

Wie Pestizide (Neonicotinoide) die Navigation, die Tanz-Kommunikation und das Lernverhalten von Bienen verändern

Randolf Menzel*

Zusammenfassung

Wir verwenden ein spezielles Radargerät, um den Flug von einzelnen Bienen über Kilometer zu verfolgen. Das Design der Versuche zum Studium ihrer Navigationsleistungen besteht darin, Bienen nach einer Dressur auf einer Futterstelle oder nach dem Verfolgen einer Tänzerin am Stockausgang mit einem Transponder auszustatten und an einer anderen Stelle innerhalb ihres explorierten Areals freizulassen. Sie führen dann zuerst einen Vektorflug durch, der sie entweder zum Stock zurück gebracht hätte (wären sie nicht versetzt worden) oder zu der im Tanz angegebenen Futterstelle. Danach führen sie einen Suchflug durch, von dem sie auf direktem Flug zum Stock zurückkehren. Die Experimente sind so angelegt, dass die Bienen sich dabei nicht nach einem Horizontprofil oder einer Landmarke in der Nähe des Stockes, sondern ausschließlich nach der Bodenstruktur orientieren können. Wir weisen nach, dass das Navigationsgedächtnis der Bienen am besten als eine kognitive Karte beschrieben werden kann. Subletale Dosen von Neonicotinoiden stören selektiv die Heimflugphase, die auf der Verwendung dieses kartenartigen Gedächtnisses beruht, sodass die Tiere dann nicht mehr sicher zum Stock zurückfinden. Eine chronische Aufnahme von Thiacloprid reduziert die Sammelaktivität und die Tanzkommunikation.

Summary

How pesticides (neonicotinoids) change navigation, recruitment, and learning behavior of bees. Navigation in honeybees is studied with the help of a special radar that allows to trace the flights of individual bees over kilometers. In a typical experiment, the bees were trained to a feeder or they follow a dancing bee. Then we equipped one bee with a radar transponder and released it at a site within the range of the explored area. First, the animal performs a straight flight that would have brought it back from the feeder to the hive (vector flight) would it not have been transported to a different site. In the case of the dance follower, the bee performs the vector information transmitted in the dance, as described by Karl von Frisch and followers. Then the bee loops around (search flight), followed by a straight return flight to the hive (homing flight). We carried out the experiments in an area where the skyline of the horizon or a beacon at the hive did not guide the bees' navigation. Thus, the bees referred only to the pattern of landmarks on the ground. We show that the memory structure used by the bees can be best conceptualized as a cognitive map storing the geometric relations of landmarks and important locations. Sublethal doses of neonicotinoids interfere selectively with the homing flight component based on this cognitive map memory, reducing the probability of successful returns to the hive. Chronic exposure to the neonicotinoid Thiacloprid reduces the attractiveness of a feeding site and the rate of recruitment.

* Menzel, Randolf, Prof. Dr., Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie – Neurobiologie, Königin-Luise-Straße 28/30, 14195 Berlin; menzel@neurobiologie.fu-berlin.de

Einführung

Zu dem Tagungsthema »in einer sich wandelnden Welt« gehört auch unsere durchorganisierte Menschenwelt mit ihrer industrialisierten Landwirtschaft, bei der immer seltener auf traditionelle Anbaumethoden zurückgegriffen wird, um die Konkurrenten – Pilze, Viren, Insekten, Würmer und andere Kleintiere – in Schach zu halten. Vor allem bei den Insekten kommt es darauf an, ihre schädliche Wirkung einzudämmen, denn sie sind ja unsere hauptsächlichen Konkurrenten in der landwirtschaftlichen Produktion. Eine der Waffen dabei sind chemische Bekämpfungsmethoden, die sich über die letzten Jahrzehnte zwar verbessert haben, aber nach wie vor große Schäden in der Natur anrichten. Seit etwa 20 Jahren gibt es eine Gruppe von Insektiziden, die Neonicotinoide, die weniger breit und weniger unspezifisch wirken als die vorher eingesetzten Insektizide. Sie sind aber nur spezifisch in der Unterscheidung zwischen Insekten und Nicht-Insekten; innerhalb der Insekten treffen sie alle gleichermaßen, die diese Substanzen aufnehmen.

Als Neurobiologe interessiert mich, wie diese Gruppe der Insektizide auf das zentrale Nervensystem der Insekten wirkt und dabei möglicherweise ihr Verhalten auch bei sehr geringen Dosen verändert. Mein Zugang ist dabei der eines Verhaltensbiologen, der sich seit geraumer Zeit mit Bienen (Westliche Honigbiene, *Apis mellifera*) beschäftigt, und nicht so sehr der eines Ökotoxikologen, der die Frage stellt, ob die in der Umwelt wirkenden Neonicotinoide in bestimmten Dosen eine entsprechende Wirkung z. B. auf Bienen ausüben.

Navigation bei Bienen

Wollen wir navigierende Tiere wie Bienen beobachten, so müssen wir sie im Flug verfolgen. Wir verwenden dazu ein sog. harmonisches Radar, das ein Signal empfängt, das von einer Antenne des Transponders, den die Biene trägt, zurückgesendet wird (Abb. 1). Auf diese Weise können wir einen Flug über einen Radius von etwa 1,5 km verfolgen, die Navigationsstrategie der Tiere untersuchen und sehen, ob und ggf. welche Anteile des Flugverhaltens sich nach Aufnahme von Neonicotinoiden verändern. Dazu müssen wir aber erst verstehen, wie das Navigationssystem von Bienen funktioniert.

