

Wie Neonicotinoide das Verhalten von bestäubenden Insekten beeinträchtigen

Mit den Waffen der Chemie gegen Insekten

RANDOLF MENZEL, LEA TISON

Die industrialisierte Landwirtschaft setzt auf große Anbaufläche und die Abwehr der Pilze und Insekten mit chemischen Mitteln. Insektizide wie die Neonicotinoide haben massive, direkt schädigende Wirkungen auf Nicht-Zielinsekten und indirekte Wirkungen auf die Umwelt. Es besteht kein Zweifel, dass der massive Einsatz von Pestiziden zu einer Verarmung der Umwelt führt und damit zu einem Verlust von im Boden lebenden Nicht-Wirbeltieren, von Insekten und Vögeln.

Der Mensch steht ganz oben in der Nahrungskette. Folglich hat er Konkurrenten auf allen trophischen Ebenen, vor allem die Bakterien, Pilze, das ganze Heer von Nicht-Wirbeltieren, aber auch andere Säugetiere. Bei pflanzlicher Nahrung konkurrieren wir besonders mit Pilzen und Insekten und wehren uns gegen sie, seit der Mensch Ackerbau betreibt. Die traditionellen Methoden bestehen vor allem im Vermeiden einer Anreicherung der Schädlinge durch mehrjährige Fruchtfolge und dem gemeinsamen Anpflanzen von Pflanzenarten, die sich in ihren eigenen Abwehrmechanismen unterstützen. Auch die Förderung von hilfreichen Insekten, den Fressfeinden der Schädlinge, ist eine bewährte Strategie. Die industrialisierte Landwirtschaft setzt dagegen auf große Anbauflächen, den wiederholten Anbau der gleichen Pflanzen auf denselben Flächen und den Einsatz besonders ertragreicher aber weniger robuster Pflanzenarten. Zwar lässt sich damit der Ertrag pro Fläche beeindruckend erhöhen, dies ist aber mit massiven Schädigungen der Umwelt verbunden. Neben der Anreicherung des Bodens mit Stickstoff- und Phosphorverbindungen durch übermäßige Düngung sind es vor allem die Fungizide und die Insektizide, die unsere Umwelt massiv verändern. Insektizide unterscheiden nicht zwischen Schädlingen und nützlichen Insekten, zum Beispiel den bestäubenden Insekten. Sie bekämpfen auch die Räuber der Schädlinge. Daraus ergibt sich ein sich selbst verstärkender Kreislauf, der zu einem Verlust an Arten



Aufmacher: Honigbiene im Landeanflug. Neonicotinoide stören auch in nicht tödlicher Konzentration das Lernvermögen von Bienen und damit ihre Fähigkeit, sich in der Landschaft zurecht zu finden. Foto: Pexels von Pixabay.

und Mengen an Insekten führt, ein Phänomen, das sich in den letzten Jahrzehnten massiv verstärkt hat [1, 2]. Zu den heute überwiegend eingesetzten Insektiziden gehören die Neonicotinoide. Über ihre Wirkungsweise und die Folgen ihres Einsatzes soll hier berichtet werden.

Wie Neonicotinoide wirken

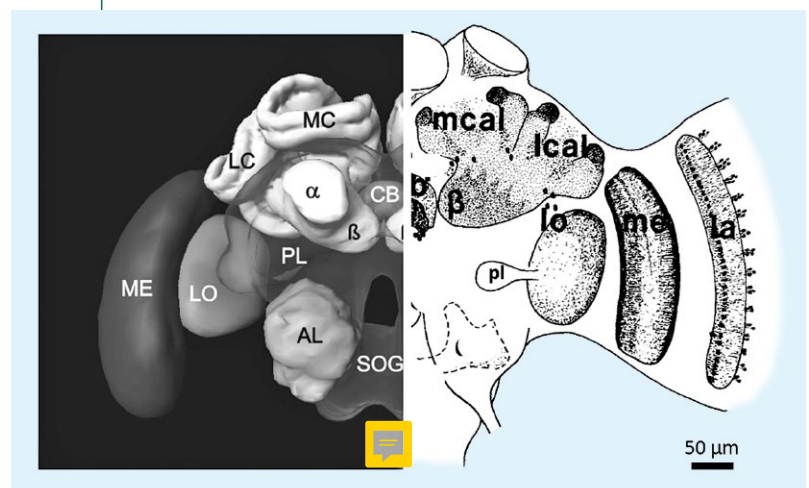
Auf der Suche nach besonders spezifisch wirkenden Insektiziden fand die japanische Firma Nihon Tokushu Noyaku Seizo (heute BayerCrop) in den 1980er Jahren ein hochwirksames Insektizid in der Stoffklasse der Neonicotinoide: Imidacloprid, das gegenüber seinen Vorläufern (z. B. Nithiazin) eine hohe Stabilität und eine geringe Toxizität gegenüber Säugetieren aufwies. Ab den 1990er Jahren wurden eine ganze Reihe weiterer Neonicotinoide auf den Markt gebracht. Nitenpyram und Acetamiprid 1995, Thiamethoxam 1998, Thiacloprid und Clothianidin 2001, **Dinotefuran** 2002 [3]. Inzwischen sind die Neonicotinoide die

am meisten eingesetzten Insektizide weltweit mit einem Anteil von mehr als 25 Prozent (in Deutschland ca. 50 Prozent neben vor allem den Pyrethroiden). Neonicotinoide simulieren die Wirkung von Nicotin und binden daher bevorzugt an den nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor (nAChR) der Nicht-Wirbeltiere. Sie sind bei sehr geringen Mengen pro Tier (Dosis) tödlich. Neben dem hohen Wirkungsgrad haben diese Neonicotinoide zudem die Eigenschaft, dass sie gut in Wasser löslich sind, insbesondere dann, wenn sie gemeinsam mit Beistoffen (sogenannten Formulierungen) gelöst werden. Die Wasserlöslichkeit hat zudem die Folge, dass die Verbindungen von der Pflanze über Wurzeln und Blätter aufgenommen und im ganzen Pflanzenkörper verteilt werden (systemische Wirkung). Zudem sind Neonicotinoide sehr stabil mit Halbwertszeiten von mehreren Monaten. Sie reichern sich daher im Boden an und werden über Oberflächen- und Grundwasser transportiert. Als Insektizide eignen sie sich auch deshalb besonders gut, weil ihre Bindung an den nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor der Säugetiere um den Faktor 10^5 schlechter ist als an den entsprechenden Rezeptor der Zielinsekten. Andere Nicht-Wirbeltiere (mit Ausnahme der Schnecken) allerdings werden ebenfalls massiv geschädigt oder abgetötet. Dies betrifft besonders auch die im Boden lebenden Anneliden (z. B. den Regenwurm) und Nematoden sowie die im Wasser lebenden Planktonorganismen und Insektenlarven, an deren zentralen nAChR die Neonicotinoide ebenfalls binden. Die indirekten Wirkungen über die Nahrungskette und damit auf das gesamte Ökosystem müssen ebenfalls berücksichtigt werden. Neonicotinoide werden nicht nur in der Landwirtschaft, im Obstbau und im Weinbau eingesetzt, sondern auch bei der Bekämpfung von Schädlingen in der Forstwirtschaft (z. B. durch Infiltrieren in den Boden oder direkte Injektion in die Baumstämme), in Gartenzentren und Pflanzschulen, in Privatgärten und als Medizin gegen Läuse [4].

