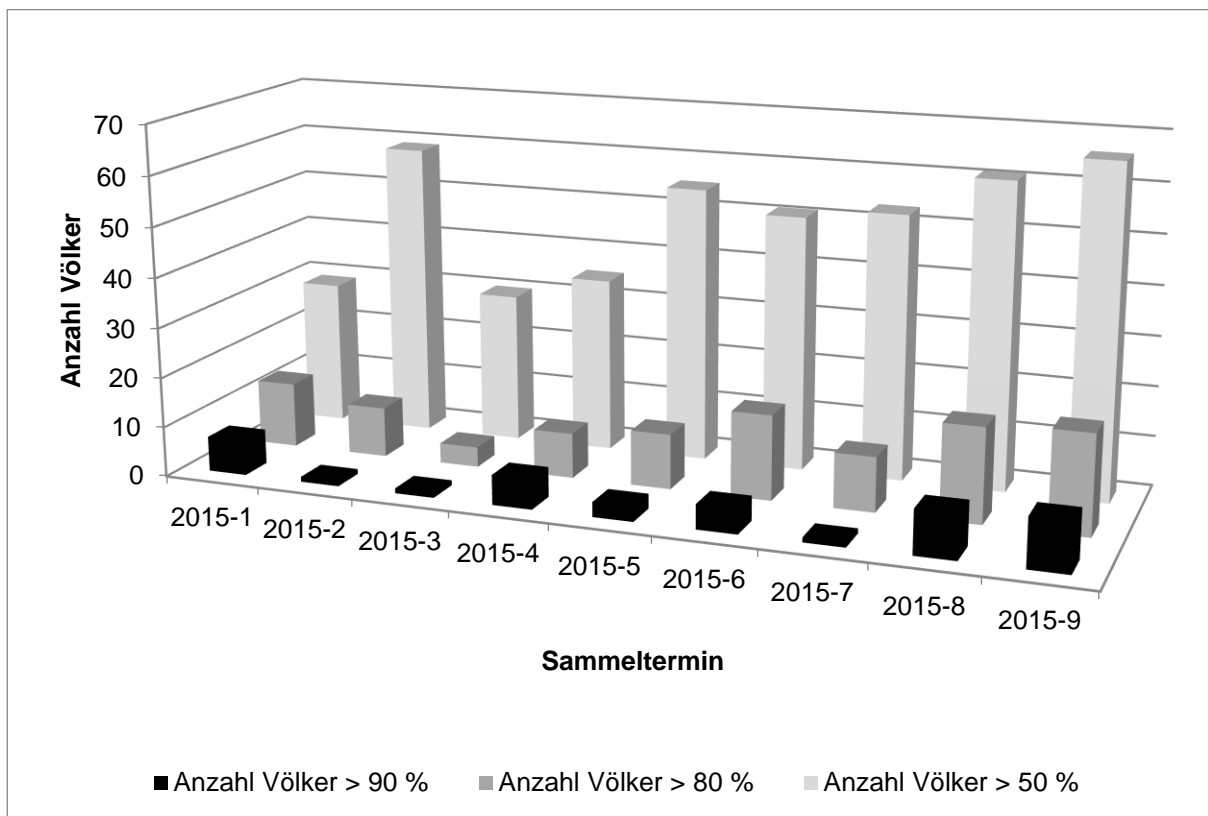


Abbildung 5.19b: Veränderung der Anzahl Völker mit relativen Pollenhäufigkeiten >50%, >80% und >90% im saisonalen Verlauf des Jahres 2015 (Völkergesamtzahl n = 107).

5.3.8 Nutzung von Gründungsplanzen als Pollenquellen durch die Versuchsvölker

Im Greening- und ÖPUL-Programm ist die Begrünung von Ackerflächen durch Zwischenfruchtanbau vorgesehen. Da derartige Zwischenfrüchte vielerorts auch zur Blüte kommen, erfolgte eine Auswertung hinsichtlich deren Nutzung als Pollenquellen der Versuchsvölker auf den verschiedenen Bienenständen. Unterschieden wurde dabei zwischen folgenden Pflanzenarten bzw. Pflanzengruppen: *Phacelia tanacetifolia*, *Fagopyrum* spp., *Brassica* spp., *Sinapis* spp., Brassicaceae (in dieser Gruppe sind andere Vertreter der Brassicaceae zusammengefasst) und Asteraceae. Zu letzterer Familie gehört beispielsweise das ebenfalls als Gründungsplanze unter dem Markennamen „Mungo“ angebaute Ramtillkraut (*Guizotia abyssinica*).

Ausgewertet wurden alle Datensätze, in denen Pollen aus diesen Gruppen im Sammelgut der Einzelvölker in diesen Jahren identifiziert worden waren.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.9, Tabelle 5.10, Abbildung 5.20 und Abbildung 5.21 für die Jahre 2014 und 2015 in Form von Mittelwerten zusammengefasst.

Wie daraus hervorgeht, wurden bei *Phacelia* zu bestimmten Sammelterminen die höchsten Mittelwerte mit 43% (Sammeltermin 2014-8) bzw. 39% (Sammeltermin 2015-9) erreicht. In den Gruppen *Brassica* spp. und *Sinapis* spp. wurden Mittelwerte von knapp 30% oder darüber erreicht.

Schränkt man die Betrachtung auf die Sammeltermine 7 bis 9 ein (Anfang August bis Ende September – zu dieser Zeit beginnt die Umstellung zum Wintervolk), wird deutlich, dass in bestimmten Regionen die Vertreter der Kreuzblütler (Summe aus *Brassica* spp., *Sinapis* spp. und

sonstige Brassicaceae) und *Phacelia tanacetifolia*) jeweils bis zu rund ein Drittel des Pollensammelgutes ausmachen. *Fagopyrum* und Asteraceae liegen im Mittel deutlich darunter.

Der in Einzelvölkern in dieser Periode in den Jahren 2014 bzw. 2015 erreichte Maximalwert der relativen Häufigkeit im Pollensammelgut betrug für *Brassica* spp. 82,2%, *Sinapis* spp. 99,2%, Brassicaceae 80%, *Phacelia tanacetifolia* 87,4 %, *Fagopyrum* 83% und Asteraceae 83,6%. Auf Ebene der Einzelvölker läßt sich daraus der Schluss ziehen, dass das genutzte Pollenspektrum sehr eng sein kann. Ob die Ursache dafür in der besonderen Attraktivität bzw. Wertigkeit dieser Pollenarten zu suchen ist oder im Mangel an ergiebigen alternativen Pollenquellen, läßt sich den verfügbaren Daten nicht entscheiden.

Tabelle 5.9: Anteil ausgewählter Pollenformen im Sammelgut des Jahres 2014 (Gesamtmittelwerte aus dem prozentuellen Anteil der Einzelvölker mit einer Häufigkeit der jeweiligen Pollenform von ≥ 1 zum betreffenden Sammeltermin).

Pollenform	2014-1	2014-2	2014-3	2014-4	2014-5	2014-6	2014-7	2014-8	2014-9
<i>Brassica</i> spp.	7,5	29,2	20,2	13,6	1,4	1,9	19,6		0,2
Brassicaceae	10,5	4,9	3,1	5,2	1,5	1,8	7,2	5,6	16,1
<i>Sinapis</i> spp.	0,2	5,8	10,5	15,4	13,3	3,8	8,5	21,4	24,9
<i>Fagopyrum</i> spp.			0,2	0,9	2,8	3,6	12,1	11,3	7,5
Asteraceae	0,6	0,9	0,6	0,6	1,2	3,4	11,4	15,6	6,8
<i>Phacelia tanacetifolia</i>			3,6	1,0	16,2	5,7	1,3	43,0	29,0

Tabelle 5.10: Anteil ausgewählter Pollenformen im Sammelgut des Jahres 2015 (Gesamtmittelwerte aus dem prozentuellen Anteil der Einzelvölker mit einer Häufigkeit der jeweiligen Pollenform von ≥ 1 zum betreffenden Sammeltermin).

Pollenform	2015-1	2015-2	2015-3	2015-4	2015-5	2015-6	2015-7	2015-8	2015-9
<i>Brassica</i> spp.	0,2	16,9	32,4	22,4	1,0	0,9			
Brassicaceae	0,4	12,1	7,2	7,8	5,4	13,2	1,1	5,2	8,1
<i>Sinapis</i> spp.				12,5	6,9	1,3	0,5	30,8	36,9
<i>Fagopyrum</i> spp.			0,2	0,4	1,3	2,6	7,0	21,1	10,3
Asteraceae	3,9	0,5	0,4	0,4	3,9	4,4	11,9	11,7	5,7
<i>Phacelia tanacetifolia</i>			0,9	5,0	22,3	5,4	0,7	11,7	39,3

Da sich die Versuchsbienenstände in verschiedenen Regionen Österreichs – mit unterschiedlicher landwirtschaftlicher Nutzungsintensität und unterschiedlichen Kulturarten – befanden, stellte sich die Frage, ob und in welchem Umfang die im vorigen Abschnitt ausgewählten Pollenformen auf den verschiedenen Standorten von den Bienen tatsächlich genutzt wurden. Von speziellem Interesse waren dabei die im Spätsommer und noch bis weit in den Herbst hinein blühenden Begrünungen mit *Phacelia tanacetifolia*, *Sinapis* spp., *Fagopyrum* spp. und anderen Vertretern aus der Familie der Brassicaceae. Diese Pflanzen werden von Teilen der Imkerschaft kritisch gesehen im Hinblick auf eine Verlängerung der Bruttätigkeit und sich daraus ergebender Probleme mit der Bienengesundheit (Verlängerung der Vermehrungsperiode der Varroamilbe, Ruhr, *Nosema*) und dem Überwinterungserfolg.

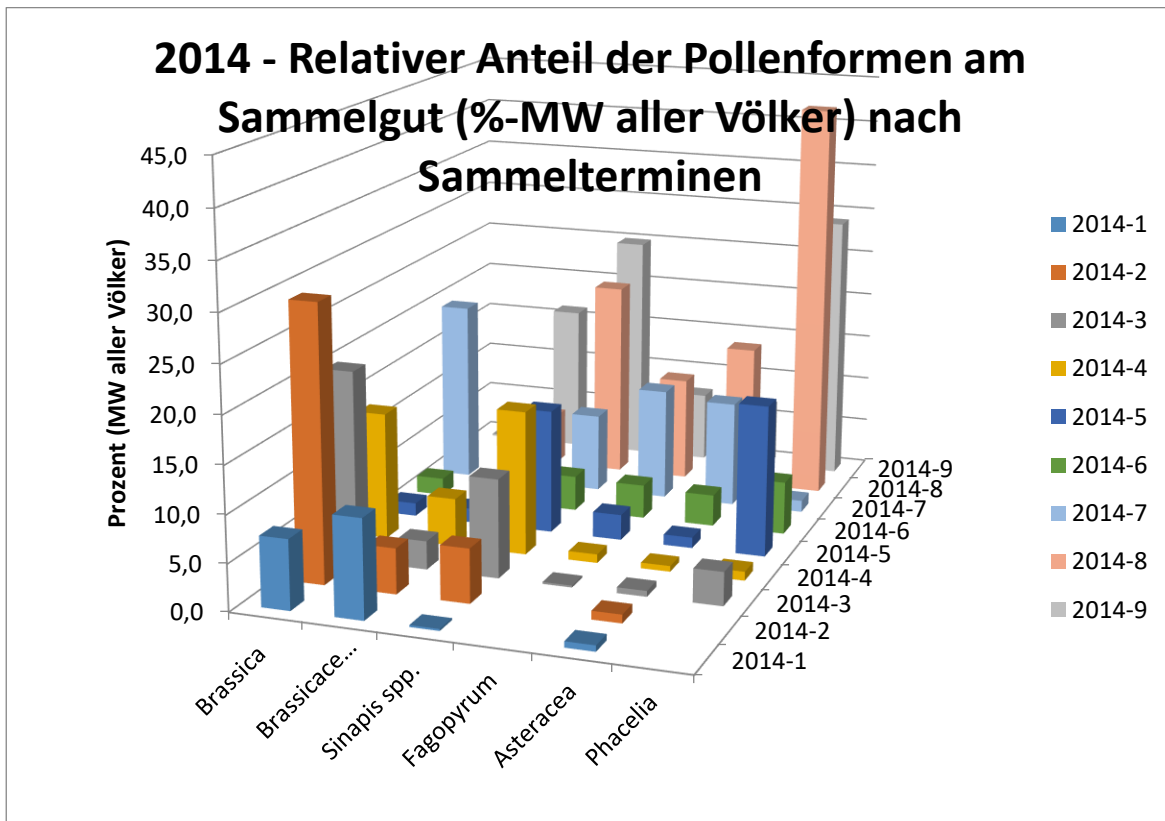


Abbildung 5.20: Relativer Anteil ausgewählter Pollenformen am Sammelgut im Jahr 2014 (%-MW aller Völker) nach Sammelterminen.

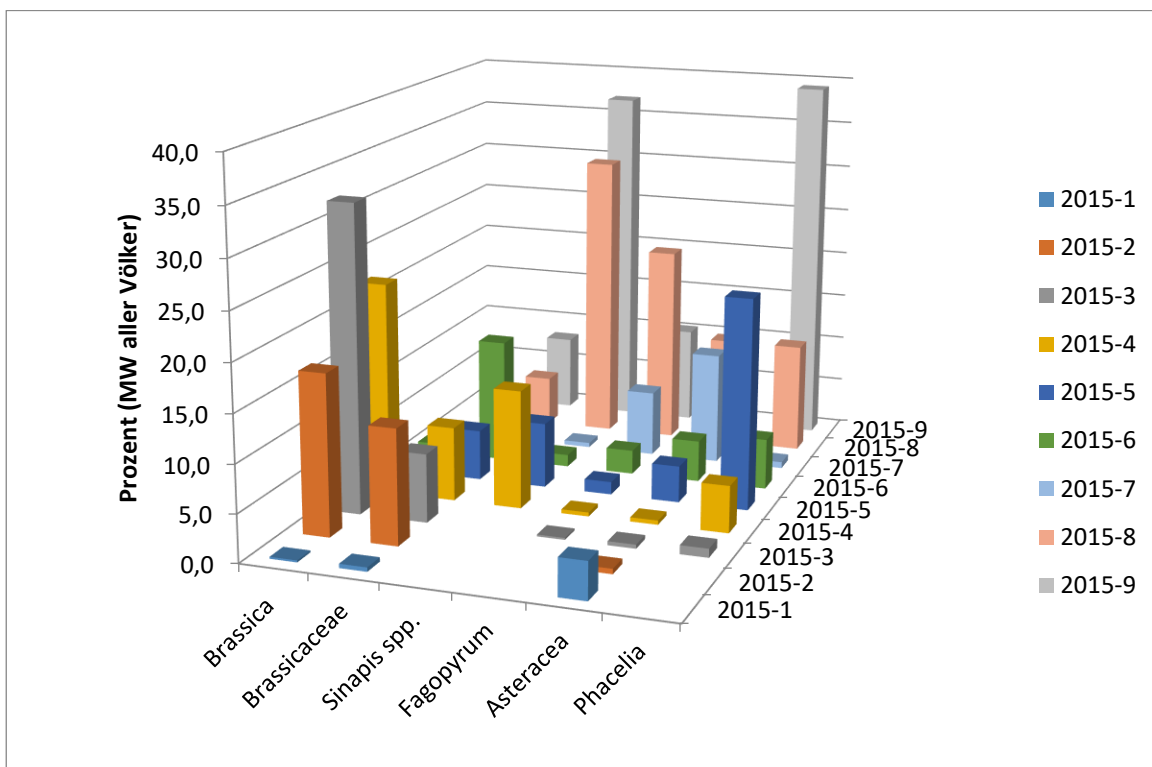


Abbildung 5.21: Relativer Anteil ausgewählter Pollenformen am Sammelgut im Jahr 2015 (%-MW aller Völker) nach Sammelterminen.

Zur Klärung dieser Frage erfolgte für beide Versuchsjahre eine standbezogene Auswertung, Diese wurde auf die Sammeltermine 8 und 9 (Ende August bis Ende September) und auf vier überwiegend aus Begrünungen stammenden Pollenformen (Brassicaceae, *Sinapis* spp., *Phacelia tanacetifolia*, *Fagopyrum* spp.) eingeschränkt. Für die Auswertung wurden alle Bienenstände herangezogen, für die zu diesen Sammelterminen Daten vorlagen. Für das Jahr 2014 waren dies 17 Bienenstände und für das Jahr 2015 26 Bienenstände.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.22 und Abbildung 5.23 dargestellt. In beiden Jahren gab es einerseits Bienenstände, auf denen diese Pflanzen in der Spätsommerpollenversorgung keine oder nur eine geringe Rolle spielten. Andererseits gab es auch Stände, auf denen diese Pflanzen einen hohen Anteil an der Spätsommerpollenversorgung hatten.

Da ein Zusammenhang mit der landwirtschaftlichen Nutzung im Flugkreis zu vermuten war, erfolgte eine Gruppierung der Bienenstände nach der Intensität der Nutzung der genannten Pflanzen als Pollenquelle durch die Bienen. Als Maßstab wurden dabei wieder die aufsummierten %-Anteile der Einzelvölker für die jeweiligen Pollenformen für die Sammeltermine 8 und 9 verwendet, analog zu Abbildung 5.22 und Abbildung 5.23).