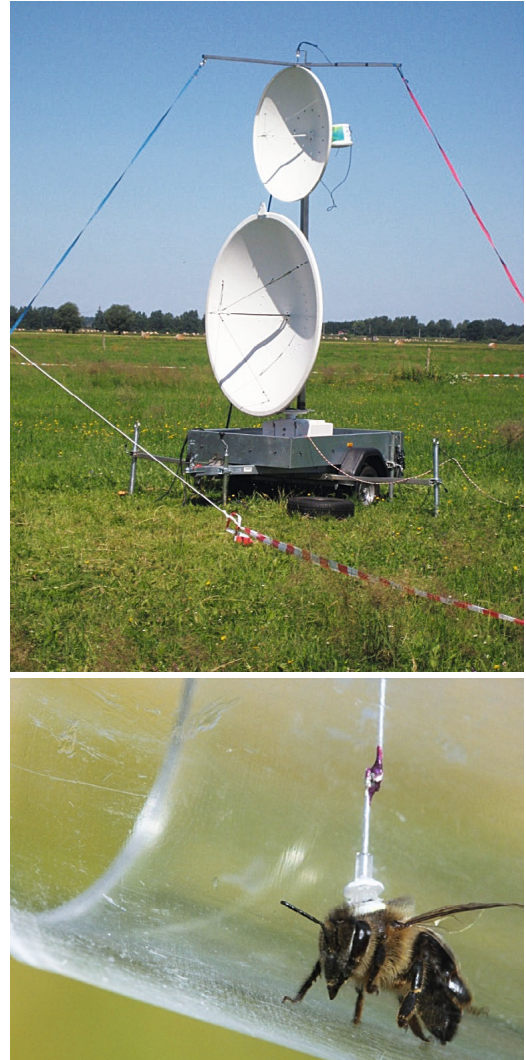


Abb. 1. Harmonisches Radargerät und Biene (*Apis mellifera*) mit Transponder. Die untere Radarschüssel sendet das Radarsignal aus, die obere empfängt das Signal, das von dem Transponder, den die Biene trägt, zurückgesendet wird. – Fotos: Randolph Menzel.

Orientierungsflug

Aus den Arbeiten von Karl von Frisch, Martin Lindauer und ihren Schülern wissen wir schon sehr viel darüber, wie Bienen navigieren, wie sie von Innendiensttieren zu Sammelbienen werden, dass sie anfänglich Orientierungsflüge durchführen und dass sie für die Kommunikation den Schwänzeltanz einsetzen (von Frisch 1965). Beim Kennenlernen der Umgebung des Stockes

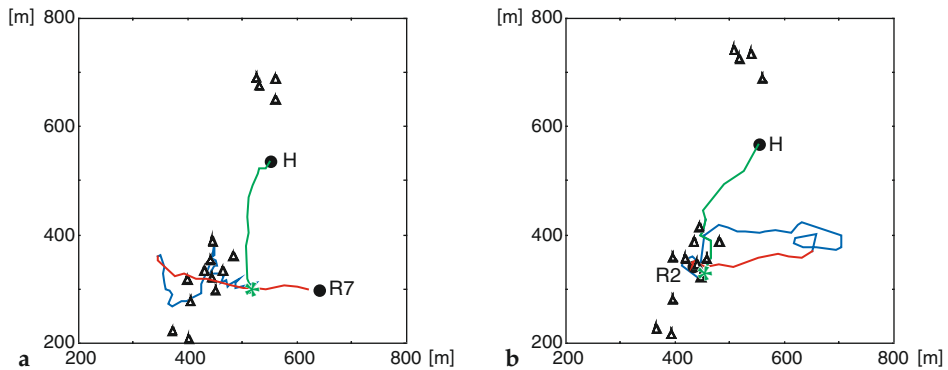


Abb. 2. Typische Flugbahnen nach der Freilassung von Bienen (*Apis mellifera*), die (a) auf eine stationäre Futterstelle (200 m östlich des Stocks) trainiert waren, oder (b) denen diese Futterstelle im Stock über einen Tanz angezeigt worden war (rekrutierte Bienen). Die dressierten Bienen wurden nach abgeschlossener Nahrungsaufnahme gesammelt und an die Auflassstelle R7 transportiert. Die rekrutierten Bienen wurden am Stockausgang eingesammelt, nachdem sie Tänzen gefolgt waren, die eine Futterstelle 200 m im Osten anzeigten. Sie wurden dann ebenfalls an einer anderen Stelle (R2) aufgelassen. H: Stock; R2/R7: Auflassstellen; Δ : als Landmarken aufgestellte Zelte; *: Beginn des Heimflugs; aufeinander folgende Flugphasen: rot: Vektorflug, blau: Suchflug, grün: Heimflug. – Menzel et al. (2005).

wenden die jungen Bienen eine Flugstrategie an, bei der sie zunächst über kurze Entfernungen (100–250 m) in verschiedene Richtungen fliegen und erst, wenn sie diesen Bereich exploriert haben, größere Flüge unternehmen. Bei diesen Orientierungsflügen muss die Biene den Sonnenkompass des betreffenden Standorts lernen, sie muss die Zeit für ihre innere Uhr stellen und sie muss anhand von lokalen Landmarken ein Landschaftsgedächtnis entwickeln.

Wir haben unsere Versuche zunächst in einer Umgebung in Nordbrandenburg durchgeführt, in der der Horizont sehr gleichförmig ist und daher die Orientierung nach dem Horizontprofil entfällt. Außerdem kann die Biene den Stock nur über eine Entfernung von maximal 60 m erkennen. Wird eine Biene, nachdem sie ihren ersten Orientierungsflug durchgeführt hat, gefangen und in einem bereits explorierten Bereich freigelassen, sucht sie zunächst etwas herum, bevor sie den Rückweg zu ihrem Stock zielstrebig findet. Da sie dabei keine Wegintegration verwenden kann, d. h. den Hin- und Rückweg nicht miteinander verrechnen kann, ist sie auf das Erkennen von bereits gelernten Landschaftsmerkmalen angewiesen, um zurückzufinden. Wird sie in nicht explorierten Bereichen ausgesetzt, findet sie nicht oder erst zufällig nach langem Suchen zurück, da sie sich nicht auf gelernte Merkmale in dem gelernten Sektor beziehen kann.

Vektor- und Landschaftsgedächtnis

Bei dem sog. Catch-and-Release-Experiment, das wir in unseren Untersuchungen einsetzen, wird ein Tier einer Sammelgruppe, die zwischen dem Stock und einer Futterstelle hin- und herfliegt, in dem Moment eingefangen, in dem es sich bereit macht, nach Hause zu fliegen. Dann wird es an eine andere Stelle innerhalb seines explorierten Bereiches (etwa 500 m Radius um den Stock) transportiert, dort mit einem Radartransponder ausgestattet und freigesetzt («Auflassstelle»).

Zunächst fliegt eine solche Biene über eine Strecke und eine Richtung, die sie nach Hause gebracht hätte (d. h., sie fliegt den Vektor von der gelernten Futterstelle zum Stock), sucht dann etwas herum – denn da ist ja nun kein Stock – und fliegt dann direkt zu ihrem Stock zurück (Abb. 2a). Wenn die Tiere also ihre exploratorischen Orientierungsflüge durchgeführt haben, außerdem schon weitere Informationen gesammelt haben und auf eine bestimmte Route dressiert worden sind, verwenden sie eine Strategie, bei der sie offensichtlich zwei verschiedene Gedächtnisse nacheinander anwenden (Menzel et al. 2005):

- ein Vektorgedächtnis, um den Flugvektor zu fliegen, der sie automatisch zurückgebracht hätte, wenn sie nicht räumlich versetzt worden wäre, und, nach einer Suchbewegung,
- ein Landschaftsgedächtnis, das aus ihren exploratorischen Orientierungsflügen stammt

und das sie über längere Strecken und aus allen Richtungen in den Stock zurückbringt.