Wir wollen uns hier auf die schädigende Wirkung bei Honigbienen und nicht auf die tödliche Wirkung konzentrieren. Die Honigbiene wird als Beispiel genommen, weil an ihr subletale Wirkungen besonders gut untersucht sind. Auf der Ebene der Einzeltiere kann man davon ausgehen, dass andere bestäubende Insekten (Wildbienen, Hummeln, Fliegen, Schmetterlinge, Käfer) ähnliche Effekte zeigen werden, was zum Teil auch bereits nachgewiesen ist. Allerdings vermag die Bienenkolonie (der Superorganismus Bien) viele **schädigenden** Wirkungen reduzieren, weil die Schadstoffe im Stock verteilt werden und damit die Dosen pro Tier geringer ausfallen. Die ganze Kolonie verfügt darüber hinaus über eine Fülle von Regulationsmechanismen, die den einzeln lebenden Bestäubern und den kleinen Hummelkolonien nicht zur Verfügung stehen. Die Schädigungen hängen davon ab, in welchen Teilen des Bienenhirns die Neonicotinoide angreifen. Die Abbildung 1 zeigt, dass die Dichte des nAChR im Bienenhirn besonders hoch im Pilzkörper und in den optischen Loben ist. Der Pilzkörper ist die zentrale Gehirn-

region der Konvergenz vieler hoch verarbeiteter sensorischer Eingänge, der erfahrungsabhängigen Verknüpfung zwischen diesen Eingängen und der Gedächtnisbildung. Die visuellen Ganglien, in denen der nAChR ebenfalls in recht hoher Dichte auftritt, verarbeiten den Eingang der Komplexaugen und extrahieren Bewegungs-, Muster- und Farbinformation. In unseren Vorexperimenten haben wir bei den niedrigen Dosen, die wir bei unseren Experimenten einsetzen, keine Wirkungen auf die visuelle Verarbeitung gefunden, möglicherweise deshalb, weil die dort eingebauten nAChR eine andere Pharmakologie aufweisen als die im Pilzkörper. Außerdem fanden wir keine Wirkungen auf die Bewegungskoordination und die Muskeltätigkeit, die aber bei höheren Dosen auftreten. Es liegt daher nahe, die Wirkung der Neonicotinoide im Zusammenhang

ABB. 1 VERTEILUNG DER ACETYLCHOLIN-REZEPTOREN IM BIENENGehirN



Auf der linken Seite ist ein halbes Gehirn der Biene schematisch dargestellt. Me und Lo sind die beiden visuellen Ganglien Medulla und Lobula. AL ist der Antennallobus (das erste Zentrum der Duftverarbeitung), darüber das laterale Protocerebrum (PL). Der Pilzkörper besteht aus dem lateralen und medianen Calyx (LC, MC), dem Alpha-Lobus (α) und dem Beta-Lobus (β). Die einzige unpaare Struktur ist der Zentralkomplex (CB), ein Zentrum der motorischen Steuerung und der Sonnenkompassorientierung. Die rechte Abbildung zeigt die korrespondierende Gehirnhälfte mit der Verteilung der nAChR wie sie mit einem Antikörper gegen den Rezeptor sichtbar wird. Besonders dicht ist der nAChR im Pilzkörper Calyx (mcal, lcal), im Beta-Lobus und in der Medulla (me). Rechte Seite mit freundlicher Genehmigung nach [5].

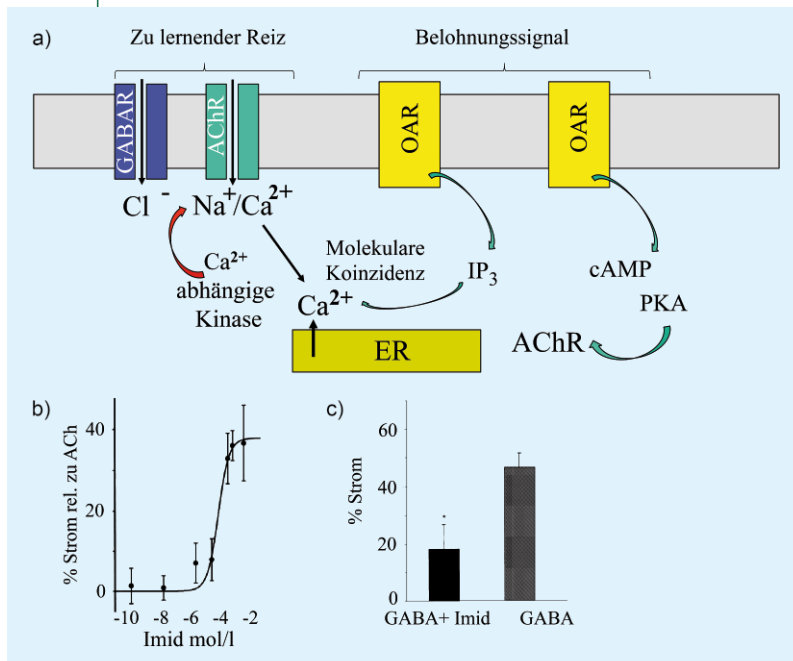
IN KÜRZE

- Neonicotinoide sind Pflanzenschutzmittel, die über eine **Bindung an den nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor** des Insektengehirns zentrale Funktionen der neuronalen Integration schädigen.
- Bei Bienen führt das zu einer **Beeinträchtigung des Lernvermögens**, der Gedächtnisbildung, des Abrufs des Gedächtnisses, der Navigation und der sozialen Kommunikation.
- Die dabei **wirksamen Dosen** liegen in dem Bereich, den die Tiere unter landwirtschaftlichen Bedingungen ausgesetzt sind.

mit Lernvorgängen, der Gedächtnisbildung und des Gedächtnisabrufs zu suchen. Für diese erfahrungsabhängige Plastizität spielt der nAChR im Pilzkörper eine zentrale Rolle (Abbildung 2a).