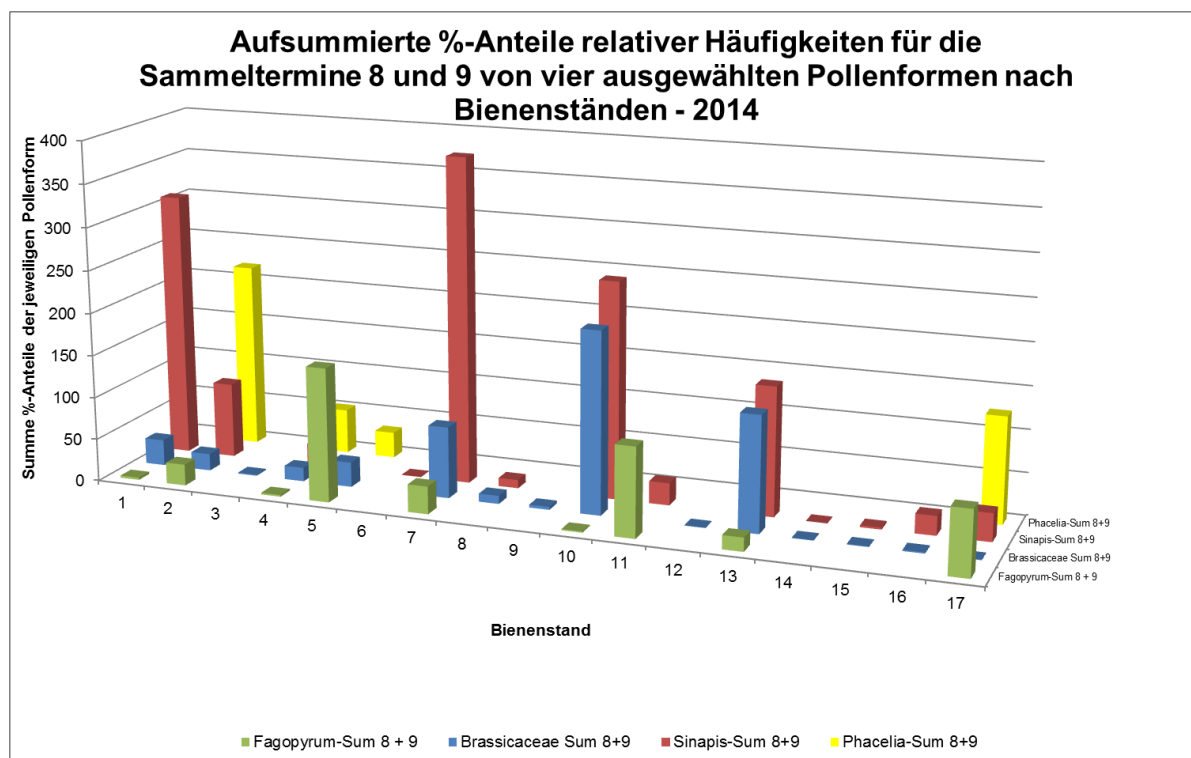


Abbildung 5.22: Nutzung von *Phacelia*, *Fagopyrum*, *Sinapis* und anderer Brassicaceae als Pollenquellen der Bienenvölker auf 17 Versuchsständen im Spätsommer 2014.

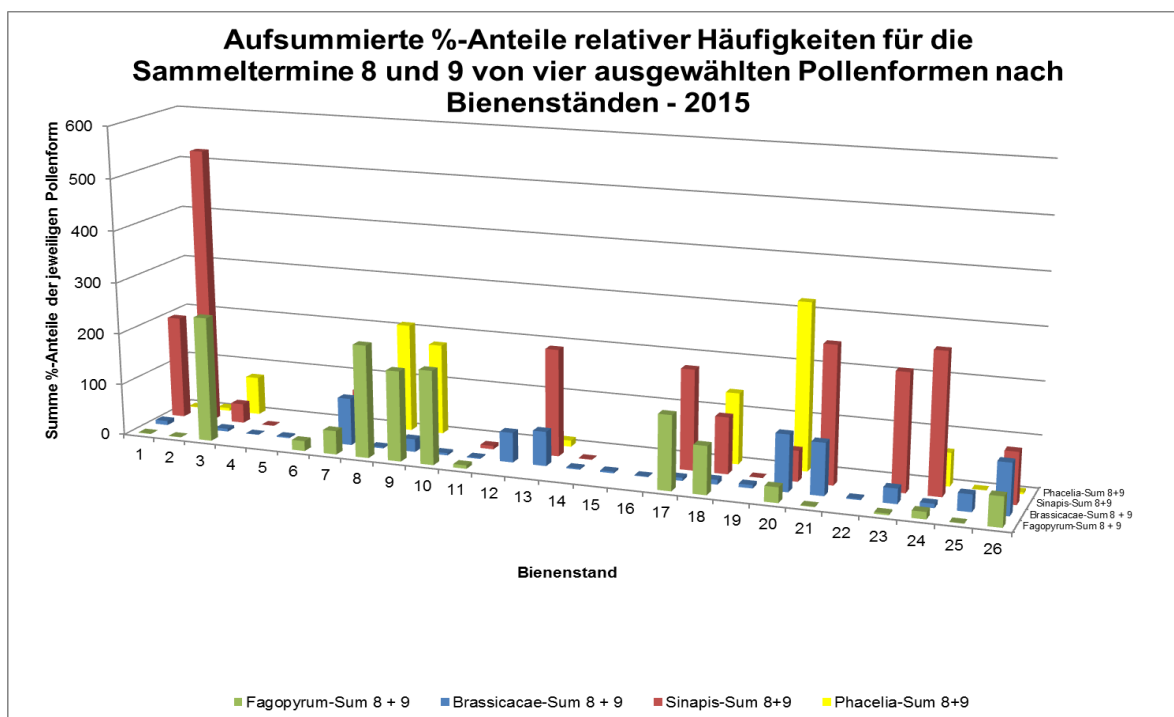


Abbildung 5.23: Nutzung von *Phacelia*, *Fagopyrum*, *Sinapis* und anderer Brassicaceae als Pollenquellen der Bienenvölker auf 26 Versuchsständen im Spätsommer 2015.

5.4 Diskussion

Wir präsentieren in diesem Abschlussbericht die Ergebnisse der ersten groß angelegten Untersuchung des von Honigbienen gesammelten Pollens hinsichtlich seiner Diversität in Österreich für die Jahre 2014 und 2015. Gemeinsam mit der von COLOSS durchgeführten Untersuchung in weiteren europäischen Ländern können diese Ergebnisse auf mittlere Sicht für vergleichende Untersuchungen und Interpretationen herangezogen werden (van der Steen & Brodschneider, 2014).

Alle TeilnehmerInnen dieser Untersuchung erhielten die Ergebnisse der von ihnen gesammelten Pollenproben sofort nach Fertigstellung der Analyse in elektronischer Form zugesandt. Einen Beispieldatensatz haben wir online gestellt: <http://bienenstand.at/uncategorized/c-s-i-pollen-speisekarte-2014/>.

Durch die Mithilfe von ImkerInnen haben wir erstmals die Pollenquellen unserer Honigbienen in Österreich untersuchen können. Mehr als 30 Imkereien haben dabei im Lauf von zwei Jahren 1622 Pollenproben gesammelt und zur Analyse eingesandt. Wir konnten im Lauf des Jahres 2014 203 Pollenformen unterscheiden, 2015 waren es 207. Davon konnten im ersten Jahr 187 (=92,1%) identifiziert und systematischen botanischen Einheiten unterschiedlichen Niveaus zugeordnet werden. Im zweiten Jahr konnten 193 Pollenformen (=93,2%) identifiziert werden. Der Rest entfällt auf noch nicht in der Datenbank vorkommende Pollenformen, die derzeit nicht näher identifiziert werden können.

Von besonderem Interesse in der Bewertung eines Standortes hinsichtlich der Pollendiversität ist zum Beispiel der Vergleich zwischen einem Standort am Land mit einem in der Stadt (Abbildung 5.16 und Tabelle 5.4). Diese Fragestellung hilft uns beim Verständnis, welche Landnutzungstypen in der heute stark vom Menschen geprägten Natur die Honigbiene und andere Bestäuber am

besten mit Pollen versorgen. Diese Frage ist auch in größeren ökologischen Zusammenhängen und der Bewertung unterschiedlicher Habitats zu sehen (Baldock et al., 2015; Hardman et al., 2015). Städtische Strukturen – mit ihrer Vielzahl an anthropogenen Pflanzungen – werden von einigen Autoren sogar als vergleichsweise gute Habitats bewertet (Kaluza et al., 2016), die über eine ganze Saison unterschiedliche Nahrungsquellen bieten. Unsere Untersuchung liefert aufgrund der relativ wenigen in Städten untersuchten Bienenstände nur exemplarische Ergebnisse, die diese Vermutung bestätigen. Weitere Untersuchungen, die gezielt diese Fragestellung betreffen, sind daher notwendig. In Tabelle 5.5a und b verglichen wir 12 verschiedene, hier nicht näher spezifizierte Standorte. Dabei konnten wir durchwegs Unterschiede zwischen den Standorten, sowohl in der Anzahl der eingetragenen Pollensorten als auch in der quantitativen Zusammensetzung des Pollenspektrums erkennen.

Die höchste mittlere Pollendiversität haben die Bienenvölker dieser Untersuchung in beiden Untersuchungsjahren im Mai eingetragen. Zu dieser Zeit konnten über alle Standorte im Durchschnitt etwa 20 verschiedene Pollenformen in den Proben nachgewiesen werden. Sowohl früher im Jahr als auch im September stehen den Bienen allerdings nur etwa 10 verschiedene Pollenquellen zur Verfügung. Allerdings erlaubt die Zahl der unterschiedlichen Pollenquellen nur begrenzte Aussagen über die Quantität und Qualität der den Bienen zur Verfügung stehenden Proteinnahrung (Di Pasquale et al., 2013). Vielmehr muss auch die Qualität der einzelnen Pollen beachtet werden, da einzelne Pollen, etwa jener der Edelkastanie, einen deutlich höheren Nährwert für Honigbienen besitzen als andere Pollenarten (Omar et al., 2017).

Es wurden auch einige Völker beobachtet, die an dem jeweils beprobten Termin überwiegend nur eine Pollenart sammelten (Tabellen 5.2b und 5.3b). Das Ergebnis der vorliegenden Studie zeigt, dass der Polleneinstrom bei einem nicht unbeträchtlichen Anteil der Völker zumindest teilweise von einseitiger Zusammensetzung der Pollenspezies geprägt war. Im Jahr 2014 wurden in 46,1% der Proben Pollenformen mit einer relativen Häufigkeit von > 50% gefunden. Im Jahr 2015 war dies bei 53,7% der Proben der Fall. Besonders häufig waren das die Pollen von Efeu (*Hedera helix*), Senf (*Sinapis* spp.), Weiden (*Salix* spp.), Weißklee (*Trifolium repens*), Wegericharten (*Plantago* spp.), Springkraut (*Impatiens* spp.) oder Edelkastanie (*Castanea sativa*).

Der vorherrschende Eintrag einer einzigen Pollenspezies war bei der letzten Probenahme im September besonders stark ausgeprägt (Tabellen 5.8a und b). Rund 60% der Völker hatten eine Pollenform mit einer Häufigkeit von mehr als 50% eingetragen (Abbildungen 5.19a und b). Hier war zumeist Efeu die vorrangig eingetragene Pollensorte, die bei einzelnen Völkern sogar relative Häufigkeitswerte von weit über 90% in Einzelproben erreichte. Die Bedeutung von Efeu als Pollenspender am Ende der Saison für viele blütenbesuchende Insekten ist bekannt (Garbuzov & Ratnieks, 2014; Teppner & Brosch, 2015). Die in diesem Zeitraum auftretenden Pollensorten werden von Ammenbienen konsumiert, die im Herbst die langlebigen Winterbienen aufziehen, und bei entsprechender Lagerung im Volk als Bienenbrotvorräte dienen. Diese Pollen stellen auch die erste Proteinquelle im Frühjahr dar. Die Identifikation solcher vorherrschender Pollensorten am Ende der Saison ist also wichtig, um in weiteren Schritten den Nährwert dieser Pollensorten für die Larvenaufzucht und Entwicklung der Bienenvölker zu untersuchen (Brodschneider & Crailsheim, 2010; Höcherl et al., 2012; Di Pasquale et al., 2013). Ähnlich hohe Werte erreichten – allerdings etwas früher im Jahr – auch *Rubus* spp. (Himbeeren, Brombeeren), *Trifolium pratense* (Rotklee), *Castanea sativa* (Edelkastanie), *Sinapis* spp. (Senf) oder *Impatiens* spp. (Springkraut). Relative Häufigkeiten von >50 % für bestimmte Pollenformen in Einzelproben im Laufe der Saison stellen also die Regel für Österreichs Bienenvölker dar. Die laut unseren Untersuchungen am häufigsten

in annähernd Reinform vorkommenden Pollensorten sollten in weiterer Folge auf ihren Nährwert für Bienen hin untersucht werden.

Zu all den Überlegungen über die Häufigkeit von Pollensorten muss allerdings angemerkt werden, dass besonders kleine Pollen überproportional häufig gezählt werden. Die von den Bienen mit dem Pollen aufgenommenen Nährstoffmengen hängen sicher stärker von der insgesamt aufgenommenen Pollenmasse als von der Zahl an Pollenkörnern ab (Biesmeijer & Sommeijer, 1992; Biesmeijer et al., 1992). Zusätzlich ist natürlich die Nährstoffzusammensetzung und die Verdaulichkeit der Pollenarten ein weiteres wichtiges Kriterium in der Nährstoffbilanz, insbesondere wenn es um essentielle Aminosäuren oder vielleicht auch Spurenelemente und Vitamine geht.

Dank

Die Untersuchung der Trachtpflanzendiversität konnte nur durch die enge Zusammenarbeit mit den zahlreichen freiwilligen HelferInnen in der Imkerschaft (den sogenannten „Citizen Scientists“) durchgeführt werden. Für deren Einsatz möchten wir uns an dieser Stelle ganz herzlich bedanken.

Veröffentlichungen und Vortragstätigkeit im Zeitraum 01.03.2014–17.11.2017

Projektbezogene Publikationen

Brodschneider R, Gray A, van der Zee R, Adjlane N, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Crailsheim K, Dahle B, Danihlík J, Danneels E, de Graaf DC, Dražić MM, Fedoriak M, Forsythe I, Golubovski M, Gregorc A, Grzęda U, Hubbuck I, Ivgin Tunca R, Kauko L, Kilpinen O, Kretavicius J, Kristiansen P, Martikkala M, Martín-Hernández R, Mutinelli F, Peterson M, Otten C, Ozkirim A, Raudmets A, Simon-Delso N, Soroker V, Topolska G, Vallon J, Vejsnæs F, Woehl S. (2016) Preliminary analysis of loss rates of honey bee colonies during winter 2015/16 from the COLOSS survey. *J. of Apicultural Research* **55**(5), 375–378.

Brodschneider R, Libor A, Kupelwieser V, Crailsheim K. (2017) Food consumption and food exchange of caged honey bees using a radioactive labelled sugar solution. *PLOS ONE* **12**(3), e0174684. doi:10.1371/journal.pone.0174684

Hernández López J, Krainer S, Engert A, Schuehly W, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K (2017) Sublethal pesticide doses negatively affect survival and the cellular responses in American foulbrood-infected honeybee larvae. *Scientific Reports* **7**, 40853 DOI: 10.1038/srep40853

Hernández López J, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K, Schuehly W. (2017) Cuticular hydrocarbon cues of immune-challenged workers elicit immune activation in honey bee queens. *Molecular Ecology* **26**, 3062–3073

Omar E, Abd-Ella AA, Khodairy MM, Moosbeckhofer R, Crailsheim K, Brodschneider R. 2017. Influence of different pollen diets on the development of hypopharyngeal glands and size of acid gland sacs in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* **48**(4), 425–436, DOI:10.1007/s13592-016-0487-x

Otten C, Ozkirim A, Raudmets A, Simon-Delso N, Soroker V, Topolska G, Vallon J, Vejsnæs F, Woehl S. (2016) Preliminary analysis of loss rates of honey bee colonies during winter 2015/16 from the COLOSS survey, *J. of Apicultural Research* **55**(5), 375–378.

Riessberger-Gallé U, Hernández López J, Schuehly W, Crockett S, Krainer S, Crailsheim K. (2015) Immune responses of honeybees and their fitness costs as compared to bumblebees. *Apidologie* **46**, 238–249.

Schuehly W, Crailsheim K, Hernández López J. (2017) Sublethal pesticide exposure launches larval removal behavior in honeybees through chemical cues (*submitted*).

Switanek M, Crailsheim K, Truhetz H, Brodschneider R. (2016): Modelling seasonal effects of temperature and precipitation on honey bee winter mortality in a temperate climate. *Science of the Total Environment* **567**, 1581–1587.