Wir unterscheiden also zwischen einem Vektorflug und einem Heimflug. Letzterer verlangt von den Tieren, dass sie sich an ein Tage oder Wochen zurückliegendes Gedächtnis erinnern und auf diese Weise sich auf ein allgemeines Landschaftsgedächtnis beziehen.

Dieses Landschaftsgedächtnis kann von der Biene für den Heimflug auch eingesetzt werden, wenn sie entsprechend der über die Tanzkommunikation (Schwänzeltanz) aufgenommenen Information ausfliegt, aber das angegebene Ziel nicht erreicht. Eine Gruppe von Bienen wurde auf eine Futterstelle dressiert, die 200 m östlich vom Stock lag. Einige Bienen warben mit ihren Schwänzeltänzen für diese Futterstelle. Da nahezu alle Bienen im Stock ein Nummernschildchen trugen, konnten wir eine bestimmte Biene am Stock abfangen, von der wir wussten, dass sie dem Tanz gefolgt war und dass sie noch nie an der Futterstelle gesammelt hatte. Diese Biene haben wir dann ebenfalls an einer anderen Stelle ausgesetzt und ihren Flug mit dem Radargerät verfolgt (Riley et al. 2005). Die rekrutierten Bienen flogen zunächst nach Osten entsprechend der Vektorinformation, die sie über den Tanz aufgenommen hatten, dann kehrten sie an die Auflassstelle zurück und flogen von dort auf direktem Weg zum Stock (Abb. 2b).

An dieser Stelle möchte ich nochmals betonen, dass bei all diesen Experimenten die Bienen weder eine Struktur des Horizonts noch eine Landmarke am Stock für ihre Entscheidung zum Heimflug nutzen konnten. Sie waren ausschließlich auf lokale Marken auf dem Boden angewiesen, deren geometrische Bezüge sie untereinander sowie zum Stock und zu der Futterstelle in ihrem Gedächtnis gespeichert hatten.

Landschaftsgedächtnis: Vektorintegration oder geometrische Karte?

Die direkten Heimflüge lassen vermuten, dass das Landschaftsgedächtnis der Bienen die geometrischen Bezüge von Landmarken und wichtigen Orten speichert, also die Struktur einer geometrischen Karte haben könnte, einer so genannten kognitiven Karte. Diese Interpretation wird auch gestützt durch den Befund, dass ein Teil der Bienen des ersten Experiments (Abb. 2a) zuerst die Futterstelle auf direktem Flug ansteuerten und dann von dort zum Stock flogen. Es

könnte aber auch sein, dass das Landschaftsgedächtnis auf einem Prozess von Operationen beruht, mit denen mehrere Vektoren berechnet werden (Cruse & Wehner 2011).

Um herauszufinden, welche Struktur das Landschaftsgedächtnis der Bienen hat und ob Bienen in der Lage sind, die Informationen aus der Tanzkommunikation darin einzufügen, haben wir folgendes Experiment durchgeführt (Menzel et al. 2011; Abb. 3). Eine Gruppe von Bienen wurde auf eine Futterstelle dressiert. Dann wurde die Futterstelle geschlossen und die Bienen hielten sich im Stock auf, denn zu der Versuchszeit gab es nur sehr wenig natürliche Tracht. Zwei Bienen aus dem gleichen Stock wurden auf eine andere Futterstelle dressiert und warben mit ihren Tänzen für diese Stelle. Wenn eine Biene der ersten Gruppe der Tänzerin gefolgt war, hatten wir ihren Ausflug mit dem Radar verfolgt. In Abhängigkeit davon, wie viele Schwänzelläufe sie beobachtet hatte, flog sie nun entweder zu der ihr bekannten Futterstelle oder zu der im Tanz angezeigten Stelle. Unter bestimmten Bedingungen (auf die ich gleich eingehen werde) flog die Biene anschließend direkt zu der entsprechenden anderen Stelle – also zu der Tanzstelle, wenn sie zuerst zu ihrer bekannten Stelle geflogen war, oder zu der ihr bekannten Stelle, wenn sie zuerst zu der im Tanz angezeigten Stelle geflogen war. Wie die Abbildung zeigt, war das Experiment so angelegt, dass die beiden Verbindungen zwischen Stock (engl. hive, H) und bekannter Stelle (FT) sowie zwischen Stock und der im Tanz angezeigten Stelle (FD) einen Winkel von entweder 30° (Abb. 3a,c) oder 60° (Abb. 3b) hatten. Außerdem betrug die Entfernung zwischen Stock und den beiden Stellen entweder 300 m (Abb. 3a,b) oder 650 m (Abb. 3c). Direkte Flüge zwischen der bekannten Stelle und der im Tanz angezeigten Stelle (in die eine oder andere Richtung) traten bei einer Entfernung von 300 m sowohl bei 30°- wie bei 60°-Anordnung auf, bei der Entfernung von 650 m nur bei der 30°-Anordnung. Hier möchte ich betonen, dass während der Flüge der Bienen an der bekannten Stelle nichts auf den ehemaligen Futterplatz hinwies und dass das Futtergefäß für die beiden Tänzerinnen so im Gras versteckt war, das die Testbienen es nicht sehen konnten und auch in keinem Fall fanden. Außerdem wurde wie bei allen unseren Experimenten kein Duft eingesetzt.