Lernen besteht in der Zuordnung von Bedeutung auf ursprünglich bedeutungslose Umweltsignale. Dabei werden Umweltsignale mit Belohnung oder Bestrafung verknüpft. Die sich dabei abspielenden molekularen und zellulären Vorgänge wurden bei der Honigbiene besonders im Zusammenhang mit der olfaktorischen Belohnungsdressur untersucht. Es stellt sich heraus, dass die nAChR in den Neuronen des Pilzkörpers dem sensorischen Eingang (hier dem Duft) zugeordnet sind. Die Leitfähigkeit für Na^+ und Ca^{2+} erhöht sich, wenn die Duftwahrnehmung mit einer Zuckerbelohnung verknüpft wird.

ABB. 2 | DIE WIRKUNG VON NEONICOTINOIDEN AUF DER ZELLEBENE



a) Beim assoziativen Lernen wird der Strom durch die nAChR auf mehreren Wegen verstärkt. Eine zentrale Stelle spielt dabei der Rezeptor für Octopamin (OAR), der aktiviert wird, wenn das Belohnungssignal eintrifft. Die Folge ist eine intrazelluläre Signalkaskade über das G-Protein (Gs), eine Adenylyl-Cyclase (AC) und die Freisetzung von cAMP, das eine Proteinkinase A (PKA) aktiviert. Diese bindet an den nAChR und seine Phosphorylierung führt zu einem verstärkten Einstrom von Na^+ und Ca^{2+} . Diese Reaktionskette bildet sich verstärkt aus, wenn kurz vorher der nAChR durch das Eintreffen des zu lernenden Reizes geöffnet wurde. Neben diesem vom Belohnungssignal gesteuerten Signalweg gibt es einen parallelen Weg, der über ein anderes G-Protein, die Phospholipase PLC, IP₃ und eine Freisetzung von Ca^{2+} aus dem endoplasmatischen Retikulum (ER) aktiviert. Auch der Rezeptor für GABA (GABAR) ist an dem Lern- und Gedächtnisbildungsprozessen beteiligt. b) Imidacloprid wirkt als Agonist auf den nAChR, indem es an den Rezeptor bindet. Die Kurve zeigt die Abhängigkeit des Stroms durch den nAChR von der Imidacloprid (Imid) – Konzentration (in mol/l). Da sich Imidacloprid nicht löst und nicht abgebaut wird, führt dies zu einem anhaltenden Einstrom von Na^+ und Ca^{2+} , was letztlich das Neuron blockiert. c) Imidacloprid (Imid) reduziert zudem den Strom durch GABA Rezeptoren (siehe Text). Abbildung b mit freundlicher Genehmigung aus [5].

Die Belohnung mit Zucker führt über einen recht gut untersuchten neuronalen Weg zur Aktivierung von unterschiedlichen Rezeptoren für den Transmitter Octopamine (Abbildung 2a OAR). Diese Octopaminrezeptoren gehören zur Gruppe der metabotropen Rezeptoren, wirken also über intrazelluläre Signalkaskaden. Diese sind – wie die Abbildung 2 darstellt – solche, die sowohl zur Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) führen, als auch zur Freisetzung von Inositoltriphosphat (IP₃). PKA aktiviert den nAChR, und IP₃ führt zur Freisetzung von Ca^{2+} aus dem intrazellulären Ca^{2+} -Speicher. Die Konvergenz dieser zellulären Signale mit der kurz zuvor erfolgten Öffnung der nACh-Rezeptoren verändert letztere derart, dass eine zukünftige Stimulation mit demselben Duft zu einem erhöhten Ionenfluss durch den Rezeptor führt. Damit hat sich also die Signalübertragung zwischen den Nervenzellen, an denen der nAChR beteiligt ist, durch Lernen verändert. Diesen Veränderungen folgen bei der Bildung eines stabilen Langzeitgedächtnisses weitere Anpassungen im Netzwerk der Neurone im Eingang und Ausgang des Pilzkörpers. Hierbei spielt ein weiteres Molekül eine wichtige Rolle: der vom Transmitter Gamma-Aminobuttersäure (GABA) gesteuerte Kanal (GABAR).

Diese zellulären Vorgänge sind in unserem Zusammenhang deshalb von Bedeutung, weil Neonicotinoide auch auf diese beiden Kanäle einwirken. Für den nAChR ist das offensichtlich. Was den GABA-Rezeptor betrifft, wissen wir, dass GABA von Neuronen ausgeschüttet wird, die aus dem Ausgang des Pilzkörpers (Abbildung 1, α - und β -Loben) zurück in seinen Eingang projizieren und dort mit den sensorischen Neuronen konvergieren. Diese rekurrenten Neurone vermitteln die Botschaft, ob bereits bestimmte Umweltreize in einem bestimmten Kontext gelernt wurden. Von Imidacloprid ist bekannt, dass es nicht nur auf den nAChR wirkt und seine Leitfähigkeit dauerhaft erhöht, sondern auch auf den GABA-Rezeptor, indem es dessen Leitfähigkeit verringert (Abbildung 2b, c). Es liegt daher nahe anzunehmen, dass die Gedächtnisbildung nach dem Lernen sowie der Abruf des Gedächtnisses über diesen Signalweg ebenfalls gestört sein könnten. Beide Formen der Leitfähigkeitsveränderung in den beiden Rezeptoren halten über lange Zeit an, weil Neonicotinoide sehr stabil an den nAChR binden. Zwar verfügen die Honigbiene und die Hummel über ein Enzym (eine Cytochrom-Oxidase), das bestimmte Neonicotinoide (z. B. Thiacloprid) abbaut, allerdings ist die Bindungsstärke an die Neonicotinoide geringer als die des nAChR. Die starke Bindung an den nAChR kann daher zu irreversiblen oder nur sehr langsam kompensierten Veränderungen solcher Gehirnfunktionen führen, die bei der effektiven Bestäubung von Blüten, der Navigation und der sozialen Kommunikation eine zentrale Rolle spielen.