Waibel A, Schühly W, Hernández López J, Riessberger-Gallé U, Strobl V & Crailsheim K. (2016) Akute Vergiftung der Hummel *Bombus terrestris* (LINNAEUS, 1758) durch drei Pestizide und deren Kombination. *Entomologica Austriaca* **23**, 97–107.

Projektbezogene Kongressbeiträge (Poster und Vorträge)

Auer A, Crailsheim K, Hernández-López J, Schuehly W, Riessberger-Gallé U (2015) Effects of a pesticide cocktail on food consumption, learning and food discrimination in honeybees. 62. Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Münster, Deutschland (Poster).

Brodschneider R, Danihlík J, Klíma Z, Tichý Z, Kobza R, Crailsheim K (2014) Comparison of apiculture and winter losses of honey bee colonies in Austria and the Czech Republic. Coloss, Murcia, Spanien (Poster).

Brodschneider R, Mayr J, Moosbeckhofer R, Crailsheim K (2015) Second level investigation of C.S.I. Pollen in Austria: Palynological analysis. The COLOSS Workshop on “CSI pollen”, Kopenhagen, Dänemark (Vortrag).

Brodschneider R (2015) Einbindung von Imkereien in Untersuchungen betreffend die Honigbiene in Europa. 1. Österreichische Citizen Science Konferenz, Wien, Österreich (Hauptbeitrag).

Crailsheim K, Riessberger-Gallé U, Hernández-López J, Schuehly W, Omar E, Brodschneider R (2015) „Zukunft Biene“ – eine integrative Forschungsinitiative zur Bienengesundheit. 62. Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Münster, Deutschland (Hauptvortrag).

Engert A, Hernández-López J, Riessberger-Gallé U, Krainer S, Schuehly W, Crailsheim K (2015) Effects of different pesticides and pathogen exposure on hemocytes in honeybee larvae (*Apis mellifera*). 108. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft, Graz, Österreich (Poster).

Hernández-López J, Schuehly W, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K (2015) Generationsübergreifende Immunität bei der Honigbiene. ÖEG, Salzburg, Österreich (Vortrag).

Köglberger H, Morawetz L, Derakhshifar I, Mayr J, Moosbeckhofer R (2016) *Varroa destructor* infestation rate of bees and overwintering success in the Austrian surveillance programme of the project “Zukunft Biene”. EURBEE7, Cluj Napoca, Rumänien (Poster).

Moosbeckhofer R, Mayr J, Auer W, Heigl H (2014) PONET - online pollen database to be used for second step analysis of C.S.I. pollen samples; C.S.I. Pollen Workshop, Graz (Vortrag).

Moosbeckhofer R (2015) Austrian Monitoring on the effect of pesticides in honeybees. Conference “Field studies and monitoring activities on the effect of pesticides on bees and other pollinators”, Bonn, Deutschland (Hauptvortrag).

Moosbeckhofer R (2015) Die Honigbiene im Spannungsfeld zwischen Landwirtschaft und Umwelt. BOKU-Symposium „Rekultivierungsmaßnahmen für erosive Hochlagenflächen“, Wien, Österreich (Hauptvortrag).

Moosbeckhofer R, Mayr J, Derakhshifar I, Köglberger H, Morawetz L, Crailsheim K (2017) Auswirkungen des Teilverbots der Neonikotinoide auf die Exposition von Bienenständen in Österreich. AG Tagung, Celle, Deutschland (Poster).

Morawetz L, Köglberger H, Derakhshifar I, Mayr J, Moosbeckhofer R (2016) Future of honeybees – Surveillance study. Super-B workshop on surveillance programs across EU, Graz, Österreich (Vortrag).

Morawetz L, Köglberger H, Derakhshifar I, Mayr J, Moosbeckhofer R (2016) Varroabefall österreichischer Bienenvölker (Beobachtungsstudie des Projekts “Zukunft Biene”. 63. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e. V., Braunschweig, Deutschland (Vortrag).

Schuehly W, Krainer S, Engert A, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K (2017) Sublethal pesticide doses negatively affect survival and the cellular responses in American foulbrood-infected honeybee larvae. AG Tagung, Celle, Deutschland (Vortrag).

Strobl V, Riessberger-Gallé U, Hernández-López J, Schuehly W, Crailsheim K (2015) Fly or die? The influence of sub-chronic exposure to different pesticides on the flight performance in honeybees. 62. Tagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V., Münster, Deutschland (Poster).

Strobl V, Schuehly W, Riessberger-Gallé U, Hernández-López J, Crailsheim K (2015) Einfluss von Cypermethrin, Dimethoat und Imidacloprid auf die Flugleistung von Honigbienen. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie, Frankfurt am Main, Deutschland (Poster).

Switaneck M, Brodschneider R, Crailsheim K, Truhetz H (2015) Impacts of Austrian Climate Variability on Honey Bee Mortality. EGU General Assembly, Wien, Österreich (Poster).

Vollmann J, Brodschneider R, Crailsheim K (2015) Nutrient deficiency of larvae – effect on adult honey bees (*Apis mellifera carnica*)? 108. Jahrestagung der Deutschen Zool. Gesellschaft, Graz, Österreich (Poster).

Waibel A, Schuehly W, Hernández-López J, Riessberger-Gallé U, Strobl V, Crailsheim K (2015) Akute Vergiftung von Hummeln (*Bombus terrestris*) durch drei Pestizide und deren Kombination. Entomologentagung der Österreichischen entomologischen Gesellschaft, Salzburg, Österreich (Poster).

Projektbezogene Bachelor- und Masterarbeiten

Auer A (2015) Effects of a pesticide cocktail on food consumption, learning and food discrimination in honeybees. Masterarbeit. Betreuung: Crailsheim C., Riessberger-Gallé U, Schuehly W.

Cujes J (2017) Wintersterblichkeit von Bienenvölkern in Österreich 2015/16. Bachelorarbeit. Betreuung: Brodschneider R & Kalcher-Sommersguter E.

Engert A (2016) Effects of different pesticides and pathogen exposure on hemocyte levels in honeybee larvae (*Apis mellifera*). Betreuung: Hernández López J.

Karner L-M (2016) Analytische Untersuchungen zu Pestiziden in Gelée royale und Bienen. Diplomarbeit. Betreuung: Schühly W.

Klinger S (2015) Untersuchung der Winterverluste 2014/15 von Honigbienenvölkern in Österreich. Bachelorarbeit. Betreuung: Brodschneider R & Kalcher-Sommersguter E.

Papenberg EC (2017) Gegenüberstellung der Sterblichkeit von *Apis mellifera carnica* bei Fütterung dreier Pestizide und deren Mischung. Bachelorarbeit. Betreuung: Hernández López J, Schühly W.

Petrauskaite G (2017) Analytische Untersuchungen zu Clothianidin und Imidacloprid in Bienen und Bienenprodukten. Diplomarbeit. Betreuung: Schühly W.

Strobl V (2014) *Fly or die?* The influence of sub-chronic exposure to different pesticides on the flight performance in honeybees. Betreuung: Riessberger-Gallé U, Hernández López J.

Waibel A (2014) Akute Vergiftung von Hummeln (*Bombus terrestris*) durch drei Pestizide und deren Kombination. Bachelorarbeit. Betreuung: Schuehly W, Riessberger-Gallé U.

Projektbezogene Workshops

Brodschneider R, Kalcher-Sommersguter E, Crailsheim K (2016) Winter losses of honey bee colonies during the winter 2014/15 in Austria. Colony Loss Monitoring Group Workshop, Glasgow, Schottland.

Gray A, Brodschneider R (2016) Review of the COLOSS monitoring group work in 2015. Colony Loss Monitoring Group Workshop, Glasgow, Schottland.

Projektbezogene Vorträge Science to Stakeholders

Brodschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. Winterverluste von Bienenvölkern 2012/13 in Österreich und anderen Ländern. Gesundheitsreferententagung des Österreichischen Imkerbundes, AGES, Wien, 01.04.2014

Brodschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. Winterverluste von Bienenvölkern 2012/13 in Österreich und anderen Ländern. Jahreshauptversammlung Bienenzuchtverein Oberes Feistritztal, St. Kathrein/Hauenstein, 15.03.2014

Brodschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. Winterverluste von Bienenvölkern 2012/13 in Österreich und anderen Ländern. Jahreshauptversammlung Niederösterreichischer Imkerverband, St. Pölten, 22.03.2014

Brodschneider R. Bienenstand, Winterverluste und C.S.I. Pollen. Jahreshauptversammlung Ortsverband Heiligenkreuz am Waasen, Heiligenkreuz am Waasen, 21.02.2014

Brodschneider R. Erhebungen zur Pollendiversität und Winterverlusten der Honigbiene in Österreich. Jahreshauptversammlung Imkerverein Graz-St. Peter, Graz, 01.03.2015

Brodschneider R. Erhebungen zur Pollendiversität und Winterverlusten der Honigbiene in Österreich. Apistischer Vortrag – Landesverband für Bienenzucht in Wien, Wien, 02.03.2015

Brodtschneider R. Erhebungen zur Pollendiversität und Winterverlusten der Honigbiene in Österreich. Steirische Erwerbsimkertagung, Gratkorn, 07.03.2015

Brodtschneider R. Research project bees in the future. Bee Symposium, Wien, 27.11.2015

Brodtschneider R. Winterverluste und Pollendiversität in Österreich. Filmpremiere und Imkersymposium Warth, 25.04.2015.

Brodtschneider R. 2016/17 Winterverluste von Bienenvölkern in Österreich. BMLFUW, Wien, 06.06.2017

Crailsheim K. Zukunft Biene. Kick Off, BMLFUW, Wien, 20.03.2014

Crailsheim K. Zukunft Biene. Meet the Bees, Wien, 03.04.2014

Crailsheim K. Evolution und Sozialität, Physiologie und Ernährung der Honigbiene. Fachtierärzte-Ausbildung, Warth, 09.05.2014

Crailsheim K. Grundlagenforschung zur Förderung des Bienenschutzes und der Bienengesundheit. Wanderlehrertagung, Mayrhofen/Zillertal, 11.10.2014

Crailsheim K. Projektvorstellung „Zukunft Biene“. Bayer, Monheim, Deutschland, 23.03.2015.

Crailsheim K. Projektvorstellung „Zukunft Biene“ – erste Resultate. Fachtierärzte-Ausbildung Steiermark, Takern, 23.09.2016.

Crailsheim K. Die Ernährung der Honigbiene. Internationale Bienenkonferenz, Berlin, 28.3.2017

Crailsheim K. Zukunft Biene. BMLFUW, Wien, 06.06.2017

Crailsheim K. & Brodtschneider, R. Projekt Zukunft Biene. Das neue umfassende Projekt zur Bienengesundheit in Österreich. Erwerbsimkertagung, Graz, 23.02.2014

Derakhshifar I, Morawetz L, Köglberger H. Schulung der ProbenehmerInnen für die Beobachtungsstudie. Oberösterreichisches Imkereizentrum, Linz, 27.05.2015.

Derakhshifar I., Morawetz L., Köglberger H. Schulung der ProbenehmerInnen für die Beobachtungsstudie. Steirische Imkerschule, Graz, 28.05.2015

Köglberger H., Morawetz L. Schulung der ProbenehmerInnen für die Beobachtungsstudie. Imkerhof Salzburg, Koppl bei Salzburg, 11.06.2015.

Moosbeckhofer R. Ergebnisse Bienenexpositionsmonitoring 2013 und Abwicklung für die Jahre 2014 bis 2016. Österreichischer Erwerbsimkerbund, Fachtagung, Graz, 23.02.2014.

Moosbeckhofer R. Vorstellung Projekt „Zukunft Biene“; Gesundheitsreferententagung des Österreichischen Imkerbundes, AGES, Wien, 01.04.2014

Moosbeckhofer R. Zwischenergebnis „Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring 2014 in Fällen mit Vergiftungsverdacht“. Wanderlehrertagung, Mayrhofen/Zillertal, 11.10.2014

Moosbeckhofer R. Bericht über Zwischenergebnisse Projekt Zukunft Biene „Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring 2014“. Gesundheitsreferententagung, Wien, 21.04.2015.

Moosbeckhofer R. Ergebnisse COLOSS-Fragebogenerhebung 2013/2014 und COLOSS-Fragebogenaktion 2015. Gesundheitsreferententagung, Wien, 21.04.2015.

Moosbeckhofer R. Zukunft Biene – Grundlagenforschungsprojekt zur Förderung des Bienenschutzes und der Bienengesundheit. Wanderlehrerfortbildungstagung des Österr. Imkerbundes, Pamhagen, 03.10.2015.

Moosbeckhofer R. Zukunft Biene – Zwischenbericht Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring in Fällen mit Vergiftungsverdacht. Erwerbsimkertagung, Graz, 20.02.2016.

Moosbeckhofer, R. Zukunft Biene – Zwischenbericht Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring in Fällen mit Vergiftungsverdacht. Erwerbsimkertagung, Graz, 20.04.2016.

Moosbeckhofer R. Bienen Expositionsmonitoring 2016 und Vorstellung neuer Forschungsprojekte. Landesimkertag NÖ, St. Pölten, 25.03.2017.

Moosbeckhofer R, Derakhshifar I, Köglberger H, Mayr J, Etter K, Morawetz L. Projekt Zukunft Biene – Kurzberichte zu Ergebnissen der Beobachtungsstudie, Post-hoc Untersuchungen, Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring 2016. Bienentage, Universität Graz, Graz, 22.04.2017.

Moosbeckhofer R, Derakhshifar I, Köglberger H, Mayr J, Etter K, Griesbacher A, Morawetz L. Zukunft Biene – Grundlagenforschungsprojekt zur Förderung des Bienenschutzes und der Bienengesundheit. BMLFUW, Wien, 06.06.2017

Moosbeckhofer R, Mayr J, Morawetz L, Köglberger H, Derakhshifar I. Surveillance Program Module 3, DaFNE Proj. Nr. 100972 „Future of honey bees“. Bee Symposium, Wien, 27.11.2015.

Moosbeckhofer R, Morawetz L, Derakhshifar I, Köglberger H, Mayr J. Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring 2016 in Fällen mit Vergiftungsverdacht. Fachtagung des Österreichischen Erwerbsimkerbundes, Unterpremstätten, 25.02.2017.

Moosbeckhofer R, Morawetz L. Projekt „Zukunft Biene“: Vorstellung und geplanter Ablauf der Module 3a + 3b „Bienenstands-Beobachtungsprogramm“, und „Post-hoc-Untersuchungen“. Gesundheitsreferententagung, Wien, 21.04.2015.

Moosbeckhofer R., Morawetz L., Derakhshifar I., Köglberger H., Mayr J. Zwischenergebnis „Bienen Gesundheits- und Expositionsmonitoring 2014 in Fällen mit Vergiftungsverdacht“. NÖ-Landesimkertag, St. Pölten, 21.03.2015.

Morawetz L. Zukunft Biene – Zwischenergebnisse der Bienenstand-Beobachtungsstudie 2015. Erwerbsimkertagung, Graz, 20.02.2016.

Morawetz L., Derakhshifar I., Köglberger H., Mayr J, Moosbeckhofer R. Zukunft Biene – Beobachtungsstudie: eine kurze Einführung. Gesundheitsreferententagung, Wien, 21.4.2015.

Morawetz L., Derakhshifar I., Köglberger H., Mayr J, Moosbeckhofer R. Vorschau 2015: Beobachtungsstudie. BMLFUW, Wien, 22.05.2015.

Morawetz L., Köglberger H., Derakhshifar I., Mayr J., Moosbeckhofer R. Beobachtungsstudie – erste Ergebnisse. Wanderlehrerfortbildungstagung des Österr. Imkerbundes, Pamhagen, 03.10.2015.

Projektbezogene Vorträge Science to Public

Crailsheim K. Das Bienensterben, Fakten statt Emotionen. Landwirtschaftliche Fachschule Vöcklabruck, 28.03.2014

Crailsheim K. Zukunft Biene. Uni-Rat, Graz, 17.05.2014

Crailsheim K. Honigbienensterben. Interessen, Ängste, Fakten. Club Alpbach, Graz, 10.11.2014

Crailsheim K. Das Bienensterben – eine aktuelle Bedrohung in Österreich? Rotary Feldbach, 26.05.2015.

Crailsheim K. Warum sterben die Bienen? Rotary Gleisdorf; Gleisdorf, 13.04.2016

Crailsheim K. Bienensterben in Österreich. Urania; Rottenmann, 19.05.2016

Crailsheim K. Schutzmechanismen in der Perspektive der Evolutionsbiologie. Grazer Psychiatrisch-Psychosomatische Tagung, Graz, 19.01.2017

Crailsheim K. 10 Jahre Untersuchung des Bienensterbens in Österreich. Grazer Messe, Graz, 29.04.2017

Crailsheim K. Das Honigbienensterben – ist es bedeutsam? Rotary Graz, Graz, 22.05.2017.