Das Verhalten, eine neue und direkte Verbindung zwischen zwei Orten einzuschlagen, wird

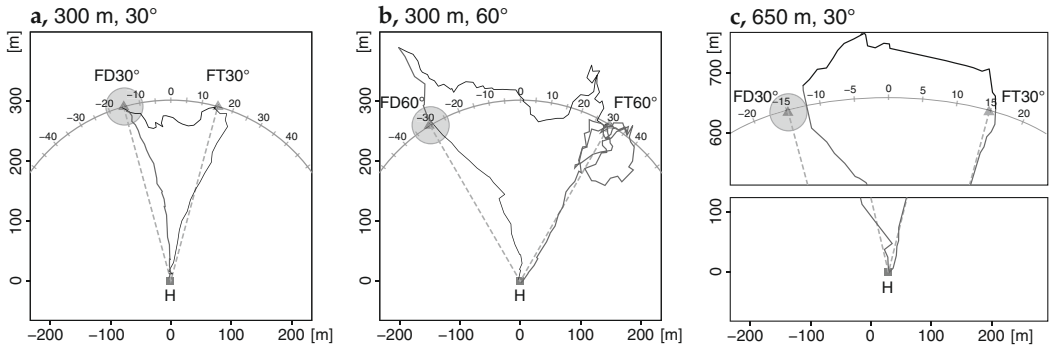


Abb. 3. Typische Flugbahnen von Bienen (*Apis mellifera*) zu zwei Stellen: die im Tanz übermittelte Stelle (FD) und die zuvor in Sammelflügen erlernte Stelle (FT). Der Winkel zwischen den Verbindungslinien vom Stock (H) zu FD und zu FT (gestrichelte Linien) beträgt entweder 30° (a,c) oder 60° (b). Die Entfernung zwischen Stock und FD bzw. Stock und FT beträgt entweder 300 m (a,b) oder 700 m (c, es sind nur zwei Ausschnitte gezeigt). – Nach Menzel et al. (2011).

üblicherweise als ein Indiz für eine kognitive Karte als Struktur des Navigationsgedächtnisses angesehen, wenn ausgeschlossen werden kann, dass nicht andere Mechanismen eingesetzt werden, wie zum Beispiel Wegintegration, Landmarken an den Zielorten oder ein strukturierter Horizont (Tolman 1948, Wiener et al. 2011). Allerdings könnte das Tier eine solche neue und direkte Verbindung auch dann zurücklegen, wenn es wie oben erwähnt einen Prozess der Vektoraddition durchführt, also in unserem Fall die beiden Vektoren – in Sammelflügen erlernter Flugvektor und über den Tanz gelernter Flugvektor – so miteinander verrechnet, dass eine Verbindung zwischen den beiden möglichen Zielen entsteht. Diese von Cruse und Wehner (2011) vorgeschlagene Möglichkeit verlangt zwar einige zusätzliche Annahmen (z. B. eine Umstimmung der Motivation während des Fluges), lässt sich aber mit diesen und den oben erwähnten Daten nicht ausschließen.

Beruhet also das Landschaftsgedächtnis der Bienen auf einer metrischen Repräsentation der Landschaftsmerkmale – also einer kognitiven Karte, die es den Bienen erlaubt, die beiden Orte mental, sozusagen bienendenkend, miteinander zu verbinden – oder auf der Verrechnung von zwei Vektoren? Um diese Frage zu klären, haben wir folgendes Experiment durchgeführt. Bienen wurden vom Stock auf eine 500 m entfernte Futterstelle dressiert. Wie oben beschrieben, haben wir die Tiere gesammelt und an einer anderen Stelle freigelassen. Wie erwartet, flogen sie zunächst einen Vektor (der sie von der Futterstelle

zum Stock zurückgebracht hätte) und schlugen dann sehr schnell ihren direkten Heimflug zum Stock ein. Der Vektorflug beruht ja auf dem Sonnenkompass der Bienen. Wird nun eine Gruppe von Tieren 6 Stunden mit einem Narkosemittel betäubt, bleibt ihre innere Uhr stehen. Wenn die Tiere dann wieder aufwachen, schätzen sie die Zeit um ca. 5 Stunden zu früh ein. Sie schlagen dann einen Vektorflug ein, der nach Osten verschoben ist. Würden sie eine Vektoroperation für den nun anschließenden Heimflug verwenden, würden sie in eine ganz andere Richtung fliegen, um zum Stock zurückzuflogen, und möglicherweise verloren sein (Cheeseman et al. 2014).

Es stellte sich nun heraus, dass es keine signifikanten Unterschiede in der Heimflugphase gibt zwischen den Tieren mit verstellter Uhr und den Kontrolltieren, sowohl hinsichtlich der Zeit, die sie zum Heimflug brauchen, als auch der geflogenen Distanz. Das bedeutet, dass die Bienen in der Heimflugphase keinen Vektor verwenden. Vielmehr müssen sie sich auf Landschaftsmerkmale beziehen, mit denen sie nach Abschluss des Vektorflugs die Zeitverschiebung korrigieren, und diese Landschaftsmerkmale dann verwenden, um den Stock direkt anzufliegen. Wir schließen daraus, dass die Navigation der Bienen eindeutig auf einer Art kognitiver, metrischer Karte beruht.

Zusammenfassend lässt sich zur Navigation bei Bienen festhalten: Die Tiere erlernen die Landschaftsmerkmale auf ihren exploratorischen Orientierungsflügen in der Weise, dass sie ein Gedächtnis aufbauen, dessen Struktur am besten als kognitive Karte beschrieben wird.

Neonicotinoide

Neonicotinoide sind synthetisch hergestellte, relativ spezifische und hochwirksame Insektizide. Wir wissen, dass sie insbesondere an den höher geordneten, cholinergen Synapsen des Insektengehirns als Agonisten des nikotinischen Acetylcholinrezeptors (nAChR) binden. Dadurch wird die Erregungsleitung im zentralen Insektengehirn gestört. Die nAChR sind in den Eingangs- und Ausgangsbereichen und z. T. innerhalb der Pilzkörper lokalisiert. Die Pilzkörper sind für die übergeordnete Gedächtnisbildung und für die Organisation komplexer Verhaltensweisen von entscheidender Bedeutung. Die Frage ist nun, ob und ggf. wie geringe Dosen von Neonicotinoiden die Gedächtnisbildung und/oder den Gedächtnisabruf beeinträchtigen.

Versuchsdesign

Tabelle 1 zeigt die von uns untersuchten Neonicotinoide und ihre Dosen. Die Verwendung von Clothianidin und Imidacloprid ist in der EU bis Dezember 2015 ausgesetzt, Thiacloprid ist nach wie vor im Einsatz. Wir haben die Dosen so gewählt, dass die Tiere in ihrem Verhalten keine sensomotorische Schädigung zeigen, d. h., sie können normal fliegen und orientieren sich nach dem Sonnenkompass. In einem typischen Experiment werden die Bienen auf einen Futterplatz in ca.

450 m Entfernung vom Stock dressiert. Sie werden dort bei der Ankunft eingesammelt, erhalten die Wirkstoffe zusammen mit Zuckerlösung in einem Kästchen angeboten und werden nach 90 Minuten Inkubationszeit an einer anderen Stelle für den Rückflug ausgesetzt. Insgesamt wurde auf diese Weise das Flugverhalten von 208 Bienen getestet (Fischer et al. 2014). Aus den Flugbahnen werden folgende Parameter ausgewertet: Länge und Richtung des Vektorflugs, Übergangsrichtung vom Vektor- zum Heimflug (Nord, Süd, andere Richtung) sowie Länge und Dauer des Heimflugs.