Lernen und Gedächtnis: Laborexperimente

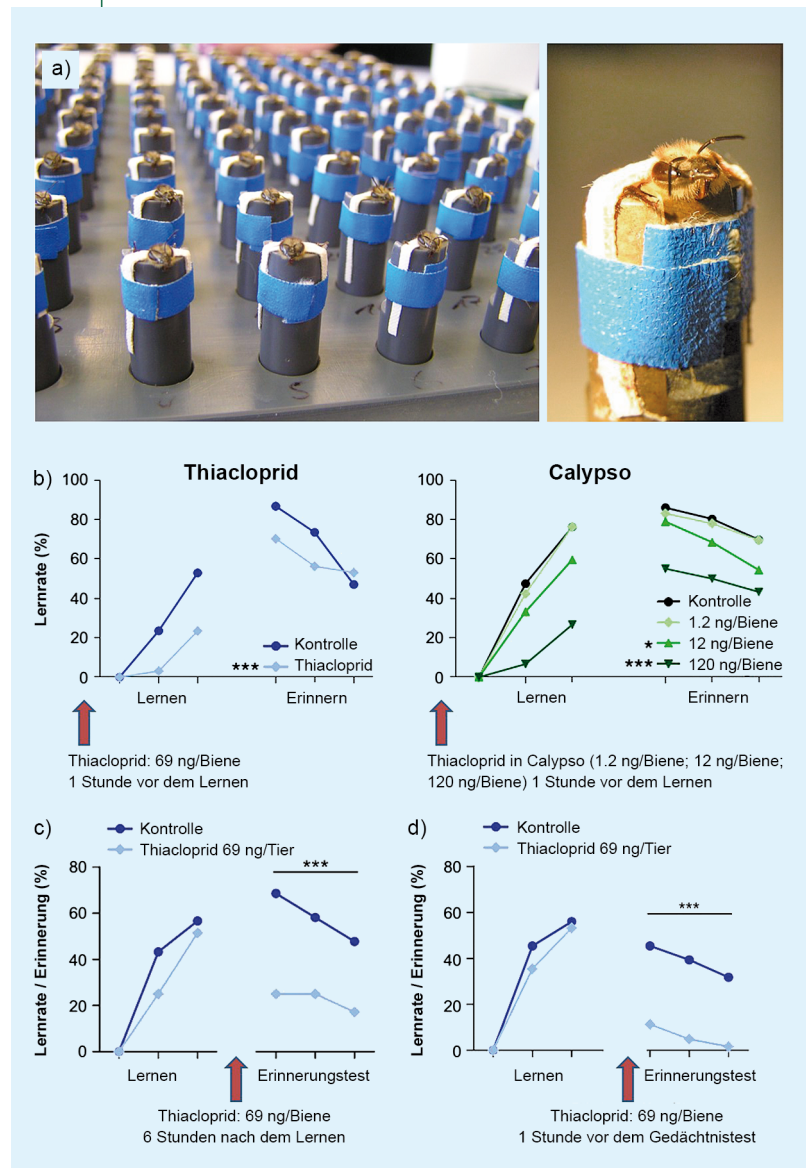
Honigbienen sind seit den großartigen Entdeckungen von Karl von Frisch und seinen Schülern Modelltiere bei der

Untersuchung von Lernvorgängen, der Gedächtnisbildung und der Verwendung des Gedächtnisses im Zusammenhang mit dem Besuch von Blüten [7]. Im Labor lassen sich diese Verhaltensleistungen besonders effektiv studieren, weil die Tiere sehr schnell einen Duft als Belohnungssignal erlernen und lebenslang erinnern (Abbildung 3a). Bei solchen Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass der Pilzkörper eine zentrale Rolle spielt. Wir haben daher diese Duftkonditionierung verwendet, um zu prüfen, ob Neonicotinoide bei subletalen Dosen stören. Dabei haben wir uns besonders auf das Neonicotinoid Thiacloprid konzentriert, weil es nicht zu den in der Europäischen Union verbotenen hoch toxischen Neonicotinoiden gehört und weil es aufgrund seiner hohen tödlich wirkenden Dosen als ungefährlich für Honigbienen betrachtet wird. Thiacloprid ist zurzeit der Wirkstoff in etwa 50 Prozent der in der Landwirtschaft, im Obstbau und im Weinbau eingesetzten Insektizide.

Die Bienen werden für die Experimente am Tag vor der Duftdressur so in Röhrchen fixiert, dass sie ihre Antennen und den Rüssel frei bewegen können. Am Abend werden sie mit Zuckerlösung gefüttert, so dass am nächsten Morgen alle Tiere gleich durch Hunger motiviert sind. Nach dem Experiment werden die Bienen wieder frei gelassen. Bläst man einen Duftstrom über die Antennen und belohnt die Tiere anschließend mit einem winzigen Tröpfchen Zuckerlösung, assoziieren sie den Duft mit Belohnung und strecken ihren Rüssel in Erwartung der Belohnung schon nach wenigen Lernakten aus (Abbildung 3b, c). Nehmen sie vor dem Lernen Thiacloprid auf, kann man prüfen, ob der Lernvorgang gestört wird (Abbildung 3b). Gibt man ihnen das Neonicotinoid 5 Stunden nach dem Lernen, prüft man, ob die Bildung eines mittellangen Gedächtnisses (1–3 Tage) verhindert wird. Nimmt die behandelte Gruppe das Thiacloprid 24 Stunden nach dem Lernen und 1 Stunde vor dem Abrufen des Gedächtnisses auf, überprüft man, ob der Gedächtnisabruf gestört ist. Solche Experimente werden stets so durchgeführt, dass die Tiere der Kontrollgruppe und die der behandelten Gruppen identischen Bedingungen ausgesetzt sind und sich nur in diesem einen Faktor (nicht behandelt/behandelt) unterscheiden. Zudem ist der Experimentator nicht darüber informiert, zu welcher Gruppe die Tiere gehören (Blindversuch). Handelt es sich um mehr als zwei Gruppen von Tieren, z. B. wenn man prüfen will, ob ein handelsübliches Insektizid wie etwa Calypso® mit dem Wirkstoff Thiacloprid ebenfalls eine Wirkung zeigt (Abbildung 3b), dann werden alle statistisch zu vergleichenden Gruppen den identischen Bedingungen ausgesetzt und in parallel laufenden Gruppen untersucht.