Crailsheim K. Nahrungssicherheit: Ist die Bestäubung unserer Pflanzen durch das Bienensterben gefährdet? Pfarrei Pöls am 9.11.17

Crailsheim K. Nahrungssicherheit: Ist die Bestäubung unserer Pflanzen durch das Bienensterben gefährdet? Pfarrei Kapfenberg am 14.11.17

Crailsheim K. Nahrungssicherheit: Ist die Bestäubung unserer Pflanzen durch das Bienensterben gefährdet? Pfarrei Kraubath am 16.11.17

Hernández López J. Abejas de la miel; estresores afectando a su salud, inmunología y comunicación química. X. Jornadas del Almendro, research talks for students at the University of La Laguna, Tenerife, Tenerife, Spain, 29.12.2016.

Hernández López J a) Cría de reinas para la conservación de la raza canaria. b) Introducción al Loque Americano y la *Varroa*. Spanish National Beekeeping Congress, Gran Canaria, Spain, 02.11.2016.

Moosbeckhofer R. Ursachen von Bienenschäden und Völkerverlusten. Universität für Bodenkultur, Wien, 21.10.2014

Projektbezogene Beiträge in den Medien

Brodschneider R, Mayr J, Crailsheim K (2014) C.S.I. Pollen – Großräumige Untersuchung der Pollendiversität. Bienen Aktuell, Februar: 17-18.

Brodschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K (2014) Winterverluste von Bienenvölkern 2012/13 in Österreich und anderen Ländern. Bienen Aktuell, April: 32-35.

Brodschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K (2016) Erhebung der Winterverluste 2015/16 und Ergebnisse des Vorjahres. Bienen Aktuell, April: 29-31.

Brodschneider R., Moosbeckhofer R., Crailsheim C. (2017) Zehnte Erhebung der Winterverluste 2016/17 nach sehr niedrigen Verlusten im Vorjahr. Bienen Aktuell, April, 20-23.

Brodschneider R., Moosbeckhofer R., Crailsheim K. (2015) Die Überwinterung von Bienenvölkern in Österreich und anderen Ländern 2013/14. Bienen Aktuell, April: 21-23.

Crailsheim K. (2016) ORF Radio Steiermark – Journal um 12.30 Uhr.

Crailsheim K. (2017) ORF Radio Steiermark – Guten Morgen, Steiermark.

Crailsheim K., Brodschneider R. (2015) Zurück zur Natur – Spezial: Bienenland Österreich. 25.6.2015. ORF2

Köglberger H, Moosbeckhofer R, Derakhshifar I, Etter K, Mayr J, Schwarz M, Stadlmüller L (2014) Verluste von Bienenvölkern während der Überwinterung oder bei Verdacht auf Bienenfrevell – was waren die Ursachen? (Teil 2). Bienen Aktuell, Mai: 28-31.

Moosbeckhofer R. (2015) Pflanzenschutz und Bienen – Verantwortung für Tier und Produkt. In Landwirtschaftskammer Österreich: Symbiose. Imkerei und Landbewirtschaftung – eine spannende Partnerschaft (S. 43-47).

Morawetz L, Brodschneider R, Crailsheim K, Derakhshifar I, Köglberger H, Mayr R, Moosbeckhofer R (2016) Varroabefall und Winterverluste in der Beobachtungsstudie des Projekts „Zukunft Biene“. Bienen Aktuell, Dezember: 16-19.

Projektbezogene Nennungen in den Medien

Österreich. 04.03.2014. Experten-Gipfel soll Bienen retten.

Österreich. 19.03.2014. Grazer Uni forscht zum Bienen-Leben.

kleinezeitung.at. 20.03.2014. Umweltminister lässt mit 2,4 Millionen Euro forschen.

derstandard.at. 20.03.2014. 2,4 Millionen für Ursachenforschung des Bienenschwunds.
<http://derstandard.at/1395057234587/24-Mio-Euro-fuer-Ursachenforschung-des-Bienenschwunds>

aiz.info (Agrarisches Informationszentrum). 20.03.2014. Forschungsprojekt „Zukunft Biene“ gestartet.

on.uni-graz.at. 20.03.2014. Zukunft Biene: Uni Graz federführend bei Projekt des Lebensministeriums.
<http://on.uni-graz.at/de/forschen/article/zukunft-biene-2/>

Lebensministerium. 20.03.2014. Bundesminister Rupprechter: Forschungsprojekt für Bienengesundheit gestartet.
http://www.bmlfuw.gv.at/presse/archiv_2014/umwelt/140320ZukunftBiene.html

Wienerzeitung. 20.03.2014. Der Pakt für die Biene.
http://www.wienerzeitung.at/nachrichten/oesterreich/politik/616644_Der-Pakt-fuer-die-Biene.html

APA-Science. 20.03.2014. Bienensterben – Umweltminister lässt mit 2,4 Mio. Euro forschen.

Österreichische Bauern Zeitung. 20.03.2014. Rupprechter sieht „keine Notwendigkeit“ für Notfallzulassung von Goldor Bait. <http://www.bauernzeitung.at/?id=2500,1042527,,>

oe24.at. 20.03.2014. 2,4 Mio. Euro gegen Bienensterben.
<http://www.oe24.at/oesterreich/politik/2-4-Mio-Euro-gegen-Bienensterben/136707109>

Nachrichten.at. 20.03.2014. 2,4 Millionen Euro für Forschung gegen Bienensterben.
<http://www.nachrichten.at/nachrichten/chronik/2-4-Millionen-Euro-fuer-Forschung-gegen-Bienensterben;art58,1337091>

Kurier.at. 20.03.2014. Umweltminister will Bienensterben erkunden. Rupprechter hat das Projekt „Zukunft Biene“ angekündigt. Es soll bis 2017 die Ursachen des Bienensterbens klären.
<http://kurier.at/politik/inland/umweltminister-will-bienensterben-erkunden/56.863.202>

Imkerbund.at. 20.03.2014. Winterverluste 2013/14: Verlustrate zurückgegangen.
<https://www.imkerbund.at/winterverluste-2013-14-verlustrate-zurueckgegangen+2500+1133054?env=bW9kZT1uZXh0JnBhZ2luZz15ZXNfXzQwJmN0PTQyJmJhY2s9MSZjZD00Mg>

Wiener Zeitung. 21.03.2014. Der Pakt für die Biene.

Tiroler Tageszeitung. 21.03.2014. „Ich bin fast im Bienenstock aufgewachsen“.

Ausseer Regionalfernsehen. 21.03.2014. Zukunft Biene: Uni Graz startet Millionenprojekt zur Gesundheit der Insekten.

Österreich. 21.03.2014. Grazer Forscher sollen die Bienen retten.

Kronen Zeitung. 22.03.2014. Die Universität Graz erforscht jetzt das große Bienensterben.

Raiffeisenzeitung. 27.03.2014. Mehr als Honig.

Vorarlberger Nachrichten. 03./04.05.2014. Fleißige Helfer müssen auch weiterhin summen.

Landwirtschaftliche Mitteilungen. 15.06.2014. Weniger Winterverluste.

Ausseer Regionalfernsehen. 05.06.2014. Uni Graz untersucht Wintersterblichkeit von Bienenvölkern.

salzburg.com. 05.06.2014. Winter-Bienensterben leicht gesunken.
<http://www.salzburg.com/nachrichten/oesterreich/chronik/sn/artikel/winter-bienensterben-leicht-gesunken-109419/>

science.apa.at. 05.06.2014. Bienensterben: Winterverluste leicht gesunken.

Format.at. 05.06.2014. Studie: Bienensterben noch immer über dem Durchschnitt.
<http://www.format.at/leben/gesundheit/studie-bienensterben-durchschnitt-375790>

Kleinezeitung.at. 05.06.2014. Deutlich weniger Bienen über Winter gestorben.
http://www.kleinezeitung.at/s/steiermark/graz/4160975/Grazer-Studie_Deutlich-weniger-Bienen-uber-Winter-gestorben?from=suche.intern.portal

steiermark.orf.at. 05.06.2014. Bienensterben im Winter zurückgegangen.

derstandard.at. 05.06.2014. Winterverluste unter heimischen Bienenvölkern leicht gesunken.
<http://derstandard.at/2000001810253/Winterverluste-unter-Bienenvoelkern-laut-Uni-Graz-leicht-gesunken>

Steiermark-Zeitung von Österreich. 06.06.2014. Winterverluste sind leicht gesunken. Bienentod eingebremst.

kleinezeitung.at/karriere. 06.06.2014. Die Honigbiene im Blickpunkt der Forschung.

kurier.at/lebensart. 06.06.2014. Woran sterben die Honigbienen?
<http://kurier.at/lebensart/leben/woran-sterben-die-honigbienen/69.037.932>

Salzburger Nachrichten. 06.06.2014. Bienensterben fiel im Winter geringer aus.

blickinsland.at. 09.06.2014. Wintersterblichkeit bei Bienen zurückgegangen.
<http://www.blickinsland.at/news-standard/news-detail/article/wintersterblichkeit-bei-bienen-zurueckgegangen-7953.html>

Tiroler Tageszeitung. 10.06.2014. Mehr Bienen haben überlebt.

Die Presse. 15.06.2014. Bienensterben: Die Forscher sollen Ursachen klären.

Die Presse. 21.11.2014. Zoologie: Bienensterben passiert im Winter.
http://diepresse.com/home/science/4601603/Zoologie_Bienensterben-passiert-im-Winter?from=suche.intern.portal

Salzburger Nachrichten. 13.02.2015. Imker fürchten um ihre Bienen.

Kleine Zeitung. 31.03.2015. Imker klagen über Bienensterben.

DiePresse.com. 21.04.2015. Bienensterben: „Wird eigentlich jedes Jahr ärger“
http://diepresse.com/home/leben/gruenerleben/4713785/Bienensterben_Wird-eigentlich-jedes-Jahr-aerger-

BVZ.at. 21.04.2015. Burgenland unterstützt Bienenschutz. <http://www.bvz.at/nachrichten/bgld/wirtschaft-verkehr/Burgenland-unterstuetzt-Bienenschutz;art79584,626363>

salz-tv.at. 12.05.2015. Maßnahmen gegen das Bienensterben – neue Studie – Oberösterreich wird aktiv.
<http://www.salz-tv.at/?p=194345>

Falter. 13.05.2015. 140 Zeichen.

Bauernzeitung. 22.05.2015. Österreichs Felder bleiben gentechnikfrei.

ZIB. 02.06.2015. Bienensterben.

ots.at. 02.06.2015. IGP: Bienenverluste zeigen: Moratorium Neonics hat sein Ziel verfehlt.

buergermeisterzeitung.info. 02.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

arf.at. 02.06.2015. Erhöhte Verluste von Bienenvölkern im Winter 2014/15 in Österreich.

salzburg.com. 02.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

msn.at. 02.06.2015. Trauriger Rekord: Ein Viertel der Bienenvölker hat den Winter nicht überlebt.

taxi40100.at. 02.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

science.apa.at. 02.06.2015. Uni Graz: Winter-Rekordverlust bei Bienen.

bvz.at. 02.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten.

volksblatt.at. 02.06.2015. Grazer Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

nachrichten.at. 02.06.2015. Grazer Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

heute.at. 02.06.2015. Bienensterben in Österreich hat im Winter zugenommen.

orf.at. 02.06.2015. Großes Bienensterben im Winter.

noen.at. 02.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten.

kleinezeitung.at. 02.06.2015. Ausfälle sind so groß wie nie.

kurier.at. 02.06.2015. Großes Bienensterben in Österreich. Österreicher haben 28,5 Prozent der Völker den Winter nicht überlebt. Das melden Grazer Zoologen.

Tiroler Tageszeitung. 03.06.2015. Rekordverlust bei Bienen.

Der Standard. 03.06.2015. Mehr als ein Viertel aller Bienen im Winter verendet.

Salzburger Nachrichten. 03.06.2015. Heimische Bienen haben im Winter gelitten.

Kleine Zeitung. 03.06.2015. Imker: So hohe Ausfälle wie nie.

Die Presse. 03.06.2015. Ein Viertel der Bienen überlebte Winter nicht.

aiz.info. 03.06.2015. IGP zu Bienenverlusten: Neonic-Moratorium hat sein Ziel verfehlt.

wienerzeitung.at. 03.06.2015. Schwere Verluste bei Bienenvölkern.

krone.at. 03.06.2015. 28,5% der Bienenvölker überlebten Winter nicht.

krone.at. 03.06.2015. Große Verluste bei Bienenvölkern.

pressemeldungen.com. 03.06.2015. Anshober: Bienenschädiger endgültig aus dem Verkehr ziehen – Bienenschutz geht vor Gewinninteressen der Pestizidkonzerne.

salzburg24.at. 03.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

austria.com. 03.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

topagrar.at. 03.06.2015. Neonics doch nicht Schuld am Bienensterben?

vienna.at. 03.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

vol.at. 03.06.2015. Zoologen melden Höchststand bei Bienenverlusten im Winter.

lebensmittelcluster.at. 03.06.2015. Uni Graz: Winter-Rekordverlust bei Bienen.

Österreich. 03.06.2015. Steirische Bienen sind robuster.

Kurier. 03.06.2015. Im vergangenen Winter starben mehr Bienenvölker als jemals zuvor.

Kronen Zeitung. 03.06.2015. Große Verluste bei Bienenvölkern.

lebensmittelcluster.at. 04.06.2015. Höchststand bei Bienenverlusten im Winter gemeldet.

Blick ins Land. 05.06.2015. Industrie: „Neonics-Moratorium hat Ziel verfehlt“.

Vorarlberger Nachrichten. 08.06.2015. 28 Prozent der Bienenvölker sind tot.

Unizeit. 09.06.2015. Biene in Bedrängnis.

ots.at. 25.06.2015. Ö1-Wirtschaftsmagazin „Saldo“ am 26.6: „Waben-Wirtschaft“.

Ö1-Wirtschaftsmagazin „Saldo“ .26.06.2015. Wabenwirtschaft.

ots.at. 02.07.2015. GLOBAL 2000 Faktencheck: die unrichtigen Darstellungen der Pestizidindustrie.
http://www.ots.at/presseaussendung/OTS_20150702_OTS0042/ global-2000-faktencheck-die-unrichtigen-darstellungen-der-pestizidindustrie

ots.at. 10.08.2015. Bienen fördern – leicht gemacht: neues Poster mit Pickerln.
http://www.ots.at/presseaussendung/OTS_20150810_OTS0056/ bienen-foerdern-leicht-gemacht-neues-poster-mit-pickerln

agrارheute.com. 17.08.2015. Trotz Neonicotinoidverbot mehr Bienen verendet.
http://www.agrarheute.com/neonicotinoide-raps?utm_source=agrارheute&utm_medium=Newsletter&utm_campaign=ah-newsalarm&utm_content=2015-08-17-19uhr

Bienen aktuell. 01.11.2015. Im Gespräch mit Dr. Rudolf Moosbeckhofer.

Bienen aktuell. 01.11.2015. 43 Prozent der Bienenvölker über kritischer Schadschwelle.

Kleine Zeitung. 17.12.2015. Sternstunden der Forschung. Bienen werden untersucht.

Kleine Zeitung. 30.03.2016. Unsere Bienen und ihre Feinde.

OTS.at. 11.04.2016. IGP begrüßt Registrierung von Bienenstöcken.
http://www.ots.at/presseaussendung/OTS_20160411_OTS0041/ igp-begruesst-registrierung-von-bienenstoecken

OTS.at. 13.04.2016. Industriegruppe Pflanzenschutz (IGP) weiterhin uneinsichtig zum Beitrag von Pestiziden an Bienenschäden.
http://www.ots.at/presseaussendung/OTS_20160413_OTS0012/ industriegruppe-pflanzenschutz-igp-weiterhin-uneinsichtig-zum-beitrag-von-pestiziden-an-bienenschaeden

Kurier.at. 17.05.2016. Salzburg: Schädling vernichtet Bienenlarven.
<http://kurier.at/chronik/oesterreich/salzburg-schaedling-vernichtet-bienenlarven/199.340.064>

Science.apa.at. 24.05.2016. Zoologen melden geringe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

Steiermark.orf.at. 24.05.2016. Geringe Verluste bei Bienenvölkern im Winter.
<http://steiermark.orf.at/news/stories/2776004/>

Kleinezeitung.at. 24.05.2016. Zoologen melden geringe Winterverluste bei Bienen.
http://www.kleinezeitung.at/s/steiermark/chronik/4995450/Tierwelt_Zoologen-melden-geringe-Winterverluste-bei-Bienen

Nachrichten.at. 24.05.2016. Zoologen melden geringe Winterverluste bei Bienen.
<http://www.nachrichten.at/nachrichten/chronik/Zoologen-melden-geringe-Winterverluste-bei-Bienen;art58,2242326>

Orf.at. 24.05.2016. Geringe Verluste bei Bienenvölkern im Winter. <http://orf.at/stories/2340832/>

Kurier.at. 24.05.2016. Bienenvölker haben gut überwintert.

Kronen Zeitung. 25.05.2016. Bienensterben nahm wieder ab.

Kurier.at. 25.05.2016. Im Winter starben weniger Bienen.

Tiroler Tageszeitung. 25.05.2016. Bienen haben gut überwintert.

Salzburg Heute. 25.05.2016. Geringe Verluste bei Bienen im Winter.

Dolomiten. 25.05.2016. 5,1% beträgt die Verlustrate bei den Bienenvölkern in Nordtirol nach dem Winter 2015/2016.