Heimfindervermögen, Vektorflug und Heimflug

Das typische Flugbild einer Kontrollbiene zeigt den Vektorflug, der an einer sehr offensichtlichen Landmarke, einem Entwässerungskanal, endet. Dort macht die Biene eine 90°-Wendung und fliegt direkt zum Stock zurück, der in der Nähe des Kanals steht (Abb. 4). Ein mit Thiacloprid behandeltes Tier macht die charakteristische Wende nicht, sondern fliegt über den Kanal hinaus und wieder zurück, fliegt dann zunächst in die falsche Richtung und findet auch nach einer erneuten Wende nicht zum Stock zurück.

Dass die Aufnahme von geringen Dosen von Neonicotinoiden die Rückkehrwahrscheinlichkeit von Bienen reduziert (Fischer et al. 2014, Tab. 2), war bereits aus den Arbeiten einer französischen Arbeitsgruppe bekannt (Henry et al. 2012), aber

Tab. 1. Neonicotinoide und ihre für die Versuche an Bienen (*Apis mellifera*) verwendeten Dosen. Inkubationszeit: 90 Minuten; $\mu\text{M}=10^{-6}$ Mol, $\text{mM}=10^{-3}$ Mol, ppb = parts per billion = $1 \cdot 10^{-9}$, ppm = parts per million = $1 \cdot 10^{-6}$.

Name	Zulassung	Dosis	Konzentration im Tier
Clothianidin	ausgesetzt	0,2 μM	2,5 ng/Biene, 25 ppb
Imidacloprid	ausgesetzt	0,6 μM 0,9 μM	7,5 ng/Biene, 75 ppb 11,25 ng/Biene, 112,5 ppb
Thiacloprid	ja	0,1 mM	1,25 μg /Biene, 12,5 ppm

Tab. 2. Heimfindervermögen von Bienen (*Apis mellifera*) nach Behandlung mit Neonicotinoiden. *n*: Gesamtzahl der Tiere. – Fischer et al. (2014).

Behandlung	<i>n</i>	kein Start	verzögerter Start	Ankunft im Stock	keine Ankunft
Kontrolle	57	1	1	50	7
Clothianidin (0,2 μM)	55	1	2	44	12
Imidacloprid (0,6 μM)	58	2	2	42	16
Imidacloprid (0,9 μM)	19	2		6	13
Thiacloprid (0,1 mM)	27	3	8	12	15

man wusste nicht, welche Art von Navigationsgedächtnis gestört wird. Für den Vektorflug ergeben sich zunächst folgende Befunde:

- Der Vektorflug ist nur wenig beeinträchtigt (z. B. Abb. 4).
- Die Länge des Vektorflugs ist bei den behandelten Tieren gegenüber den Kontrolltieren signifikant kürzer bei Gabe von $0,9 \mu\text{M}$ Imidacloprid und länger bei Gabe von $0,1 \text{ mM}$ Thiacloprid.
- Die Tiere halten bei Gabe von Clothianidin und Imidacloprid (beide Dosen) strenger die Vektorberechnung ein als die Tiere der Kontrollgruppe, die schon während des Vektorflugs langsam auf das kartenartige Landschaftsgedächtnis übergehen.

Am Ende des Vektorflugs kam es mit Ausnahme der Gruppe, die mit $0,6 \mu\text{M}$ Imidacloprid behandelt worden war, zu signifikanten Änderungen beim Übergang vom Vektor- in den Heimflug (Fischer et al. 2014, Tab. 3).

Für den Heimflug (nach dem Ende des Vektorflugs) lässt sich festhalten:

- Die Länge des Heimflugs ist signifikant größer für die Bienen, die mit Clothianidin behandelt wurden (Abb. 5a).
- Die Dauer des Heimflugs ist signifikant größer für die Bienen, die mit Clothianidin oder mit Thiacloprid behandelt wurden (Abb. 5b).

Nun ist die Frage, ob die von uns verwendeten Dosen vergleichbar sind zu den Dosen, die z. B. bei der Verwendung von gebeiztem Saatgut im Nektar der Blüten auftreten. Die Dosen, die wir verwendet haben, sind in der Tat etwas höher, aber das ist eine schwierige Problematik, weil es keine zuverlässigen Daten darüber gibt, welche Mengen an Neonicotinoiden Bienen unter natürlichen Bedingungen in der Landwirtschaft

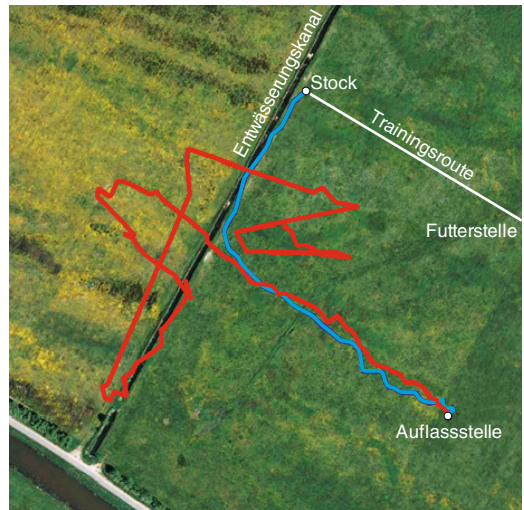


Abb. 4. Typische Flugbahnen einer Kontrollbiene (blau) und einer Biene (*Apis mellifera*), die am Futterplatz Thiacloprid aufgenommen hatte (rot), nach Freilassung an einem anderen Ort (Auflasssstelle). Das mit Thiacloprid behandelte Tier findet nicht zum Stock zurück. – Nach Fischer et al. (2014).

aufnehmen. Wenn man nämlich die Menge dieser Pestizide in den Tieren misst, die zum Stock zurückkehren, werden diejenigen Tiere vernachlässigt, die gar nicht mehr zum Stock zurückfinden. Misst man, wie viel eines bestimmten Neonicotinoids im Nektar von Blüten (etwa vom Raps oder der Sonnenblume) enthalten ist, und schätzt ab, wie viel Nektar die Bienen von diesen Blüten aufnehmen, muss man eine Reihe von Annahmen machen (z. B. wie lange ein Sammelflug dauert, wie viel von dem aufgenommenen Nektar bereits in den Betriebsstoffwechsel eingeht). Solche Rechnungen sind mit einer Fülle von Unsicherheiten verbunden und führen üblicherweise zu Werten,

Tab. 3. Flugverhalten von Bienen (*Apis mellifera*) beim Übergang vom Vektor- zum Heimflug nach Behandlung mit Neonicotinoiden. *n*: Gesamtzahl der Tiere. – Fischer et al. (2014).