Thiacloprid stört sowohl den Lernvorgang als auch die Gedächtnisbildung sowie den Gedächtnisabruf bei einer Dosis von 69 ng/Tier (Abbildung 3b, c). Calypso® ist wirksamer als der darin enthaltene Wirkstoff Thiacloprid allein (12 ng/Tier beim Lernvorgang), wofür die beigefügten (unbekannten) Substanzen (Formulierung) verantwortlich

ABB. 3 | DIE WIRKUNG VON THIACTOPRID AUF LERNEN, GEDÄCHTNISBILDUNG UND GEDÄCHTNISABRUF



a) Die Versuchstiere werden für die Duftkonditionierung in Röhrchen montiert. Ihre Antennen und den Rüssel können sie frei bewegen. b) Um zu prüfen, ob Thiacloprid als reine Substanz oder in der Formulierung Calypso® den Lernvorgang stört, wird den Tieren 1 Stunde vor dem Lernen die Substanz in einem Tröpfchen Zuckerlösung gefüttert. Das * im Einsatz gibt an, ob die Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der behandelte Gruppe statistisch signifikant sind (*: schwach signifikant mit $p \leq 0,05$, **: mittel signifikant mit $p \leq 0,01$, *: hoch signifikant mit $p \leq 0,001$). c) Die Wirkung von Thiacloprid auf die Gedächtnisbildung wird überprüft, indem den Tieren die Substanz 6 Stunden nach dem Lernen gegeben wird. 24 Stunden später wird ihr Gedächtnis geprüft. d) Der Effekt von Thiacloprid auf den Gedächtnisabruf wird geprüft, indem die Substanz 24 Stunden nach dem Lernen und 1 Stunde vor dem Gedächtnistest gegeben wird. In jeder TeilAbbildung ist links die Lernkurve angegeben, also die Zunahme der Reaktion auf den gelernten Duft (Ordinate in % aller beteiligten Versuchstiere) in Abhängigkeit von der Zahl der Lernakte (auf der Abszisse angegeben: drei Lernakte). Rechts ist jeweils die Erinnerungsrate angegeben, also die Reaktion auf den gelernten Duft (wieder in % aller getesteten Tiere). Diese Reaktion wurde drei mal hintereinander geprüft (Erinnerungstests). Abbildung mit freundlicher Genehmigung nach [10].**

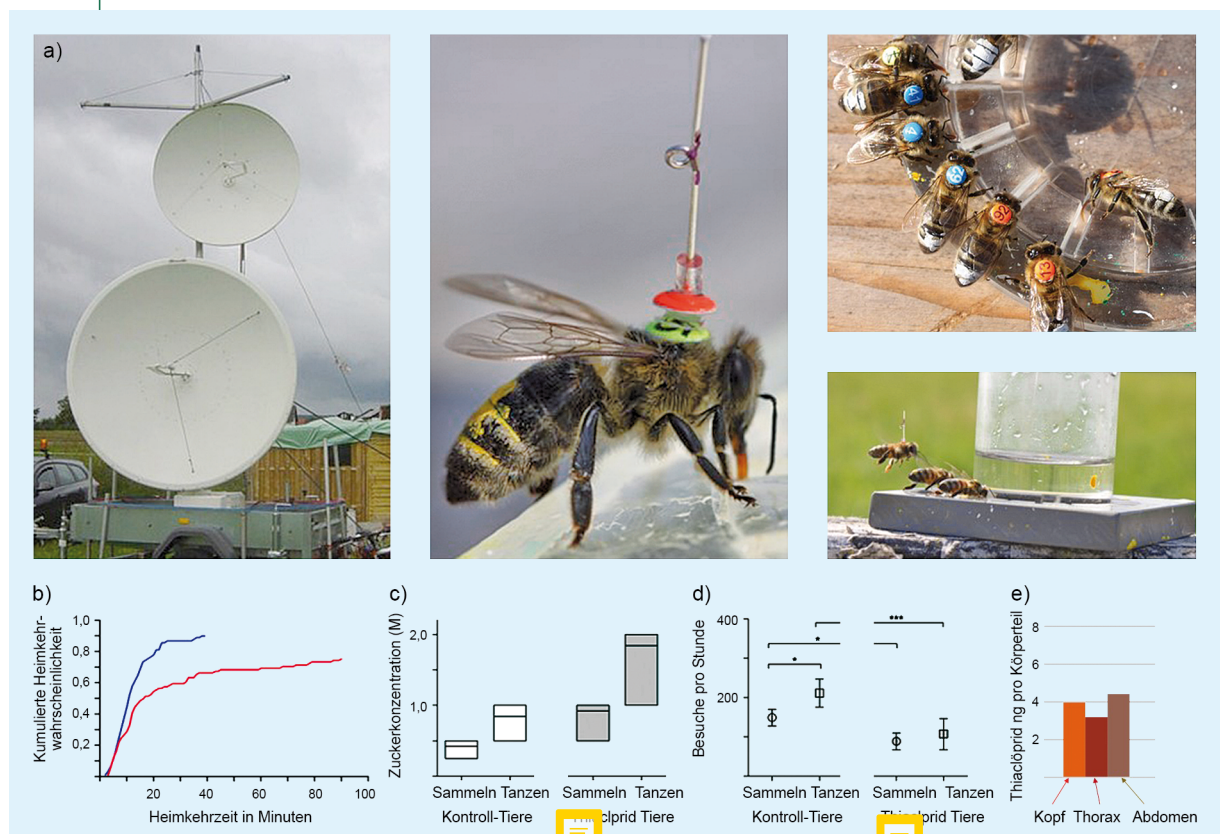
sind. Diese Dosis ist zwar höher als bei den hoch toxischen Neonicotinoiden (z.B. 0,3 ng/Tier Clothianidin), aber um einen Faktor von 250 niedriger als die über 24 Stunden wirkende Dosis, die 50 Prozent der Tiere tötet (LD50 von Thiacloprid: 1732 ng/Tier, zum Vergleich LD50 von Clothianidin: 3,7 ng/Tier). Nun kann man sich fragen, ob Bienen und andere **bestäubenden** Insekten solche Mengen bei einem einmaligen Ausflug unter landwirtschaftlichen Bedingungen aufnehmen. Wir fanden Konzentrationen von 350–500 ng/Biene pro Ausflug, wenn sie mit Calypso® gesprühte Rosenblüten besucht hatten. Andere Autoren fanden z.B. 100 ng/Biene nach einem Ausflug zu Rapsblüten, wenn der Raps aus gebeiztem Samen gewachsen war [8]. Die hohe tödliche Dosis von Thiacloprid lässt sich auf zwei detoxifizierende Enzyme (Cytochrom-Oxidase) zurückführen [9]. Offensichtlich ist aber die Bindung an