Dolomiten. 25.05.2016. Vermischtes.

- Salzburg.com. 25.05.2016. Mehr Bienen als sonst kamen durch den Winter.
<http://www.salzburg.com/nachrichten/wissen/sn/artikel/mehr-bienen-als-sonst-kamen-durch-den-winter-197813/>
- derstandard.at 26.05.2016. Nur geringe Winterverluste bei Österreichs Bienen.
<http://derstandard.at/2000037565305/Nur-geringe-Winterverluste-bei-Oesterreichs-Bienen>
- Wiener Zeitung. 25./26.05.2016. Geringe Bienenverluste.
- Meinbezirk.at. 26.05.2016. Geringe Bienenverluste im heurigen Winter.
- Kurier. 27.05.2016. Später Frost, weniger Honig.
- DiePresse.com. 27.05.2016. Winter brachte geringeres Bienensterben.
- Kleine Zeitung. 28.05.2016. Die Bienen kamen gut über den Winter.
- Die Presse. 28.05.2016. Winter brachte geringeres Bienensterben.
- Salzburger Nachrichten. 28.05.2016. Heuer gibt es in Salzburg kein Bienensterben.
- Blickinsland.at. 29.05.2016. Bienenverluste gingen letzten Winter zurück.
- Universum Magazin 6/7. 01.07.2016. Bienen: Heuer geringe Bienenverluste.
- Kleinezeitung.at. 25.07.2016. Österreich: Geringe Bienenverluste im vergangenen Winter.
http://www.kleinezeitung.at/oesterreich/5057122/Im-Europavergleich_Oesterreich_Geringe-Bienenverluste-im-Winter
- Salzburg24.at. 25.07.2016. Österreichs Bienenverluste im Winter vergleichsweise niedrig.
http://www.salzburg24.at/oesterreichs-bienenverluste-im-winter-vergleichsweise-niedrig-2/apa-s24_1431018560
- derstandard.at. 26.07.2016. Heimische Bienenverluste fielen im Europavergleich niedrig aus.
<http://derstandard.at/2000041776314/Heimische-Bienenverluste-fielen-im-Europavergleich-niedrig-aus>
- News.at. 24.08.2016. Bienensterben. Wie es den Bienen geht. <http://www.news.at/a/bienensterben-7511696>
- Steiermark.orf.at. 08.02.2017. Pestizide für Bienen gefährlicher als gedacht.
<http://steiermark.orf.at/news/stories/2824631/>
- Kleine Zeitung. 09.02.2017. Imker fürchten heuer hohe Bienenverluste.
- diepresse.com. 10.02.2017. Pestizideinsatz kann jungen Bienen schaden.
<http://diepresse.com/home/science/5168139/Pestizideinsatz-kann-jungen-Bienen-schaden>
- Die Presse. 11.02.2017. Pestizideinsatz kann jungen Bienen schaden.
- Kleine Zeitung. 09.03.2017. Wie eine Bienenkönigin ihren Nachwuchs schützt.
- kleinezeitung.at. 09.03.2017. Wie eine Bienenkönigin ihren Nachwuchs schützt.
http://www.kleinezeitung.at/steiermark/bildung/5180486/Universitaet-Graz_Wie-eine-Bienenkoenigin-ihren-Nachwuchs-schuetzt
- Österreich. 09.03.2017. Neue Erkenntnisse über Bienenkönigin.
- uni.on. 06.04.2017. Bestäuber, Pollen, Pestizide.
- kleinezeitung.at. 09.04.2017. Die flotten Bienen sind unterwegs.
http://www.kleinezeitung.at/steiermark/muerztal/5197671/Bientage_Die-flotten-Bienen-sind-unterwegs
- Kleine Zeitung. 09.04.2017. Die flotten Bienen sind unterwegs.

Kurier. 09.04.2017. Ihre Daten für die Forschung.

Die Presse. 27.05.2017. Als die Tiere aus der Luft verschwanden.

tt.com. 12.06.2017. Hohe Winterverluste bei Bienen vor allem in Westösterreich.

kleinezeitung.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.
<http://www.kleinezeitung.at/service/newsticker/5233513/Zoologen-melden-hohe-Winterverluste-bei-Bienen-in-Oesterreich>

vienna.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

salzburg24.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.
<http://www.salzburg24.at/zoologen-melden-hohe-winterverluste-bei-bienen-in-oesterreich/5018935>

salzburg.com. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

noen.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen.

bvz.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen.

osttirol-online.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

msn.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

volksblatt.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

studium.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

nachrichten.at. 12.06.2017. Zoologen schlagen Alarm: Hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.
<http://www.nachrichten.at/nachrichten/chronik/Zoologen-schlagen-Alarm-Hohe-Winterverluste-bei-Bienen-in-OEsterreich;art58,2593158>

taxi40100.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

kurier.at. 12.06.2017. Bienenvölker: Ein Viertel hat Winter nicht überlebt.

science.apa.at. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

krone.at. 12.06.2017. Ö: 23% der Bienen haben Winter nicht überlebt. <http://www.krone.at/wissen/oe-23-prozent-der-bienen-haben-winter-nicht-ueberlebt-hohe-verluste-story-573737>

derstandard.at. 12.06.2017. Grazer Forscher melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.
<http://derstandard.at/2000059133078/Forscher-melden-hohe-Winterverluste-bei>

volksblatt.at. 12.06.2017. Hohe Winterverluste bei Bienen.

wienerzeitung.at. 12.06.2017. Viele Bienen haben den Winter nicht überlebt.
http://www.wienerzeitung.at/themen_channel/wissen/natur/897719_Viele-Bienen-haben-den-Winter-nicht-ueberlebt.html

orf.at. 12.06.2017. Viertel der Bienenvölker hat Winter nicht überlebt.

orf.at. 12.06.2017. Kalter Winter sorgte bei Bienen für hohe Verluste.

orf.at. 12.06.2017. Kalter Winter sorgte für hohe Verluste bei Bienen.

aiz.info. 12.06.2017. Hohe Bienenverluste im vergangenen Winter in Österreich.

austria.com. 12.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

heute.at. 12.06.2017. Bienensterben: Bald kein Honig „Made in A“ mehr?

arf.at. 12.06.2017. Winterverluste bei Honigbienen: aktuelle Zahlen der Uni Graz zeigen große regionale Unterschiede.

buergermeisterzeitung.info. 12.06.2017. Winterverluste bei Honigbienen: aktuelle Zahlen der Uni Graz zeigen große regionale Unterschiede.

on.uni-graz.at. 12.06.2017. Winterverluste bei Honigbienen. <https://on.uni-graz.at/de/detail/article/winterverluste-bei-honigbienen/>

steiermark.orf.at. 12.06.2017. Kalter Winter sorgte für hohe Verluste bei Bienen. <http://steiermark.orf.at/news/stories/2848611/>

lebensmittelcluster.at. 13.06.2017. Zoologen melden hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

kleinezeitung.at. 13.06.2017. Tiere ohne Lobby.

bauernzeitung.at. 13.06.2017. Hohe Bienenverluste im vergangenen Winter in Österreich.

Neues Volksblatt. 13.06.2017. Hohe Winterverluste bei Bienen.

Salzburger Nachrichten. 13.06.2017. Kalter Winter: Ein Viertel aller Bienen erfroren.

Tiroler Tageszeitung. 13.06.2017. Hohe Verluste bei Bienen.

Tiroler Tageszeitung. 13.06.2017. Jede vierte Biene überlebte nicht.

Oberösterreichische Nachrichten. 13.06.2017. Viele Bienen kamen nicht über den Winter.

Österreich. 13.06.2017. Sterben der Bienen noch viel schlimmer.

Kurier. 13.06.2017. Viele Bienenvölker überlebten Winter nicht.

Heute. 13.06.2017. Bienensterben wird schlimmer!

Kurier. 13.06.2017. Viele Bienenvölker haben den Winter nicht überlebt.

Kleine Zeitung. 13.06.2017. Bienenwelt aus dem Gleichgewicht.

Kronen Zeitung. 13.06.2017. Milben im Winter, Gift im Sommer: Bienen sterben.

Österreich. 13.06.2017. Ein Viertel aller Bienen gestorben.

heute leben. 13.06.2017. Bienensterben in Österreich. <http://tvthek.orf.at/profile/heute-leben/4660213/heute-leben/13933745>

derstandard.at. 14.06.2017. Hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

orf.at. 14.06.2017. Jedes dritte Bienenvolk abgestorben.

vorarlbergernachrichten.at. 14.06.2017. Die Bienenvölker sind von Todesviren bedroht.

Der Standard. 14./15.06.2017. Hohe Winterverluste bei Bienen in Österreich.

vol.at. 15.06.2017. Bienensterben in Vorarlberg geht weiter.

Neues Land. 15.06.2017. Der Winter war tödlich.

austria.com. 15.06.2017. Bienensterben in Vorarlberg geht weiter.

Vorarlberger Nachrichten. 15./16.06.2017. Die Bienenvölker sind von Todesviren bedroht.

orf.at. 5.10.2017. Insektizide in Honigproben gefunden.

Kleine Zeitung Nov. 2017. Ein „super Organismus“ landet in Pöls.

Literaturzitate

Alaux C, Allier F, Decourtye A, Odoux J-F, Tamic T, Chabirand M, Delestra E, Decugis F, Le Conte Y, Henry M. (2016) A 'Landscape physiology' approach for assessing bee health highlights the benefits of floral landscape enrichment and semi-natural habitats. *Scientific Reports* **7**, 40568. Doi:10.1038/srep40568.

Alaux C, Brunet J-L, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M, Brillard J, Baldy A, Belzunces LP, Le Conte Y. (2010) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology* **12**, 774–782.

Alburaki M, Cheaib B, Quesnel L, Mercier P-L, Chagnon M, Derome N. (2016) Performance of honeybee colonies located in neonicotinoid-treated and untreated cornfields in Quebec. *J. of Applied Entomology*. **141**, 112–121, Doi: 10.1111/jen.12336

Amdam FV, Hartfelder K, Norberg K, Hagen A, Omholt SW (2004) Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering? *J. of Economic Entomology* **97**, 741–747.

Amiri E, Meixner M, Nielsen SL, Kryger P. (2015) Four Categories of Viral Infection Describe the Health Status of Honey Bee Colonies. *PLOS ONE* **10**(10): e0140272.

Anguiano-Baez R, Guzman-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Espinosa-Monta LG, Correa-Benitez A. (2016) *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) parasitism and climate differentially influence the prevalence, levels, and overt infections of deformed wing virus in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Science* **16**(1), 44. Doi:10.1093/jisesa/iew029.

Annoscia D, Zanni V, Galbraith D, Quirici A, Grozinger C, Bortolomeazzi R, Nazzi F (2017) Elucidating the mechanisms underlying the beneficial health effects of dietary pollen on honey bees (*Apis mellifera*) infested by *Varroa* mite ectoparasites. *Scientific Reports* **7**, 6258.

Atkins EL, Greywood EA, Macdonald RL. (1975) Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honeybees. University of California, Leaflet 2287, 38 pp.

Aupinel P, Fortini D, Michaud B, Marolleau F, Tasei J-N, Odoux J-F. (2007) Toxicity of dimethoate and fenoxycarb to honey bee brood (*Apis mellifera*), using a new *in vitro* standardized feeding method. *Pest Management Science* **63**, 1090–1094

Aupperle H, Genersch E. (2016) Diagnostischer Farbatlas der Bienenpathologie. Verlag LABOKLIN, Bad Kissingen, Deutschland.

Awan NK, Truhetz H, Gobiet A. (2011) Parameterization induced error-characteristics of MM5 and WRF operated in climate mode over the Alpine Region: An ensemble based analysis. *J. of Climate* **24**(12), 3107–3123.

Bacandritsos N, Granato A, Budge G, Papanastasiou I, Roinioti E, Caldon M, Falcaro C, Gallina A, Mutinelli F. (2010) Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *J. of Invertebrate Pathology* **105**, 335–340.

Bakonyi T, Grabensteiner E, Kolodziejek J, Rusvai M, Topalska G, Ritter W, Nowotny N. (2002) Phylogenetic analysis of Acute Bee Paralysis virus strains. *Applied and Environmental Microbiology* **68**(12), 6446–6450.

Baldock KCR, Goddard MA, Hicks DM, Kunin WE, Mitschunas N, Osgathorpe LN, Potts SG, Robertson KM, Scott AV, Stone GN, Vaughan IP, Memmott J. (2015) Where is the UK's pollinator biodiversity? The importance of urban areas for flower-visiting insects. *Proceedings of the Royal Society B* **282**, 20142849.

Baracchi D, Fadda A, Turillazzi S. (2012) Evidence for antiseptic behaviour towards sick adult bees in honey bee colonies. *J. of Insect Physiology* **58**, 1589–1596.

Barth OM, Freitas AS, Oliveira ES, Silva RA, Maester FM, Andrella RRS, Cardozo GMBQ. (2010) Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **82**(4), 893–902.

Bates D, Maechler M, Bolker B, Walter S. (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J. of Statistical Software* **67**(1), 1–48. doi:10.18637/jss.v067.i01.

Bauernzeitung (2014) Bienen starben an verunreinigtem Pflanzenschutzmittel. Bauernzeitung online, Nordwestschweiz (Publiziert: 10.11.2014): <http://www.bauernzeitung.ch/news-archiv/2014/11/10/be-bienen-starben-an-verunreinigtem-pflanzenschutzmittel.aspx>

Baxter J R, Elzen P J, Wilson W T. (1999): Gardstar 40% EC (Permethrin) efficacy trials as a ground drench for the control of small hive beetle around honey bee colonies, Tektran, *USDA Agric. Res. Serv.*, 1 p.

Belzunces LP, Tchamitchian S, Brunet J-L. (2012) Neural effects of insecticides in the honey bee. *Apidologie* **43**, 348–370.

Benaets K, Van Geystelen A, Cardoen D, De Smet L, de Graaf DC, Schoofs L, Larmuseau MHD, Brettell LE, Martin SJ, Wenseleers T. (2017) Covert deformed wing virus infections have long-term deleterious effects on honeybee foraging and survival. *Proceedings of the Royal Society B* **284**, 20162149.

Berényi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Köglberger H, Nowotny N. (2006) Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Applied and Environmental Microbiology* **72**(4), 2414–2420.

Berry JA, Owens WB, Delaplane KS. (2010) Small-cell comb foundation does not impede Varroa mite population growth in honey bee colonies. *Apidologie* **41**(1), 40–44.

Berthoud H, Imdorf A, Haueter M, Radloff S, Neumann P. (2010) Virus infections and winter losses of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *J. of Apicultural Research* **49**(1), 60–65.

BFW Bundesforschungszentrum für Wald (2016) Erste österreichweite Waldkarte basierend auf der Österreichischen Waldinventur; <http://bfw.ac.at/db/bfwcms.web?dok=7222>; Stand 16.11.2016.

Bienenseuchengesetz (1988) Bundesgesetz vom 25. Mai 1988 über die Bekämpfung ansteckender Krankheiten der Bienen (Bienenseuchengesetz): BGBl. Nr. 290/1988 idgF <https://www.ris.bka.gv.at>.

Biesmeijer K, Sommeijer MJ. (1992) How to interpret pollen diets in bees? *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society* **3**, 210–215.

Biesmeijer JC, Van Marwijk B, Van Deursen K, Punt W, Sommeijer MJ. (1992) Pollen sources for *Apis mellifera* L. (Hym, Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. *Apidologie* **23**(3), 245–256.

Biesmeijer JC, Roberts SPM, Reemer M, Ohlemüller R., Edwards M, Peeters T, Schaffers AP, Poots SG, Kleukers R, Thomas CD, Settele J, Kunin WE. (2006) Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* **313**, 351–354.

Bischoff G, K Jänicke, H Nowak, J Pistorius. (2015): Woran starben die Bienen? Auf der Suche nach Rückständen von Pflanzenschutzmitteln. VDLUFA-Schriftenreihe 71, Kongressband 2015, 773–781

Bitterman ME, Menzel R, Fietz A, Schäfer S. (1983) Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). *J. of Comparative Psychology* **92**, 107–119.

Bivand R, Lewin-Koh N. (2017) maptools: Tools for Reading and Handling Spatial Objects. R package version 0.9-2. <https://CRAN.Rproject.org/package=maptools>.

Blacquièrè T, Smagghè G, van Gestel CAM, Mommaerts V. (2012) Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* **21**, 973–992.

Blaine TW, Clayton S, Robbins P, Grewal PS. (2012) Homeowner Attitudes and Practices Towards Residential Landscape Management in Ohio, USA. *Environmental Management* **50**, 257–271.

Blanchard P, Olivier V, Iscache A-L, Celle O, Schurr F, Lallemand P, Ribière M. (2008) Improvement of RT-PCR detection of chronic bee paralysis virus (CBPV) required by the description of genomic variability in French CBPV isolates. *J. of Invertebrate Pathology* **97**(2), 182–185.

Blanchard P, Ribière M, Celle O, Lallemand P, Schurr F, Olivier V, Iscache AL, Faucon JP. (2007) Evaluation of a real-time two-step RT-PCR assay for quantitation of chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in life stages of a symptomatic colony. *J. of Virological Methods* **141**(1), 7-13.