Behandlung	<i>n</i>	Richtung des Fluges nach dem Vektorflug				Anteil L-Typ-Flüge von Bienen, die nach Norden fliegen
		Nord	Süd	kreisförmig	andere (Ost/West)	
Kontrolle	48	31	14	3		74 %
Clothianidin ($0,2 \mu\text{M}$)	41	29	12	0		62 %
Imidacloprid ($0,6 \mu\text{M}$)	41	31	5	1	4	74 %
Imidacloprid ($0,9 \mu\text{M}$)	9	7	0	0	2	57 %
Thiacloprid ($0,1 \text{ mM}$)	14	5	5	4	3	60 %

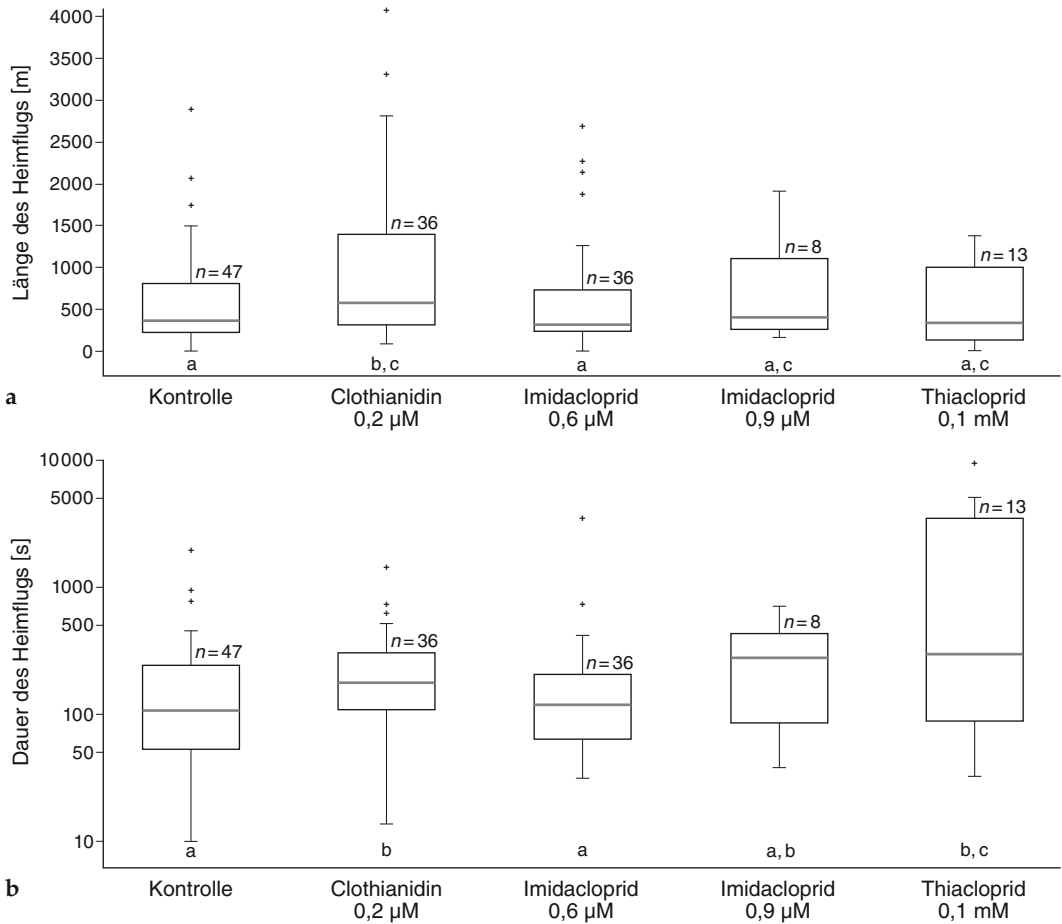


Abb. 5. Länge (in Meter; **a**) und Dauer (in Sekunden; **b**) des Heimflugs (nach Ende des Vektorflugs) von Bienen (*Apis mellifera*) nach Behandlung mit Neonicotinoiden. *n*: Gesamtzahl der Tiere. Tiere, die nicht zum Stock geflogen sind, wurden nicht berücksichtigt. Die Kreuze geben die Werte von Ausreißern an; verschiedene Buchstaben: signifikanter Unterschied, $p < 0,05$ (rank-sum test). – Fischer et al. (2014).

die als zu niedrig eingeschätzt werden. Eine Orientierung mag die folgende Zusammenstellung geben, auf die sich die Teilnehmer einer kürzlich durchgeführten internationalen Tagung geeinigt haben. Bei Clothianidin, Imidacloprid und Coumaphos Oxon treten signifikante Veränderungen der neuronalen Aktivität und des Verhaltens bei Bienen bei einer Konzentration von 2,5–3,6 ppb in gestörten Tieren auf. In Blüten (Nektar) wurden bis zu 28 ppb gefunden. In toten Bienen wurden z. B. 3,8–13,3 ppb Clothianidin gefunden (Einheiten s. Legende zu Tab. 1).

Chronische Exposition

Die bisher dargestellten Befunde beziehen sich auf die akute Wirkung der untersuchten Neonicotinoide. Um die chronische Wirkung zu untersuchen, haben wir die Tiere Thiacloprid in einer Konzentration von 20 μ M über einen längeren Zeitraum an der Futterstelle aufnehmen lassen, sodass es sich sowohl in ihrem Körper wie im Stock langsam anreichern konnte. Die dabei eingesetzten Dosen entsprechen Bedingungen, die in der Landwirtschaft auftreten. Die Aufgabe der Tiere, zurück zum Stock zu finden, war in diesen Experimenten einfacher, da wir in einer Gegend gearbeitet haben, in der sowohl die Landschaft reichhaltiger war (an Wegen und

Feldern) als auch ein strukturiertes Horizontprofil zur Verfügung stand. Die Futterstelle befand sich 330 m vom Stock entfernt, die Auflassstelle war 750 m entfernt.