nAChR (evtl. auch an GABAR) höher als die an diese Cytochrom-Oxidase, so dass die niedrigen schädigenden Dosen erklärbar werden.

Navigation und soziale Kommunikation: Freilandexperimente

Honigbienen, Hummeln und Wildbienen kehren nach ihren Sammelflügen von Nektar und Pollen immer wieder zu ihrem Nest zurück. Dabei verwenden sie die Sonne als Kompass und erlernen die Landschaftsstrukturen [7] (siehe dazu auch BiuZ 1/2009: R. Menzel. Das Landschaftsgedächtnis der Bienen). Das im Pilzkörper gespeicherte Gedächtnis wird dabei eine sehr wichtige Rolle spielen. Um diese Frage zu untersuchen, haben wir Experimente durchgeführt, bei denen die natürliche Exposition an Neonicotinoiden noch genauer simuliert wurde. Bestäubende

ABB. 4 | STÖRUNG DER NAVIGATION UND DER SAMMELMOTIVATION DURCH THIACLOPRID



Während des Versuchs kam es zu einer **chronischen mehrmaligen Aufnahme** über mehrere Tage. **a)** Der Flug der Bienen wird mit einem speziellen Radargerät verfolgt. Dazu tragen die Bienen einen Transponder, der den Radarstrahl mit einer doppelten Frequenz (erste harmonische Frequenz) zurück strahlt. **b)** Kumulierend aufgetragene Flugzeiten von Kontroll-Bienen (Blaue Linie: 92 % Rückkehr) und Versuchsbienen (Rote Linie: 76 % Rückkehr). Diese haben über mehrere Tage eine niedrige Menge von Thiacloprid aufgenommen (siehe Text). **c)** Die chronische Thiacloprid-Aufnahme führt dazu, dass eine höhere Zuckerkonzentration angeboten werden muss, damit sie ihre Sammelaktivität aufrecht erhalten und zum Tanzen angeregt werden können (links: Kontroll-Bienen, rechts Versuchsbienen). **d)** Trotz erhöhter Zuckerkonzentration ist die Besuchsrate der Versuchstiere sowohl während der normalen Fütterung wie auch während der Induzierung der Tanzaktivitäten niedriger. Um die Bienen zum Tanz zu motivieren, wird für kurze Zeit eine höhere Zuckerkonzentration angeboten. **e)** Die Menge an Thiacloprid in den drei Körperteilen der Versuchstiere (Kopf, Thorax, Abdomen) liegt im Bereich weniger Nanogramm nach mehr als 4 Tagen chronischer Exposition. Die Kontrolltiere enthielten kein Thiacloprid in ihrem Körper. Abbildung mit freundlicher Genehmigung nach [11].

Insekten und insbesondere die sozialen und solitären Bienen sind blütenstet, kehren also zuverlässig zu den Blüten in dem gleichen Areal zurück, solange diese Nektar und/oder Pollen liefern. Sie nehmen also Insektizide über längere Zeit auf. Diese chronische Exposition wird zu einer kumulierenden Anreicherung in ihrem Körper führen, auch wenn sie einen guten Teil davon in ihrem Nest einlagern. Wir haben daher Bienen auf Futterstellen dressiert, die recht geringe Konzentrationen von Thiacloprid enthielten, und dann ihr Navigationsverhalten sowie ihre soziale Kommunikation (Schwänzeltanz) und ihre Sammelmotivation mit einer Kontrollgruppe verglichen. Die Kontrolltiere kamen aus einer Schwesterkolonie und wurden zur gleichen Zeit über die gleiche Entfernung an einer Futterstelle dressiert, die kein Thiacloprid enthielt.

Das Navigationsverhalten wurde in folgender Testsituation geprüft. Von jedem der beiden Völker wurde eine Gruppe von erfahrenen Sammlerinnen zu je einer Futterstelle in 350 m Entfernung dressiert. Die Futterstelle A hatte in den ersten 3 Wochen 4,5 ppm oder 4,5 ng/µL Thiacloprid in der Zuckerlösung, die Futterstelle B enthielt kein Thiacloprid in der Zuckerlösung. Danach wurden die Futterstellen getauscht und zwei neue Gruppen von Bienen aus zwei neuen Kolonien wurden nun so dressiert, dass Futterstelle B Thiacloprid in derselben Konzentration enthielt und A nicht kontaminiert war. Die Futterstellen waren mit einer elektronischen Zähleinrichtung ausgestattet, so dass die Sammelaktivität quantifiziert werden konnte. Außerdem wurde die Tanzaktivität im Stock gemessen und der Erfolg des Tanzens an der Zunahme der Sammelaktivität erfasst. Den Sammlerinnen wurde dann eine Navigationsaufgabe gestellt. Wenn ein Tier im Begriff war, die Futterstelle zu verlassen, wurde es abgefangen, 45 Minuten im Dunklen gehalten und dann an eine 780 Meter entfernte Auflaststelle transportiert. Die Aufgabe für die Biene bestand nun darin, auf Grund ihres Landschaftsgedächtnisses zum Stock zurückzukehren. Junge Bienen führen Orientierungsflüge durch, wenn sie zum ersten Mal nach ihrem Innendienst aus dem Stock heraus kommen. Dabei erlernen sie den Sonnenkompass, kalibrieren ihre Entfernungsmessung und fügen die Landschaftsstrukturen in ihr Gedächtnis ein. Wenn sie sich also gut erinnern, werden sie schneller zu ihrem Stock zurückkehren. Wenn sie sich gar nicht erinnern, werden sie verloren gehen. Den Flug der Bienen haben wir mit einem speziellen Radargerät verfolgt (Abbildung 4a). Bienen tragen einen Transponder. Damit sind sie für das Radargerät über eine Entfernung von ungefähr einem Kilometer erkennbar.