BMLFUW Bundesministerium für Land- und Fortswirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft (2017) Invekos/Invekos-GIS; <https://www.bmlfuw.gv.at/land/direktzahlungen/Invekos.html>; Stand 25.01.2017. Boecking O, Bienefeld K, Drescher W. (2000) Heritability of the *Varroa*-specific hygienic behaviour in honeybees. *J. of Animal Breeding and Genetics* **117**, 417–424.

Boecking O, Bienefeld K, Drescher W. (2000) Heritability of the *Varroa*-specific hygienic behaviour in honeybees. *J. of Animal Breeding and Genetics* **117**, 417–424.

Bonmatin JM, Moineau I, Charvet R, Fleche C, Colin ME, Bengsch ERA. (2003) LC/APCI-MS/MS method for analysis of imidacloprid in soils, in plants, and in pollens. *Analytical Chemistry* **75**, 2027–2033.

Bowen-Walker PL, Martin SJ, Gunn A. (1999). The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni*. *J. of Invertebrate Pathology* **73**(1), 101–106.

Brandt A, Gorenflo A, Siede R, Meixner M, Büchler R. (2016) The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.) *J. of Insect Physiology* **86**, 40–47.

Brodtschneider R, Crailsheim K. (2010) Nutrition and Health in honey bees. *Apidologie* **4**, 278–294.

Brodtschneider R, Crailsheim K. (2011) Völkerverluste der Honigbiene: Risikofaktoren für die Bestäubungssicherheit in Österreich. *Entomologica Austriaca* **18**, 73-86.

Brodtschneider R, Crailsheim K. (2013) Fünf Jahre Untersuchung des Bienensterbens in Österreich. *Entomologica Austriaca* **20**, 195–205.

Brodtschneider R, Gray A, van der Zee R, Adjlane N, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Crailsheim K, Dahle B, Danihlík J, Danneels E, de Graaf DC, Dražić MM, Fedoriak M, Forsythe I, Golubovski M, Gregorc A, Grzęda U, Hubbuck I, İvgin Tunca R, Kauko L, Kilpinen O, Kretavicius J, Kristiansen P, Martikkala M, Martín-Hernández R, Mutinelli F, Peterson M, Otten C, Ozkirim A, Raudmets A, Simon-Delso N, Soroker V, Topolska G, Vallon J, Vejsnæs F & Woehl. S (2016) Preliminary analysis of loss rates of honey bee colonies during winter 2015/16 from the COLOSS survey, *J. of Apicultural Research*, **55**, 5, 375–378, DOI: 10.1080/00218839.2016.1260240

Brodtschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. (2010) Surveys as a tool to record winter losses of honey bee colonies: a two year case study in Austria and South Tyrol. *J. of Apicultural Research* **49**(1), 23–30.

Brodtschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. (2010) Preliminary results of colony losses in Austria 2009/2010. *Proceedings of the 6th COLOSS Conference*, Ankara, Turkey.

Brodtschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. (2015) Die Überwinterung von Bienenvölkern in Österreich und anderen Ländern 2013/14. *Bienenaktuell*, **9**(4) 21–23.

Brodtschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. (2016) Erhebung der Winterverluste 2015/16 und Ergebnisse des Vorjahres. *Bienenaktuell* **10**(4), 29–31.

Brodtschneider R, Moosbeckhofer R, Crailsheim K. (2017) Zehnte Erhebung der Winterverluste 2016/2017 nach sehr niedrigen Verlusten im Vorjahr. *Bienenaktuell* **11**(4), 20–23.

Büchler R. (2008) Varroabefall ermitteln und Schadschwellen beachten. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitschrift* 7/2008, 10–11.

Büchler R, Radtke J, Garrido C, Bienefeld K, Ehrhardt K (2006) Varroabefall richtig einschätzen. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitschrift* 7/2006: 10.

Budge GE, Garthwaite D, Crowe A, Boatman ND, Delaplane KS, Brown MA, Thygesen HH, Pietravalle S. (2015a): Evidence for pollinator cost and farming benefits of neonicotinoid seed coatings on oilseed rape. *Scientific Reports* **5**, 12574.

Budge GE, Pietravalle S, Brown M, Laurenson L, Jones B, Tomkies V, Delaplane KS. (2015b) Pathogens as predictors of honey bee colony strength in England and Wales. *PIOS One* **10**, e0133228.

Calderone NW (2005) Evaluation of drone brood removal for management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Northeastern United States. *J. of Economic Entomology* **98**, 645-650.

Cameron SA, Lozier JD, Strange JP, Koch JB, Cordes N, Solter LF, Griswold TL. (2011) Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *PNAS* **108**, 662–667.

Carreck NL, Ball BV, Martin SJ. (2010) Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with *Varroa destructor*. *J. of Apicultural Research* **49**(1), 93–94.

Cervo R, Bruschini C, Cappa F, Meconcelli S, Pieraccini G, Pradella D, Turillazzi. S (2014) High *Varroa* mite abundance influences chemical profiles of worker bees and mite-host preferences. *The J. of Experimental Biology* **217**, 2998–3001.

Chauzat MP, Faucon J-P, Martel A-C, Lachaize J, Cougoule N, Aubert M. (2006) A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. *Apiculture & Social Insects* **99**, 253–262.

Chauzat M-P, Jacques A, EPILOBEE Consortium, Laurent M, Bougeard S, Hendrikx P, Ribière-Chabert M. (2016) Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance. *Apidologie* **47**, 348–378.

Chauzat M-P, Laurent M, Riviere M-P, Saugeon C, Hendrikx P, Ribiere-Chabert M. (2015) EPILOBEE - A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2013, European Union Reference Laboratory for honeybee health (EURL). (5.5.2017):
https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/la_bees_epilobee-report_2012-2013.pdf

Chen YP, Higgins JA, Feldlaufer MF (2005) Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Applied & Environmental Microbiology* **71**(1), 436-441.

- Chen YP, Pettis JS, Evans JD, Matthew K, Feldlaufer MF. (2004) Transmission of Kashmir bee virus by the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Apidologie* **35**, 441–448.
- Ciglenc̃ki UJ, Toplak. I (2012) Development of a real-time RT-PCR assay with TaqMan probe for specific detection of acute bee paralysis virus. *J. of Virological Methods* **184**(1-2), 63–68.
- Clermont A, Eickermann M, Kraus F, Hoffmann L, Beyer M. (2015a): Correlations between land covers and honey bee colony losses in a country with industrialized and rural regions. *Science of the Total Environment* **532**, 1–13.
- Clermont A, Pasquali M, Eickermann M, Kraus F, Hoffmann L, Beyer M. (2015b) Virus status, *Varroa* levels, and survival of 20 managed honey bee colonies monitored in Luxembourg between the summer of 2011 and the spring of 2013. *J. of Apicultural Science* **59**, DOI: 10.1515/jas -2015-0005.
- Cornman RS, Tarpay DR, Chen Y, Jeffreys L, Lopez D, Pettis JS, vanEngelsdorp D, Evans JD. (2012) Pathogen webs in collapsing honey bee colonies. *PLOS One* **7**(8): e43562.
oi:10.1371/journal.pone.0043562.
- Conner WS, Wilkinson CF Morse RA. (1978) Penetration of Insecticides through the Foregut of the Honeybee (*Apis mellifera* L.) *Pesticide Biochemistry and Physiology* **9**, 131–139.
- Crailsheim K, Schneider LHW, Hrassnig N, Bühlmann G, Brosch U, Gmeinbauer R, Schöffmann B. (1993) Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera* carnica): Dependence on individual age and function. *Apidologie*, **6**, 409–419.
- Cuthbertson AGS, Wakefield M E, Powell ME, Marris G, Anderson H, Budge GE, Mathers JJ, Blackburn LF, Brown MA. (2013): The small hive beetle *Aethina tumida*: A review of its biology and control measures (2013). *Current Zoology* **59**(5), 644–653.
- Dahle B. (2010) The role of *Varroa destructor* for honey bee colony losses in Norway. *J. of Apicultural Research* **49**, 124–125.
- Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P. (2012a) Dead or Alive: Deformed Wing Virus and *Varroa destructor* Reduce the Life Span of Winter Honeybees. *Applied and Environmental Microbiology* **78**(4), 981–987.
- Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P. (2012b). Predictive Markers of Honey Bee Colony Collapse. *PLOS ONE* **7**(2), e32151.
- Dani FR, Jones GR, Corsi S, Beard R, Pradella D, Turillazzi S. (2005) Nestmate recognition cues in the honey bee: differential importance of cuticular alkanes and alkenes. *Chemical Senses* **30**, 477–489.
- Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delèguea M-H. (2004) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **57**, 410–419.
- DeGrandi-Hoffman G, Ahumada F, Graham H. (2017) Are Dispersal Mechanisms Changing the Host–Parasite Relationship and Increasing the Virulence of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Managed Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies? *Environmental Entomology*, **46**, 737–746.
- Dietemann V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson D, Locke B, Delaplane KS, Wauquiez Q, Tannahill C, Frey E, Ziegelmann B, Rosenkranz P, Ellis JD. (2013) Standard methods for *Varroa* research. In V Dietemann, Ellis JD, Neumann P (Eds) The COLOSS BEEBOOK, Volume II: standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research. *J. of Apicultural Research* **52**(1), 1–54.

Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, et al., (2013) Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLOS ONE* **8**(8), e72016. doi:10.1371/journal.pone.0072016

Di Prisco G, Cavaliere V, Annoscia D, Varricchio P, Caprio E, Nazzi F, Gargiulo G, Pennacchio F. (2013) Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *PNAS* **110**, 18466–18471.

Döke MA, Frazier M, Grozinger CM. (2015) Overwintering honey bees: biology and management. *Current Opinion in Insect Science* **10**, 185–193.

Donkersley P, Rhodes G, Pickup RW, Jones KC, Wilson K. (2014) Honeybee nutrition is linked to landscape composition. *Ecology and Evolution* **4**(21), 4195–4206.

Doublet V, Labarussias M, de Miranda JR, Moritz RFA, Paxton RJ (2014) Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental Microbiology* **17**, 969–983; doi:10.1111/1462-2920.12426.

Durchführungsverordnung (EU) Nr. 485/2013 der Kommission vom 24. Mai 2013 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 540/2011 hinsichtlich der Bedingungen für die Genehmigung der Wirkstoffe Clothianidin, Thiamethoxam und Imidacloprid sowie des Verbots der Anwendung und des Verkaufs von Saatgut, das mit diese Wirkstoffe enthaltenden Pflanzenschutzmitteln behandelt wurde. Amtsblatt der Europäischen Union, L 139/12, 25.5.2013.
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32013R0485>

Durchführungsverordnung (EU) Nr. 781/2013 der Kommission vom 14. August 2013 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 540/2011 hinsichtlich der Bedingungen für die Genehmigung des Wirkstoffs Fipronil und zum Verbot der Verwendung und des Verkaufs von Saatgut, das mit Pflanzenschutzmitteln behandelt wurde, die diesen Wirkstoff enthalten. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R0781&from=EN>

du Rand EE, Pirk CWW, Nicolson SW, Apostolides Z. (2017) The metabolic fate of nectar nicotine in worker honey bees. *Journal of Insect Physiology* **98**, 14–22.

Dussaubat C, Maisonnasse A, Crauser D, Tchamitchian S, Bonnet M, Cousin M, Kretzschmar A, Brunet J-L, Le Conte Y. (2016) Combined neonicotinoid pesticide and parasite stress alter honeybee queens' physiology and survival. *Scientific Reports* **6**, 31430. DOI: 10.1038/srep31430

EASAC policy report 26 (2015) Ecosystem services, agriculture and neonicotinoids. ISBN: 978-3-8047-3437-1. www.easac.eu (accessed Jan. 2016).

EEA European Environment Agency (1995) CORINE land cover. Techn. Rep. <http://www.eea.europa.eu/publications/COR0-landcover>

EFSA (2015a) Small hive beetle diagnosis and risk management options, *EFSA Journal* **13**(3), 4048.

EFSA (2015b) Survival, spread and establishment of the small hive beetle (*Aethina tumida*). *EFSA Journal* **13**(12), 4328.

EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (2012) Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* **10**(5), 2688.

Ellis AM, Hayes GW, Ellis JD. (2009) The efficacy of small cell foundation as a varroa mite (*Varroa destructor*) control. *Experimental and Applied Acarology* **47**(4), 311–316.

EU Reference Laboratory for Honeybee Health (2011) Guidelines for a pilot surveillance project on honeybee colony losses. (29.1.2016)

http://ec.europa.eu/food/animals/docs/la_bees_health_annex_i_pilot_project_en.pdf.

European Food Safety Authority (2013a) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance fipronil. *EFSA Journal* **11**(5), 3158.

European Food Safety Authority (2013b) EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* **11**(7), 3295.

European Food Safety Authority (2015) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid considering all uses other than seed treatments and granules. *EFSA Journal* **13**(8), 4211.

Evans, JD, Aronstein K, Chen YP, Hetru C, Imler J-L, Jiang H, Kanost M, Thompson GJ, Zou Z, Hultmark D. (2006) Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect molecular Biology* **15**, 645–656.

Felsenberg J, Gehring KB, Antemann V, Eisenhardt D. (2011) Behavioural pharmacology in classical conditioning of the proboscis extension response in honeybees (*Apis mellifera*). *J. of Visualized Experiments* **47**, 2–5.

Fenner K, Canonica S, Wackett LP, Elsner M. (2013) Evaluating Pesticide Degradation in the Environment: Blind Spots and Emerging Opportunities. *Science* **341**(6147), 752–758.

Flügel H-J (2015) Von COLUMELLA bis CCD – das Bienensterben im Wandel der Zeit (Hymenoptera: Apidae). *Entomologische Zeitschrift* **125**, 27-40.

Forsgren E. (2010) European foulbrood in honey bees. *J. of Invertebrate Pathology* **103**, Supplement (0): S5–S9.

Fox J, Hong J. (2009) Effect Displays in R for Generalised Linear Models. *J. of Statistical Software* **32**(1), 1–24.

Fox J, Weisberg S. (2011) An {R} Companion to Applied Regression. Sage, *Thousand Oaks* (CA).

Francis RM, Nielsen SL & Kryger P. (2013) *Varroa*-Virus Interaction in Collapsing Honey Bee Colonies. *PLOS ONE* **8**(3): e57540.

Gallai N., Salles J-M, Settele J, Vaissière BE. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* **68**, 810–821.

Gann, M. 2016: Wachsverfälschung durch Stearinsäure. <http://www.bee-gann.de/Wachs/stearin.html> (22.2.2017)

Garbuzov M, Ratnieks FLW. (2014) Ivy: an underappreciated key resource to flower-visiting insects in autumn. *Insect Conservation and Diversity* **7**(1), 91–102.

Genersch E. (2010). American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. *J. of Invertebrate Pathology* **103**, Supplement (0): S10–S19.

Genersch E, von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Büchler R, Berg S, Ritter W, Mühlen 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**(3), 332–352.

Ghini S, Fernández M, Picó Y, Marín R, Fini F, Mañes J, Girotti S. (2004) Occurrence and distribution of pesticides in the province of Bologna, Italy, using honeybees as bioindicators. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **47**, 479–488.

Gill RJ, Ramos-Rodriguez O, Raine NE (2012) Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature* **491**, 105-109.

Girsch L, Moosbeckhofer R. (2012) Untersuchungen zum Auftreten von Bienenverlusten in Mais- und Rapsanbaugebieten Österreichs und möglicher Zusammenhänge mit Bienenkrankheiten und dem Einsatz von Pflanzenschutzmitteln. Abschlussbericht („MELISSA“; Dafne Proj. Nr. 100472); https://www.dafne.at/dafne_plus_homepage/download.php?t=ProjectReportAttachment&k=2661

Girsch L, Moosbeckhofer R (2013) Überwachungsprogramm zur Überprüfung der tatsächlichen Exposition von Honigbienen gegenüber Clothianidin, Thiamethoxam, Fipronil und Imidacloprid in von Bienen für die Futtersuche oder von Imkern genutzten Gebieten. Abschlussbericht http://www.ages.at/fileadmin/AGES2015/Themen/Bienen/Monitoringprojekt_Bienen_Abschlussbericht_2012.pdf

Gisder S, Aumeier P, Genersch E. (2009) Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). *J. of General Virology* **90**(2), 463–467.

Glanzmann J. (2014) Massive Bienenvergiftung in Zäziwil und Umgebung. *Schweizerische Bienenzeitung* **137**(10), 18-20. <http://www.bauernzeitung.ch/news-archiv/2014/zaeziwil-fipronil-ist-ursache-fuer-grosses-bienensterben.aspx>

Goulson D. (2013) An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *J. of Applied Ecology* **50**(4), 977-987.

Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray EL. (2015) Combined stress from parasites, pesticides and lack of flowers drives bee declines. *Science* **347** (6229).

Greatti M, Barbattini R, Stravisi A, Sabatini AG, Rossi S. (2006) Presence of the a.i. imidacloprid on vegetation near corn fields sown with Gaucho® dressed seeds. *Bulletin of Insectology* **59**(2), 99–103

Haiden T, Kann A, Wittmann C, Pistotnik G, Bica B, Gruber C. (2011) The Integrated Nowcasting through Comprehensive Analysis (INCA) System and its validation over the Eastern Alpine Region. *Weather and Forecasting* **26**(2), 166–183.