Im Verlauf des Experiments benötigten wir sehr viel höhere Konzentrationen an Zuckerlösung, damit die Tiere, die Thiacloprid bekamen, die Futterstelle überhaupt weiter besuchten. Diese reduzierte Attraktivität lag aber nicht an einer aversiven Geschmackskomponente, denn der Effekt stellte sich erst ein, nachdem sich Thiacloprid in den Tieren über mehrere Tage angereichert hatte. Obwohl wir die Zuckerkonzentration erhöhten, sank die Zahl der Tiere, die die Futterstelle besuchten, d.h., das Neonicotinoid reduziert die Sammelaktivität und die Rekrutierungsrate. In der Tat führten die Tiere keine Schwänzeltänze mehr durch. Weiter stellte sich heraus, dass das Heimkehrvermögen der mit Thiacloprid behandelten Bienen signifikant reduziert war. Die behandelten Tiere kommen, wenn überhaupt, nach sehr viel längerer Zeit zurück, sind also in der Heimkehrphase gestört. Die Vektorphase ist auch hier nicht beeinträchtigt.

Fazit

- Die sensomotorischen Abläufe, die zu einem normalen Vektorflug notwendig sind, wurden durch die von uns getesteten geringen, subletalen Dosen von Neonicotinoiden nicht gestört. Gestört ist aber die Gedächtnisfunktion, die sich auf den Heimflug auswirkt.
- Die Rückkehrwahrscheinlichkeit ist bei den behandelten Bienen geringer als bei den nicht behandelten.
- Die Wahrscheinlichkeit, dass an einer charakteristischen Landmarke eine Kehrtwendung in die richtige Richtung ausgeführt wird, ist bei den behandelten Bienen geringer.
- Die behandelten Bienen führen während der Heimflugphase weniger direkte Flüge aus.
- Wir folgern daraus, dass subletale Dosen der drei untersuchten Neonicotinoide entweder das Kartengedächtnis stören oder es nicht mehr abrufbar machen.

Literatur

- Cheeseman, F. J., C. D. Millar, U. Greggers, K. Lehmann, M. D. M. Pawley, C. R. Gallistel, G. R. Warman & R. Menzel. 2014. Way-finding in displaced clock-shifted bees proves bees use a cognitive map. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 111 (24): 8949–8954.
- Cruse, H. & R. Wehner. 2011. No need for a cognitive map: decentralized memory for insect navigation. – *PLoS Computational Biology*, 7 (3): e1002009, doi: 10.1371/journal.pcbi.1002009
- Fischer, J., T. Müller, A.-K. Spatz, U. Greggers, B. Grünewald & R. Menzel. 2014. Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees. – *PLoS ONE*, 9 (3): e91364, doi: 10.1371/journal.pone.0091364
- Henry, M., M. Béguin, F. Requier, O. Rollin, J. F. Odoux, P. Aupinel, J. Aptel, S. Tchamitchian & A. Decourtye. 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. – *Science*, 336 (6079): 348–350.
- Menzel, R., U. Greggers, A. Smith, S. Berger, R. Brandt, S. Brunke, G. Bundrock, S. Hülse, T. Plümpe, F. Schaupp, E. Schüttler, S. Stach, J. Stindt, N. Stollhoff & S. Watzl. 2005. Honey bees navigate according to a map-like spatial memory. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 102 (8): 3040–3045.
- Menzel, R., A. Kirbach, W.-D. Haass, B. Fischer, J. Fuchs, M. Koblofsky, K. Lehmann, L. Reiter, H. Meyer, H. Nguyen, S. Jones, P. Norton & U. Greggers. 2011. A common frame of reference for learned and communicated vectors in honeybee navigation. – *Current Biology*, 21 (8): 645–650.
- Riley, J. R., U. Greggers, A. D. Smith, D. R. Reynolds & R. Menzel. 2005. The flight paths of honeybees recruited by the waggle dance. – *Nature*, 435 (7039): 205–207.
- Tolman, E. C. 1948. Cognitive maps in rats and men. – *The Psychological Review*, 55 (4): 189–208.
- von Frisch, K. 1965. *Tanzsprache und Orientierung der Bienen*. – Springer, Heidelberg, 578 S.
- Wiener, J., S. Shettleworth, V. P. Bingman, K. Cheng, S. Healy, L. F. Jacobs, K. J. Jeffrey, H. A. Mallot, R. Menzel & N. S. Newcombe. 2011. Animal navigation, a synthesis. – In: Menzel, R. & J. Fischer (eds.): *Animal thinking: Contemporary issues in comparative cognition*. MIT Press, Cambridge, MA, USA: 51–78.

Diskussion

P. Maske: Vor kurzem habe ich erfahren, dass Bienen nach Gabe von Neonicotinoiden bis zu 48 Stunden wie tot am Boden liegen, aber nicht tot sind. Sie bewegen sich irgendwann wieder, aber man weiß nicht, in welchem Zustand sie dann tatsächlich sind.

R. Menzel: Auch wir haben beobachtet, dass Tiere, die verloren gegangen waren, am nächsten Tag wieder an der Futterstelle oder am Stock aufgetaucht sind. Allerdings waren das sehr wenige Tiere. In einigen Fällen haben die Bienen sogar noch den Transponder getragen. Der Entgiftungsprozess wurde ja auch bereits beschrieben. Allerdings wird es auf die Wetterbedingungen und auf den Ort ankommen, wo die Biene ihren Heimflug verloren hat. Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass wir nur wenige Tiere wieder beobachtet haben.

E. Grill: Können die Catch-and-Release-Experimente, die Sie uns vorgestellt haben, wirklich ausschließen, dass nicht beides, sowohl die Vektorintegration als auch die virtuelle Landkarte, benutzt wird? Dass beispielsweise dann, wenn die Vektorintegration durch die Zeitversetzung aufgrund der Betäubung nicht mehr genutzt werden kann, die virtuelle Landkarte genutzt wird?

R. Menzel: Das ist geradezu eine erkenntnistheoretische Problematik, mit der wir uns da herumschlagen, weil natürlich jeder Faktor, mit dem wir einen Prozess stören, auch eine unspezifische Folge haben könnte. In der Tat nehmen wir an, dass bei der Navigation sehr viele Faktoren und Prozesse in jeweils unterschiedlichem Maß zusammenwirken. Wir haben auch darüber publiziert, unter welchen Bedingungen die Tiere tatsächlich eine Vektorintegration durchführen.¹ Ich sage daher nicht, dass die Vektorintegration als solche beeinträchtigt ist. Was ich sage, ist, dass für diese besondere Art des Heimflugs – in einem derart verarmten Gelände, wo keine Landmarken

am Ziel und kein Panorama vorhanden waren, – die Bienen dennoch nicht verloren sind, auch wenn sie den Vektor nicht fliegen können. Dieses Gedächtnis ist dann durch die untersuchten Neonicotinoide gestört.