Nahezu alle Kontrollbienen (92%) kehren innerhalb von weniger als 40 Minuten zum Stock zurück. Die Rückkehrate ist bei den Versuchsbienen signifikant niedriger (76%), und zudem benötigen die Erfolgreichen viel länger (Abbildung 4b). Eine genauere Analyse zeigt, dass das Flugverhalten der Thiacloprid-Tiere (z. B. Fluggeschwindigkeit) nicht verändert ist, was ausschließt, dass die Flugmo-

torik beeinträchtigt ist. Auch die Orientierung nach dem Sonnenkompass erscheint bei den erfolgreichen Thiacloprid-ausgesetzten Bienen normal. Es ist also die Aktivierung eines komplexen Landschaftsgedächtnisses, das für eine erfolgreiche Navigation nötig ist und nach Aufnahme von Thiacloprid nicht oder nur eingeschränkt gelingt. Die Versuchsbienen unterscheiden sich auch noch in anderen Aspekten von den Kontrollen. Ihre Sammelmotivation ist reduziert, was man aus der höheren Zuckerkonzentration ablesen kann, die benötigt wird, um sie an der Futterstelle zu halten (Abbildung 3c,d, jeweils linke Seite). Außerdem muss man ihnen eine höhere Zuckerkonzentration anbieten, um sie zum Tanzen zu motivieren (Abbildung 3c, d, jeweils rechte Seite). Die niedrigere Besuchsfrequenz der Thiacloprid-Tiere weist auch darauf hin, dass sie entweder weniger tanzen oder ihr Tanz gestört ist (Abbildung 3d, rechts). In der Tat zeigt sich, dass die Tanzaktivität niedriger ist. Ob auch die Präzision des Tanzes abnimmt, wissen wir noch nicht.

Die Versuchstiere haben im Mittel 216 ng Thiacloprid (40 µL Zuckerlösung) aufgenommen. Aus den Daten über den Energiebedarf von fliegenden Bienen kann man berechnen, dass nur ein geringer Teil des aufgenommenen Zuckers für den Rückflug benötigt wird, so dass der überwiegende Teil im Stock abgeliefert wird. Daraus haben wir berechnet, dass jede Versuchsbiene pro Sammelflug nur 3 bis 4 ng Thiacloprid in ihren Körper aufnimmt. In der Tat ist die Menge von Thiacloprid, die man im Kopf, Thorax und Abdomen der Versuchsbienen nach mehr als einer **einer** Woche Besuch an der kontaminierten Futterstelle findet, sehr niedrig (Abbildung 4e, um 4 ng/Tier). Dieses Ergebnis ist in zweierlei Hinsicht bemerkenswert. Zum einen wird deutlich, dass Thiacloprid zwar erst bei hohen Dosen tödlich wirkt, aber bei sehr niedrigen Dosen das Verhalten massiv beeinträchtigt. Zum anderen ist es offensichtlich nicht angemessen, Calypso® mit dem Wirkstoff Thiacloprid als nicht bienengefährlich zu bezeichnen, denn Bienen sind einer Konzentration von 150 ng/µL Thiacloprid ausgesetzt, wenn Calypso® in 30–40 cm auf Blüten gespritzt wird. Hinzu kommt, dass die Formulierung in Calypso® wie oben dargestellt noch wirksamer ist als Thiacloprid alleine. Uns hat in diesem Zusammenhang auch interessiert, ob Bienen Thiacloprid riechen oder schmecken können, eine Frage, die auch deshalb spannend ist, weil berichtet wurde, dass Neonicotinoide attraktiv für Bienen sind. Dies trifft für Thiacloprid nicht zu. Bienen können es nicht riechen und nicht schmecken. Es kann daher auch nicht aversiv oder attraktiv sein.

Wir haben hier beispielhaft die Wirkung von Thiacloprid und seine Formulierung in Calypso® betrachtet. Bestäubende Insekten nehmen aber unter landwirtschaftlichen Bedingungen nicht nur ein Pestizid auf, sondern Mischungen von mehreren bis vielen. Zudem wirken Neonicotinoide nicht nur auf das Gehirn, sondern auch auf die Physiologie des ganzen Körpers, was z. B. zu einer Abnahme der Immunkompetenz und damit zur mangelnden

Abwehr von Infektionen führt. Für das Herbizid Glyphosat ist bekannt, dass es bestimmte Bakterienpopulationen im Darm von Bienen schädigt, was zu einer ganzen Reihe von Störfaktoren führt. Dieser Cocktail-Effekt verstärkt die Wirkungen und führt dazu, dass deutlich geringere Dosen der einzelnen Substanzen wirksam werden.