Hall TA. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* **41**, 95–98.

Hardman CJ, Harrison DPG, Shaw PJ, Nevard TD, Hughes B, Potts SG, Norris K (2015) Supporting local diversity of habitats and species on farmland: a comparison of three wildlife-friendly schemes. *J. of Applied Ecology* **53**(1), 171–180.

Harrell Jr FE, with contributions from Charles Dupont and many others (2016) Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.0-2. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>

He X-J, Tian L-Q, Wu X-B, Zeng Z.-J. (2016) RFID monitoring indicates honeybees work harder before a rainy day. *Insect Science* **23**, 157–159.

Henry M, Béguin M, Requier F, Rollin O, Odoux J-F, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S, Decourtye A. (2012) A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* **336**, 348-350.

Hernández López J, Schuehly W, Crailsheim K, Riessberger-Gallé R. (2014) Trans-generational immune priming in honey bees. *Proceedings of the Royal Society B* **281**, 20140454.

Hernández López J, Krainer S, Engert A, Schuehly W, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K. (2017a) Sublethal pesticide doses negatively affect survival and the cellular responses in American foulbrood-infected honeybee larvae. *Scientific Reports* **7**, 40853.

Hernández López J, Riessberger-Gallé U, Crailsheim K, Schuehly W. (2017b) Cuticular hydrocarbon cues of immune-challenged workers elicit immune activation in honeybee queens. *Molecular Ecology* **26**, 3062–3073.

Higes M, García-Palencia P, Martín-Hernández R, Meana A. (2007) Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *J. of Invertebrate Pathology* **94**(3), 211–217.

Higes M, Martín R, Meana A. (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J. of Invertebrate Pathology* **92**(2), 93–95.

Highfield AC, Nagar AE, Mackinder LCM, Noel LM-LJ, Hall MJ, Martin SJ, Schroeder DC. (2009) Deformed wing virus implicated in overwintering honeybee colony losses. *Applied and Environmental Microbiology* **75**(22), 7212–7220.

Höcherl N, Siede R, Illies I, Gätschenberger H, Tautz J. (2012) Evaluation of the nutritive value of maize for honey bees. *J. of Insect Physiology* **58**, 278–285.

Hoffmann B, Depner K, Schirrmeier H, Beer M. (2006) A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. *J. of Virological Methods* **136**(1-2), 200–209.

Hoppe PP, Safer A, Amaral-Rogers V, Bonmatin J-M, Goulson D, Menzel R, Baer B. (2015) Effects of a neonicotinoid pesticide on honey bee colonies: a response to the field study by Pilling *et al.* (2013). *Environmental Sciences Europe* **27**, 28–31.

Hothorn T, Bretz F, Westfall P. (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal* **50**(3), 346–363.

Hothorn T, Hornik K, van de Weil MA, Zeileis A. (2006) A Lego System for Conditional Inference. *The American Statistician* **60**(3), 257–263.

Howard RW, Blomquist GJ. (2005) Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology* **50**, 371–393.

Hüsing O, Nitschmann J. (1987) Lexikon der Bienenkunde. Edition Leipzig und Ehrenwirth Verlag, München.

Human H, Brodschneider R, Dietemann V, Dively G, Ellis J, Forsgren E, Fries I, Hatjina F, Hu F-L, Jaffé, R, Jensen A B, Köhler A, Magyar J, Özkýrým A, Pirk C W W, Rose R, Strauss U, Tanner G, Tarpay D R, Van der Steen, J J M, Vaudo, A, Vesnæs, F, Wilde J, Williams G R, Zheng H-Q (2013) Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. In V Dietemann, J D Ellis, P Neumann (Eds) The COLOSS BEEBOOK, Volume I: standard methods for *Apis mellifera* research, *J. of Apicultural Research* **52**(4).

Iwasa T, Motoyama N, Ambrose JT, Roe RM. (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* **23**, 371–378.

Jacques A, Laurent M, EPILOBEE Consortium, Ribière-Chabert M, Saussac M, Bougeard S, et al., (2017) A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. *PLOS ONE* **12**(3), e0172591. doi:10.1371/journal.pone.0172591

James G, Witten D, Hastie T, Tibshirani R. (2013) An Introduction to Statistical Learning with Applications in R. Springer Science+Business Media New York.

Johnson RM, Dahlgren L, Siegfried BD, Ellis MD. (2013) Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*). *PLOS ONE*: **8**(1).

Johnson RM, Pollock HS, Berenbaum MR (2009) Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. *J. of Economic Entomology* **102**(2), 474–479

Johnson RM, Wen Z, Schuler MA, Berenbaum MR. (2006) Mediation of pyrethroid insecticide toxicity to honey bees (Hymenoptera: Apidae) by cytochrome P₄₅₀ monooxygenases. *J. of Economic Entomology* **99**(4), 1046–1050.

Jungels P (2015) Dem Ziel ein Stück näher: Varroaresistenz ist nicht länger Utopie! *Allgemeine Deutsche Imkerzeitschrift* 12/2015, 31–33.

Kaluza BF, Wallace H, Heard TA, Klein A-M, Leonhardt SD. (2016) Urban gardens promote bee foraging over natural habitats and plantations. *Ecology and Evolution*. **6**, 1304–1316.

Kasiotis KM, Anagnostopoulos C, Anastasiadou P, Machera K (2014) Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. *Science of the Total Environment* **485-486**, 633–642.

Kearns CA, Inouye DW, Waser NM. (1998) Endangered mutualism: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**, 83-112.

Kiljanek T, Niewiadowska A, Semeniuk S, Gawel M, Borzecka M, Posyniak A (2016) Multi-residue method for the determination of pesticides and pesticide metabolites in honeybees by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry – Honeybee poisoning incidents. *J. of Chromatography A*, **1435**, 100–114.

Klee J, Besana AM, Genersch E, Gisder S, Nanetti A, Tam DQ, Chinh TX, Puerta F, Ruz JM, Kryger P, Message D, Hatjina F, Korpela S, Fries I, Paxton RJ. (2007) Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *J. of Invertebrate Pathology* **96**(1), 1–10.

Köglberger H, Moosbeckhofer R, Derakhshifar I, Etter K, Mayr J, Schwarz M, Stadlmüller L. (2014) Verluste von Bienenvölkern während der Überwinterung oder bei Verdacht auf Bienenfrevel – was waren die Ursachen? *Bienenaktuell* **8**(5), 28–32.

Köppl H. (2016): Pflanzenschutzmittel-Tabellen 2016. Version: März 2016. Landwirtschaftskammer Oberösterreich.

Krahnstöver M, Polaczek B. (2017) Literaturstudie zum Thema Bienengesundheit: Geht es den Bienen in Städten bzw. stadtnahen Gebieten besser als auf dem Land? (30.05.2017) https://www.gruenebundestag.de/fileadmin/media/gruenebundestag_de/themen_az/tierschutz/Bienenstudie_2017.pdf

Kralj J, Fuchs S. (2006) Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* **37**, 577-587.

Kralj J, Brockmann A, Fuchs S, Tautz J. (2006) The parasitic mite *Varroa destructor* affects non-associative learning in honey bee foragers, *Apis mellifera* L. *J. of Comparative Physiology A* **193**(3),363–70.

Krupke CH, Hunt GJ, Eitzer BD, Andino G, Given K. (2012) Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLOS ONE* **7**(1), e29268. doi: 10.1371/journal.pone.0029268

Kurultay S, Velioglu H M, Saglam Ö. (2016): Kırklareli Bölgesinden Toplanan Peteklerde Pestisit Ve Antibiyotik Kalıntısı Aranması. <http://acikerisim.nku.edu.tr:8080/xmlui/handle/20.500.11776/46>. (16.3.2017)

Lamp B, Url A, Seitz K, Eichhorn J, Riedel C, Sinn LJ, Indik S, Köglberger H, Rümenapf T. (2016) Construction and Rescue of a Molecular Clone of Deformed Wing Virus (DWV). *PLOS ONE* **11**(11): e0164639.

Larson JL, Redmond CT, Potter DA. (2013) Assessing Insecticide Hazard to Bumble Bees Foraging on Flowering Weeds in Treated Lawns. *PLOS ONE* **8**(6), e66375.

Le Conte Y, Hefetz A. (2008) Primer Pheromones in Social Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* **53**, 523–542.

Laurent M, Hendrikx P, Ribiere-Chabert M, Chauzat M-P. (2015) EPILOBEE – A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2014. European Union Reference Laboratory for honeybee health (EURL). (29.1.2016) von: http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/docs/bee-report_2012_2014_en.pdf.

Lee KV, Steinhauer N, Rennich K, Wilson ME, Tarpy DR, Caron DM, Rose R, Delaplane KS, Baylis K, Lengerich EJ, Pettis J, Skinner JA, Wilkes JT, Sagili R, D. vanEngelsdorp D. (2015a) A national survey of managed honey bee 2013-2014 annual colony losses in the USA. *J. of Apicultural Research* **46**, 292–305.

Lee K, Steinhauer N, Travis DA, Meixner MD, Deen J, vanEngelsdorp D. (2015b) Honey bee surveillance: a tool for understanding and improving honey bee health. *Current Opinion in Insect Science* **10**, 37–44.

Lehmkuhl U. (2005) Die Gesellschaft und die Krankheit. Verlag Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen.

Liu Z, Dai Y, Huang G, Gu Y, Ni J, Wei H, Yuan S. (2011) Soil microbial degradation of neonicotinoid insecticides imidacloprid, acetamiprid, thiacloprid and imidaclothiz and its effect on the persistence of bioefficacy against horsebean aphid *Aphis craccivora* Koch after soil application. *Pest Management Science* **67**(10), 1245–1252.

Locke B, Forsgren E, Fries I, de Miranda JR. (2012) Acaricide Treatment Affects Viral Dynamics in *Varroa destructor*-Infested Honey Bee Colonies via both Host Physiology and Mite Control. *Applied and Environmental Microbiology* **78**(6), 2073.

Lodesani M, Mutinelli F, Libertà A, Porrini C. (2013) The national bee monitoring network in Italy (2009–2013). *Bulletin of Insectology* **66**(1), 160.

Lodesani M, Costa C, Besana A, Dall'Olio R, Franceschetti S, Tesoriero D, Vaccari G. (2014) Impact of control strategies for *Varroa destructor* on colony survival and health in northern and central regions of Italy. *J. of Apicultural Research* **53**(1), 155–164.

Loftus JC, Smith ML, Seeley TD. (2016) How Honey Bee Colonies Survive in the Wild: Testing the Importance of Small Nests and Frequent Swarming. *PLOS ONE* **11**(3), e0150362.

Marletto F, Patetta A, Manino A.. (2003) Laboratory assessment of pesticide toxicity to bumblebees. *Bulletin of Insectology* **56**, 155–158.

Martin SJ. (2001) The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *J. of Applied Ecology* **38**(5), 1082–1093.

Martin SJ, Highfield AC, Brettell L, Villalobos EM, Budge GE, Powell M, Nikaido S, Schroeder DC. (2012) Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science* **336**, 1304–1306.

Martín-Hernández R, Meana A, Prieto L, Martínez Salvador A, Garrido-Bailón E, Higes M. (2007) Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology* **73**(20), 6331–6338.

Martinello M, Baratto C, Manzinello C, Piva E, Borin A, Toson M, Granato A, Boniotti MB, Gallina A, Mutinelli F. (2017) Spring mortality in honey bees in northeastern Italy: detection of pesticides and viruses in dead honey bees and other matrices. *J. of Apicultural Research* **56**(3), 239–254.

McMahon DP, Natsopoulou ME, Doublet V, Fürst M, Weging S, Brown MJF, Gogol-Döring A, Paxton RJ. (2016) Elevated virulence of an emerging viral genotype as a driver of honeybee loss. *Proceedings of the Royal Society* **B283**, 20160811.

Menzel R, Manz G, Menzel R, Greggers U. (2001) Massed and Spaced Learning in Honeybees : The Role of CS , US , the Intertrial Interval , and the Test Interval. *Learning & Memory* **8**, 198–208.

Mondet F, de Miranda JR, Kretzschmar A, Le Conte Y, Mercer AR. (2014) On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies along a New Expansion Front of the Parasite *Varroa destructor*. *PLOS Pathogen* **10**(8), e1004323.

Moosbeckhofer R, Köglberger H, Derakhshifar I, Etter K, Mayr J. (2013) Verluste von Bienenvölkern während der Überwinterung oder bei Verdacht auf Bienenfrevl – was waren die Ursachen? Abschlussbericht.

http://www.ages.at/fileadmin/_migrated/content_uploads/final_Abschlussbericht_Winterverluste_02.pdf

Moosbeckhofer R, Köglberger H, Derakhshifar I, Morawetz L, Boigenzahn C, Oberrisser W. (2015) Varroa-Bekämpfung einfach – sicher – erfolgreich. 2., Völlig Neu Bearbeitete Auflage. Herausgeber: Biene Österreich.

Moosbeckhofer R, Mayr J. (2014) Untersuchungen zur Identifizierung einer möglichen Exposition von Honigbienen gegenüber den Wirkstoffen Clothianidin, Thiamethoxam, Imidacloprid und Fipronil unter Feldbedingungen. Abschlussbericht http://www.ages.at/fileadmin/_migrated/content_uploads/Bienen-Expositionsmonitoring_2013_MO-Gesundheitsreferententagung_2014-vHP.pdf

Mordecai GJ, Brettell LE, Martin SJ, Dixon D, Jones IM, Schroeder DC. (2016a) Superinfection exclusion and the long-term survival of honey bees in *Varroa*-infested colonies. *The ISME Journal* **10**, 1182–1191.

Mordecai GJ, Wilfert L, Martin SJ, Jones IM, Schroeder DC. (2016b) Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies. *The ISME Journal* **10**, 1264–1273.

Moritz RFA, Eler S. (2016) Lost colonies found in a data mine: Global honey trade but not pests or pesticides as a major cause of regional honeybee colony declines. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **216**, 44–50.

Moritz RFA, De Miranda J, Fries I, Le Conte Y, Neumann P, Paxton RJ. (2010) Research strategies to improve honeybee health in Europa. *Apidologie* **41**, 227–242.

Muratet A, Fontaine B. (2015) Contrasting impacts of pesticides on butterflies and bumblebees in private gardens in France. *Biological Conservation* **182**, 148–154.

Mutinelli F, Montarsi F, Federico G, Granato A, Ponti AM, Grandinetti G, Ferrè N, Franco S, Duquesne V, Rivière M-P, Thiéry R, Henriks P, Ribière-Chabert M, Chauzat M-P. (2014) Detection of *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae) in Italy: outbreaks and early reaction measures. *J. of Apicultural Research* **53**(5), 569–575.

Nauen R, Ebbinghaus-Kintscher U, Schmuck R.. (2001) Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Pest Management Science* **57**, 577–586.

Neumann P, Carreck NL. (2010) Honey bee colony losses. *J. of Apicultural Research* **49**, 1–6.

- Nielsen SL, Nicolaisen M, Kryger P. (2008) Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark. *Apidologie* **39**(3), 310–314.
- Omar E, Abd-Ella AA, Khodairy MM, Moosbeckhofer R, Crailsheim K, Brodschneider R. (2016) Influence of different pollen diets on the development of hypopharyngeal glands and size of acid gland sacs in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* **48**(4), 45–436.
- Österreichischer Imkerbund (2013) Jahresstatistik der Mitglieder und Völkerzahlen. (3.2.2016) <http://www.imkerbund.at/statistik-mitglieder-bienenvoelker-2013+2500+1134469>.
- Palmeri V, Scrito, G., Malacrino A, Laudani F, Campolo O. (2015) A scientific note on a new pest for European honey bees: first report of *Aethina tumida* (Coleoptera Nitidulidae) in Italy. *Apidologie* **46**(4), 527–529.
- Peng Y, Baer-Imhoof B, Millar AH, Baer B. (2015) Consequences of *Nosema apis* infection for male honey bees and their fertility. *Scientific Reports* **5**, 10565. DOI: 10.1038/srep10565.
- Pesticide Properties DataBase (University of Hertfordshire, UK): <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>, accessed Aug 11, 2017.
- Pettis JS, vanEngelsdorp D, Johnson J, Dively G. (2012) Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften* **99**, 153–158.
- Pistorius J, Bischoff G, Heimbach U. (2009) Bienenvergiftung durch Wirkstoffabrieb von Saatgutbehandlungsmitteln während der Maisaussaat im Frühjahr 2008. *J. für Kulturpflanzen* **61**(1), 9–14.
- Pistorius J, Bischoff G, Heimbach U, Stähler M. (2009) Bee poisoning incidents in Germany in spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize. Hazards of pesticides to bees – 10th International Symposium of the ICP-Bee Protection Group.
- Porrini C, Mutinelli F, Bortolotti L, Granato A, Laurenson L, Roberts K, Gallina A, Silvester N, Medrzycki P, Renzi T, Sgolastra F, Lodesani M. (2016) The Status of Honey Bee Health in Italy: Results from the Nationwide Bee Monitoring Network. *PLOS ONE* **11**(5), e0155411.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE. (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* **25**(6), 345–353.
- Prein AF, Gobiet A, Suklitsch M, Truhetz H, Awan NK, Keuler K, Georgievski G. (2013) Added value of convection permitting seasonal simulations. *Climate Dynamics* **41**(9-10), 2655–2677.
- Puškadija Z, Edita S, Mijić A, Zdunić Z, Paradžiković N, Florijančić T, Opačak A. (2007) Influence of weather conditions on honey bee visits (*Apis mellifera carnica*) during sunflower (*Helianthus annuus* L.) blooming period. *Agriculture* **13**, 230–233.
- Ravoet J, Maharramov J, Meeus I, De Smet L, Wenseleers T, Smagghe G, de Graaf DJ. (2013) Comprehensive bee pathogen screening in Belgium Reveals *Crithidia mellificae* as a New contributory factor to winter mortality. *PLOS ONE* **8**, e72443.
- Ravoet J, Reybroeck W, de Graaf D C. (2015) Pesticides for Apicultural and/or Agricultural Application Found in Belgian Honey Bee Wax Combs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **94**(5), 543–548. doi: 10.1007/s00128-015-1511-y
- R Development Core Team. (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Reid M.. (2015) Storage of Queen Honeybees. *Bee World* **56**, 21–31.