N.N.: Können Sie noch etwas zu den Dosen der getesteten Neonicotinoide sagen? Entsprechen die von Ihnen getesteten Mengen, die die Honigbienen aufgenommen haben, in etwa den Mengen, die sie in der Landwirtschaft aufnehmen?

R. Menzel: Die Dosen, die wir bei den Versuchen zur akuten Wirkung eingesetzt haben, sind tatsächlich höher als die Dosen, die in der Natur vorkommen. Dazu habe ich weitere Angaben in meinen Text aufgenommen. Welche Mengen Menschen aufnehmen, hängt natürlich von den Mengen in dem jeweiligen Produkt ab. Von Rapsöl wird es nicht so sehr viel sein, denn wir nehmen ja auch wenig Rapsöl zu uns. Allerdings habe ich dazu keine Kenntnisse. Was die Bienen betrifft, muss man berücksichtigen, wie man zu derartigen Dosisabschätzungen unter natürlichen Bedingungen kommt. Man misst z.B. die Menge der jeweiligen Neonicotinoide im Nektar von Rapsblüten, den die Bienen sammeln. Über die Abschätzung, wie viele Blüten eine Biene auf einem Sammelflug besucht, lässt sich ungefähr berechnen, wie viel sie pro Blüte aufnimmt. Dabei wird aber zum Beispiel nicht berücksichtigt, dass sie bereits einen Teil der aufgenommenen Zuckerlösung für sich selbst verstoffwechselt. Aus diesen Abschätzungen und Modellüberlegungen kommt man bei einer chronischen Exposition zu einem ungefähren Wert von 1–3 Nanogramm, die pro Tier über den Nektar von Pflanzen, die aus gebeiztem Saatgut stammen, aufgenommen werden können. Das heißt, wir haben bei der akuten Wirkung eine höhere Dosis benutzt. Solche pharmakologische Wirkungen folgen aber meistens einem logarithmischen Wirkungszusammenhang und haben eine sehr komplexe zeitliche Dynamik. Wenn man in eine ökotoxikologische Studie einsteigt, macht es mehr Sinn, eine chronische Exposition zu betrachten und weniger eine akute, und das war genau unser Ansatz bei den späteren Experimenten. Damit zeigen wir, dass wir bei einer

1 Menzel, R., K. Lehmann, G. Manz, J. Fuchs, M. Koblösky & U. Greggers. 2012. Vector integration and novel shortcutting in honeybee navigation. – *Apidologie*, 43 (3): 229–243.

chronischen Exposition, die weit unterhalb dieser letalen Schwelle liegt, tatsächlich massive Effekte finden, die sich insbesondere auf den sozialen Status des Volkes auswirken. Interessanterweise sieht man aber, wenn man nicht nur einzelne Tiere, sondern ein ganzes Volk den Substanzen aussetzt, selten wirklich eindeutige Effekte. Das ist eine Problematik, die noch nicht wirklich verstanden wird. Hier wirken wahrscheinlich einige Faktoren zusammen, bei denen vermutlich der stärkste ist, dass so ein Superorganismus außerordentlich robust ist gegenüber Störfaktoren und diese nur in der Kombination mit anderen Faktoren (wie Virusinfektionen und dergleichen) zu einem Effekt führen, der dann auf Insektizide zurückgeführt werden kann.

P. Rosenkranz: Als Ergänzung zu den Konzentrationen von Neonicotinoiden: Die von Ihnen verwendeten Konzentrationen liegen weit unter den toxischen bzw. LD₅₀-Werten für Bienen.

Sie haben eben von dem ganzen Volk gesprochen. Ich habe dazu noch eine Frage zu den Experimenten als solche. Können Sie sich vorstellen, dass eine Biene, die geschädigt ist, weil sie subletale Mengen von Neonicotinoiden aufgenommen hat, dennoch unter »normalen« Bedingungen aus dem Stock heraus- und wieder zurückfliegt, d. h. immer noch arbeiten kann und wieder zurückfindet? Möglicherweise wirkt sich die »Schädigung«, die sie durch die Neonicotinoide hat, unter normalen Bedingungen gar nicht aus, wenn sie aus dem Stock fliegt, »überlegt«, wo sie sammelt, und dann irgendwann zurückfliegt. Das ist eine andere Situation als in den experimentellen Catch-and-Release-Ansätzen, wo eine Biene, die vorher etwas gelernt hat, an einem anderen Ort ausgesetzt wird und dann eine Leistung erbringen muss.

R. Menzel: Die von uns eingesetzten Dosen werden in einer Tabelle mitgeteilt. Sie liegen deutlich unter den Dosen, wie sie für LD₅₀-Messungen angegeben werden. Außerdem haben die Tiere sehr wohl überlebt und sich normal verhalten. Für Thiocloprid bei chronischer Exposition fanden wir massive Veränderungen der Tanzkommunikation, der Sammelaktivität und der Navigation bei einem Fünzigstel der LD₅₀-Dosis (bei 300 ng/Tier). Daraus wird deutlich, dass Thiocloprid nicht – wie immer wieder verlautbart wird – keine oder nur eine geringe Gefährdung für Bienen darstellt, denn solche Dosen können unter natürlichen Bedingungen sehr wohl chronisch aufgenommen werden. Ich betone hier aber nochmals, dass wir zurzeit keine ökotoxikologischen Untersuchungen anstreben, sondern an den selektiven subletalen Effekten dieser Neonicotinoide interessiert sind.

Wir simulieren auch nicht einen natürlichen Sammelflug einer Biene, sondern wir setzen sie in eine Testsituation, bei der sie bestimmte Leistungen vollbringen soll, also von einer Stelle nach Hause zurückfinden soll, die sie früher während ihrer Orientierungsflüge gelernt hat. Es ist aber auch bei einem »normalen« Sammelflug nicht ungewöhnlich, dass eine Biene durch einen Windstoß über größere Strecken wegtransportiert wird. Außerdem verwenden Bienen nach all dem, was wir wissen, ihre kognitive Karte bei der Tanzkommunikation, und genau diese Sorte von Navigationsgedächtnis ist gestört. Ich glaube nicht, dass man sagen kann, unsere Untersuchungen sind irrelevant, weil sie nicht einen normalen Sammelflug simulieren. Wir brauchen standardisierte Testsituationen, um herauszufinden, ob eine Störung vorliegt. Die Frage, wie sich diese Störung dann tatsächlich in das natürliche Verhalten einzelner Tiere übersetzt oder wie sie sich auf der Ebene des gesamten Stockes auswirkt, ist eine schwierige, aber sehr spannende Frage, die wir in Zukunft aufgreifen werden.