Ribièrè M, Olivier V, Blanchard P. (2010) Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? *J. of Invertebrate Pathology* **103**, Supplement, S120–S131.

Richard FJ, Aubert A, Grozinger CM. (2008) Modulation of social interactions by immune stimulation in honey bee, *Apis mellifera*, workers. *BMC Biology* **6**, 50.

Richard FJ, Holt HL, Grozinger CM. (2012) Effects of immunostimulation on social behavior, chemical communication and genome-wide gene expression in honey bee workers (*Apis mellifera*). *BMC Genomics* **13**, 558.

Richtlinie der Kommission vom 12. März 2010 zur Änderung von Anhang I der Richtlinie 91/414/EWG des Rates hinsichtlich Sonderbestimmungen zu Clothianidin, Thiamethoxam, Fipronil und Imidacloprid. Amtsblatt der Europäischen Union, L 65/27, 13.3.2010.

Riessberger U, Crailsheim K. (1997) Short-term effect of different weather conditions upon the behaviour of forager and nurse honey bees (*Apis mellifera carnica* Pollmann). *Apidologie* **28**, 411–426.

Riessberger-Gallé U, Hernández López J, Schuehly W, Crockett S, Krainer S, Crailsheim K. (2015) Immune responses of honeybees and their fitness costs as compared to bumblebees. *Apidologie* **46**, 238–249.

RIS, Pflanzenschutzmittelgesetz 2011, BGBl. I Nr. 10/2011, i.d.g.F. 31.7.2013

Ritter, W. (1999) Bienenkrankheiten. Ulmer Verlag, Stuttgart.

Robbins P, Polderman A, Birkenholtz T. (2001) Lawns and Toxins – An Ecology of the City. *Cities* **18**(6), 369–380.

Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J. of Invertebrate Pathology* **103**, Supplement (0), S96–S119.

Roulston TH, Cane JH. (2000) Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution* **222**, 187–209.

Rundlöf M, Andersson GKS, Bommarco R, Fries I, Hederström V, Herbertsson L, Jonsson O, Klatt BK, Pedersen TR, Yourstone J, Smith HG. (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature* **521**, 77–80.

Sakofski F, Koeniger N, Fuchs S. (1990) Seasonality of honey bee colony invasion by *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* **21**(6), 547–550.

Sánchez V, Gil S, Flores JM, Quiles FJ, Ortiz MA, Luna JJ. (2015) Implementation of an electronic system to monitor the thermoregulatory capacity of honeybee colonies in hives with open-screened bottom boards. *Computers and Electronics in Agriculture* **119**, 209–216.

Sandrock C, Tanadini M, Tanadini LG, Fauser-Misslin F, Potts SG, Neumann P. (2014) Impact of Chronic Neonicotinoid Exposure on Honeybee Colony Performance and Queen Supersedure. *PLOS ONE* **9**, e103592.

Saucy F. (2014) On the natural cell size of European honey bees: A 'fatal error' or distortion of historical data? *J. of Apicultural Research* **53**(3), 327–336.

Schäfer MO. (2014) Amerikanische Faulbrut der Honigbienen – American foulbrood. In: Homeier-Bachmann T, Beidler A, Kubitzka H (eds) Tiergesundheitsjahresbericht 2013. Friedrich-Loeffler-Institut, 36–39.

- Scheiner R, Barnert M, Erber J. (2003) Variation in water and sucrose responsiveness during the foraging season affects proboscis extension learning in honey bees. *Apidologie*, **34**, 67–72.
- Schott M, Bischoff G, Eichner G, Vilcinskas A, Büchler R, Meixner MD, Brandt A. (2017) Temporal dynamics of whole body residues of the neonicotinoid insecticide imidacloprid in live or dead honeybees. *Scientific Reports* **7**, 6288, doi:10.1038/s41598-017-06259-z.
- Seeley TD, Smith ML. (2015) Crowding honeybee colonies in apiaries can increase their vulnerability to the deadly ectoparasite *Varroa destructor*. *Apidologie* **46**(6), 716–727.
- Seeley TD, Griffin SR. (2011) Small-cell comb does not control *Varroa* mites in colonies of honeybees of European origin. *Apidologie* **42**(4), 526–532.
- Simon-Delso N, San Martin G, Bruneau E, Minsart L-A, Mouret C, Hautier L. (2014) Honeybee colony disorder in crop areas: The role of pesticides and viruses. *PLOS ONE* **9**(7), e103073. doi:10.1371/journal.pone.0103073.
- Spiewok S. (2016): Unklar wie Wachs. *Deutsches Bienen-Journal* **24**(12), 6–9.
- Spiewok S. (2016): Die Falschen geködert. *Deutsches Bienen-Journal* **24**(12), 13.
- Spleen AM, Lengerich EJ, Rennich K, Caron D, Rose R, Pettis R, Henson M, Wilke JT, Wilson M, Stitzinger J, Lee K, Andree M, Snyder R, & vanEngelsdorp D. (2013) A national survey of managed honey bee 2011-12 winter colony losses in the United States: results from the Bee Informed Partnership. *J. of Apicultural Research* **52**, 44–53.
- Spötter A, Gupta P, Mayer M, Reinsch N, Bienefeld K. (2016) Genome-wide association study of a *Varroa*-specific defense behavior in honeybees (*Apis mellifera*). *J. of Heredity*, **3**, 220–227.
- Stabentheiner A, Kovac H, Brodschneider R. (2010) Honeybee colony thermoregulation – regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress. *PLOS ONE* **5**, e8967. doi:10.1371/journal.pone.0008967
- Stanimirovic Z, Stevanovic J, Mirilovic M, Stojic V. (2008) Heritability of hygienic behavior in grey honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Acta veterinaria* **58**(5-6), 593–601.
- Staveley JP, Law SA, Fairbrother A, Menzie CA. (2014) A causal analysis of observed declines in managed honey bees (*Apis mellifera*). *Human and Ecological Risk Assessment* **20**, 566–591.
- Steinhauer NA, Rennich K, Wilson ME, Caron DM, Lengerich EJ, Pettis JS, Rose R, Skinner JA, Tarpay DR, Wilkes JT, vanEngelsdorp D. (2014) A national survey of managed honey bee 2012-2013 annual colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. *J. of Apicultural Research* **53**(1), 1–18.
- Stevenson JH. (1978). The Acute Toxicity of Unformulated Pesticides to Worker Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Plant Pathology* **27**, 38–40.
- Stoner KA, Eitzer BD. (2013) Using a Hazard Quotient to Evaluate Pesticide Residues Detected in Pollen Trapped from Honey Bees (*Apis mellifera*) in Connecticut. *PLOS ONE* **8**(10), e77550.
- Suchail S, De Sousa G, Rahmani R, Belzunces LP.. (2004) *In vivo* distribution and metabolism of ¹⁴C-Imidacloprid in different compartments of *Apis mellifera* L. *Pest Management Science* **60**, 1056–1062.
- Suklitsch M, Gobiet A, Leuprecht A, Frei C. (2008) High Resolution Sensitivity Studies with the Regional Climate Model CCLM in the Alpine Region. *Meteorologische Zeitschrift* **17**(4), 467–476.

Switaneck M, Crailsheim K, Truhetz H, Brodschneider R. (2016): Modelling seasonal effects of temperature and precipitation on honey bee winter mortality in a temperate climate. *Science of the Total Environment* **567**, 1581–1587. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.178>

Szabo TI. (1980) Effect of weather factors on honeybee flight activity and colony weight gain. *J. of Apicultural Research* **19**(3), 164–171.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**(10), 2731–2739.

Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M. (2004) Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France. *Applied and Environmental Microbiology* **70**(12), 7185–7191.

Teppner H, Brosch U. (2015) Pseudo-oligolecty in *Colletes hederæ* (Apidae-Colletinae, Hymenoptera). *Linzer biologische Beiträge*, **47**, 301–306.

Tison L, Hahn M-L, Holtz S, Rößner A, Greggers U, Bischoff G, Menzel R. (2016): Honey Bees' Behavior Is Impaired by Chronic Exposure to the Neonicotinoid Thiacloprid in the Field. *Environmental Science Technology* 2016, **50**(13), pp 7218–7227. DOI: 10.1021/acs.est.6b02658

Thompson HM. (2001) Assessing the exposure and toxicity of pesticides to bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie* **32**, 305–321.

Toxi S, Burgio G, Nieh J.. (2017) A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. *Scientific Reports* **7**, 1201.

Traynor KS, Pettis JS, Tarpy DR, Mullin CA, Frazier JL, Frazier M, vanEngelsdorp D. (2016) In-hive Pesticide Exposome, Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States. *Scientific Reports* **6**, 33207.

Traynor KS, Rennich K, Forsgren E, Rose R, Pettis J, Kunkel G, Madella S, Evans J, Lopez D, vanEngelsdorp D. (2016). Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie* **47**(3), 325–347.

Ullmann TD. (2004) maQ-Fragebogengenerator. Make a Questionnaire. Online im Internet: URL: <http://maq-online.de> (Stand Dezember 2015).

Universität Graz (2015) Neue Daten zum Bienensterben. Pressemeldung vom 02.06.2015. <http://on.uni-graz.at/de/detail/article/neue-daten-zum-bienensterben/> (21.01.2016).

Van Buren NWM, Mariën J, Velthuis HHW, Rob C.H.M. RCHM. (1992) Residues in Beeswax and Honey of Perizin, an Acaricide To Combat the Mite *Varroa jacobsoni* Oudemans (Acari: Mesostigmata). *Environmental Entomology* **21** (4), 860–865.

van der Steen JJM.. (2001) Review of the methods to determine the hazard and toxicity of pesticides to bumblebees. *Apidologie* **32**, 399–406.

van der Steen J, Brodschneider R. (2014a) Public participation in bee science: C.S.I. Pollen. *Bee World* **91**(1), 25-27.

van der Steen J & Brodschneider R. (2014b) C.S.I. Pollen: Preliminary report of year one. Proceedings of the 10th COLOSS Conference 6-8th September 2014, Murcia/Spain. p. 42.

- van der Zee R, Gray A, Pisa L, De Rijk T. (2015) An Observational Study of Honey Bee Colony Winter Losses and Their Association with *Varroa destructor*, Neonicotinoids and Other Risk Factors. *PLOS ONE* **10**, e0131611. doi:10.1371/journal.pone.0131611.
- van der Zee R, Brodschneider R, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Dahle B, Drazic MM, Kauko L, Kretavicius J, Kristiansen P, Mutinelli F, Otten C, Peterson M, Raudmets A, Santrac V, Seppälä A, Soroker V, Topolska G, Vejsnæs F, Gray A. (2014) Results of international standardised beekeeper surveys of colony losses for winter 2012-2013: analysis of winter loss rates and mixed effects modelling of risk factors for winter loss. *J. of Apicultural Research* **53**(1), 19–34.
- van der Zee R, Gray A, Holzmann C, Pisa L, Brodschneider R, Chlebo R, Coffey MF, Kence A, Kristiansen P, Mutinelli F, Nguyen BK, Adjlane N, Peterson M, Soroker V, Topolska G, Vejsnæs F, Wilkins S. (2013) Standard survey methods for estimating colony losses and explanatory risk factors in *Apis mellifera*. In V Dietemann; J D Ellis; P Neumann. (Eds) The COLOSS BEEBOOK, Volume I: Standard methods for *Apis mellifera* research. *J. of Apicultural Research* **52**(4).
- van der Zee R, Pisa L, Andonov S, Brodschneider R, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Crailsheim K, Dahle B, Gajda A, Gray A, Drazic MM, Higes M, Kauko L, Kence A, Kence M, Kezic N, Kiprijanovska H, Kralj J, Kristiansen P, Martin Hernandez R, Mutinelli F, Nguyen BK, Otten C, Özkırım A, Pernal SF, Peterson M, Ramsay G, Santrac V, Soroker V, Topolska G, Uzunov A, Vejsnæs F, Wei S, Wilkins S. (2012) Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *J. of Apicultural Research* **51**(1), 100–114.
- vanEngelsdorp D, Hayes JJR, Underwood RM, Pettis JS. (2008) A survey of honey bee colony losses in the US, fall 2007 to spring 2008. *PLOS ONE* **3**, e4071.
- vanEngelsdorp D, Hayes JJR, Underwood RM, Pettis JS. (2010) A survey of honey bee colony losses in the U.S., fall 2008 to spring 2009. *J. of Apicultural Research* **49**, 7–14.
- vanEngelsdorp D, Underwood R, Caron D, Hayes JJR. (2007) An estimate of managed colony losses in the winter of 2006-2007: a report commissioned by the Apiary Inspectors of America. *American Bee Journal* **147**, 599–603.
- vanEngelsdorp D, Hayes J, Underwood RM, Caron D, Pettis J. (2011) A survey of managed honey bee colony losses in the USA, fall 2009 to winter 2010. *J. of Apicultural Research* **50**, 1–10.
- vanEngelsdorp D, Evans JD, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, Nguyen BK, Frazier M, Cox-Foster D, Chen Y, Underwood R, Tarpay DR, Pettis JS. (2009) Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLOS ONE* **4**, DOI: 10.1371/journal.pone.0006481
- vanEngelsdorp D, Lengerich E, Spleen A, Dainat B, Cresswell J, Baylis K, Nguyen BK, Soroker V, Underwood R, Human H, Le Conte Y, Saegerman C. (2013) Standard epidemiological methods to understand and improve *Apis mellifera* health. *J. of Apicultural Research* **52**, 1–16.
- Von der Ohe W, Mitarbeiter. (2016) Institut für Bienenkunde Celle Jahresbericht 2015. (02.06.2017), von: http://www.laves.niedersachsen.de/download/108148/Jahresbericht_2015.pdf
- Vorwohl G 1968, Grundzüge einer modernen Pollenbeschreibung im Rahmen der Bienen- und Honigkunde. *Z. Bienenforschung* **9**(5), 224–230).
- Waibel A, Schühly W, Hernández-López J, Riessberger-Gallé U, Strobl V, Crailsheim K.. (2016) Akute Vergiftung der Hummel *Bombus terrestris* (LINNAEUS, 1758) durch drei Pestizide und deren Kombination. *Entomologica Austriaca* **23**, 1–11.
- Wallner K. (1999): Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie* **30**, 235–248.

Wickham H. (2009) ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag, New York.

Williams GR, Tarpy DR, vanEngelsdorp D, Chauzat M-P, Cox-Foster DL, Delaplane KS, Neumann P, Pettis JS, Rogers REL, Shutler D. (2010) *Colony Collapse Disorder in context. Bioessays* **32**, 845–846.

Williams GR, Troxler A, Retschnig G, Roth K, Yanez O, Shutler D, Neumann P, Gauthier L. (2015) Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens. *Scientific Reports* **5**, 14621.

Whitehorn PR, O'Connor S, Wackers FL, Goulson D. (2012) Neonicotinoid Pesticide reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. *Science* **336**.

Wood SN. (2011) Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *J. of the Royal Statistical Society B* **73**(1),3–36.

Woodcock BA, Isaac NJB, Bullock JM, Roy DB, Garthwaite DG, Crowe A, Pywell RF. (2016). Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. *Nature Communications* **7**,12459. DOI: 10.1038/ncomms12459

Woodcock BA, Bullock JM, Shore RF, Heard MS, Pereira MG, Redhead J, Ridding L, Dean H, Sleep D, Henrys P, Peyton J, Hulmes S, Hulmes L, Sárospataki M, Saure C, Edwards M, Genersch E, Knäbe S, Pywell RF. (2017) Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science* **356**, 1393–1395.

Wu-Smart J, Spivak M. (2016) Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. *Scientific Reports* **6**, 32108.

Yue C, Schröder M, Gisder S, Genersch E. (2007) Vertical-transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*). *J. of General Virology*, **88**, 2329–2336.

ZAMG Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (2016) ZAMG-Jahrbuch;
<http://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/klimauebersichten/jahrbuch>; Stand 19.1.2016.