Die Auswirkungen auf das Ökosystem

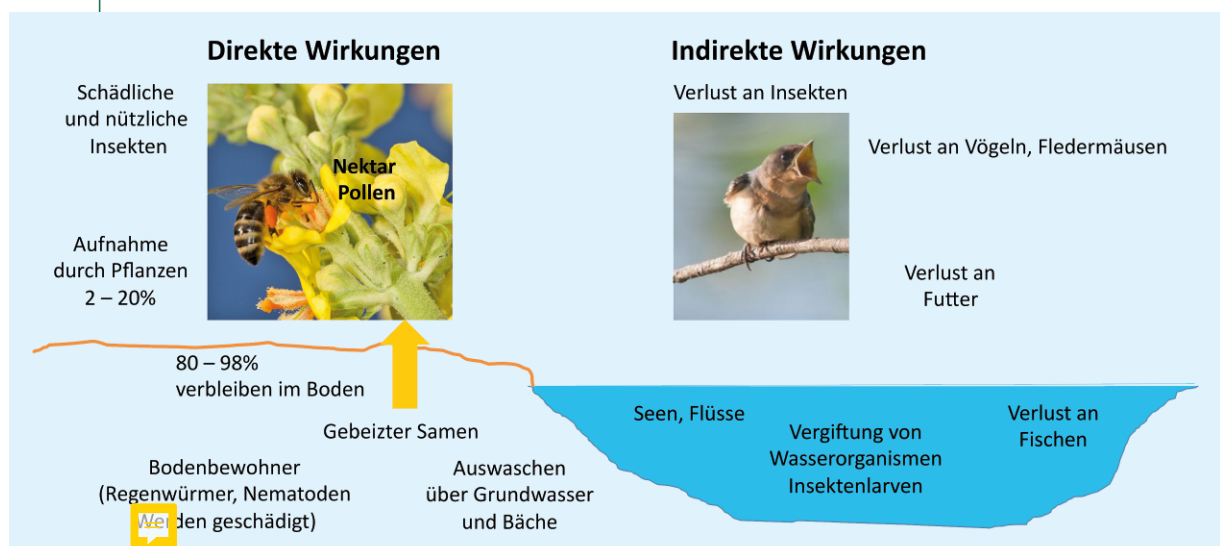
Die hohe Wasserlöslichkeit und Stabilität von Neonicotinoiden führen zu einer über Jahre gehenden Anreicherung und Verfrachtung über große Strecken. Besonders dramatische Folgen hat die Aussaat von gebeizten Samen (mit 1–17 mg pro kg), weil nur ein geringer Teil der Neonicotinoide von den Pflanzen aufgenommen wird und 80–98 Prozent über das Oberflächen- und Grundwasser transportiert wird (Abbildung 5). In den Wasserpfützen auf den Äckern können unmittelbar tödliche Konzentrationen auftreten. Über Nektar und Pollen werden die bestäubenden Insekten erreicht. Da Regenwürmer und Nematoden im Boden empfindlich reagieren, verarmt der Boden. Grundwasser, Bäche und Flüsse transportieren die Neonicotinoide über große Strecken, wo Insektenlarven und Planktonorganismen gefährdet sind [12]. Die indirekten Folgen schlagen sich dann als Nahrungsmangel für Fische und Vögel nieder [13]. In den Niederlanden ist ein Zusammenhang zwischen der Imidacloprid-Konzentration in Gewässern und der Zahl der wasserlebenden Organismen nachgewiesen worden, und in Deutschland wurden mehr als 400 verschiedene Pestizide und ihre Metaboliten in Fließgewässern gefunden, wobei über 25 Prozent der Gewässer mit Insektiziden stark belastet waren. Die Menge der Pestizide ist 4-mal höher, wenn die Fließgewässer in der Nähe von landwirtschaftlich genutzten Flächen lagen. Die leichte Anwendbarkeit der gebeizten Samen und der damit verbundene geringere Arbeitsaufwand führte dazu, dass die Ziele des integrierten Pflanzenschutzes weit-

gehend aufgegeben wurden [4, 14, 15]. Zudem wird mit dem Beizen der Samen ein vorbeugender Pflanzenschutz betrieben, mit dem nicht vorhandene Schädlinge bekämpft werden, eine in sich widersinnige Vorgehensweise mit schlimmen Folgen für die Umwelt. Damit wird ein Selektionsfaktor in die Umwelt eingeführt, der zu einer rasanten Entwicklung von resistenten Schadinsekten geführt hat (Abbildung 6). Während zu Beginn der Einführung der Neonicotinoide in den 1980er Jahren nur eine Schadinsektenart resistent war, sind es inzwischen bereits etwa 20 Arten. Dies wiederum führt dazu, dass neue und potentere Insektizide entwickelt werden müssen. Zurzeit wird die Zulassung von Sulfoxaflor und Flupyradifuron beantragt, ohne dass die möglichen Folgen sowohl für die nicht schädlichen Insekten wie für die Umwelt zu überschauen sind.

In einer ganzen Reihe von Studien wurde nachgewiesen, dass ein gezielter (bei nachgewiesenem Auftreten von Schadinsekten) und stark reduzierter Einsatz zu keinen höheren Kosten oder geringeren Erträgen führt [16, 17]. Mitunter ist sogar der Einsatz von Neonicotinoiden kostintensiver als eine integrierte Schädlingsbekämpfung, bei der auf mehrjährige Fruchtfolge, kleinere Felder ohne Monokultur, Förderung von Fressfeinden (Vögel, Insekten), robustere Pflanzenarten und gemeinsamer Pflanzung von sich unterstützenden Pflanzenarten gesetzt wird. In Frankreich werden in den nächsten Jahren schrittweise alle Neonicotinoide inklusive der neu entwickelten verboten. Es wird höchst spannend werden zu beobachten, wie sich die Landwirtschaft darauf einstellt und wie rasch sich die Natur erholen kann.

Der Einsatz von Insektiziden ist einer von mehreren Faktoren, die zu einer Verarmung unserer Umwelt an Vögeln, Säugetieren und Insekten führt. Dazu gehören sicherlich auch der Flächenverbrauch für Siedlung, Verkehr und öffentliche Einrichtungen, die Überdüngung der

ABB. 5 | DIREKTE UND INDIREKTE WIRKUNGEN VON NEONICOTINOIDEN AUF DAS ÖKOLOGISCHESYSTEM



Felder und Wiesen sowie die landwirtschaftliche Intensivnutzung. Die globale Erwärmung wird zu Verlust und Gewinn von Arten führen und sich wohl erst zukünftig deutlicher auswirken. Es erscheint uns dringend geboten, jetzt genau zu überlegen, in welcher Umwelt wir leben wollen und wieviel wir bereit sind, dafür an Anstrengung und Geld aufzubringen. Manches lässt sich recht leicht erreichen, anderes verlangt große Umstrukturierungen. Die Belastung durch Neonicotinoide zu reduzieren oder ganz auszuschalten, gehört vor diesem Hintergrund eher zu den leicht zu erreichenden Zielen, denn die Schäden sind so offensichtlich, der Nutzen so gering und die Alternativen leicht anzuwenden. Der französische Wissenschaftler J.-M. Bonmatin hat diese Ziele überzeugend zusammengefasst: „Die heutigen Erkenntnisse bestätigen die Notwendigkeit, den massiven Einsatz von systemischen Pestiziden zu beenden, vor allem die vorbeugende Verwendung bei der Saatgutbehandlung. Die Verwendung dieser Pestizide steht im Gegensatz zu umweltverträglichen landwirtschaftlichen Praktiken. Es bietet keinen wirklichen Nutzen für die Landwirte, verringert die Bodenqualität, schadet der Biodiversität und verunreinigt Wasser, Luft und Nahrung. Es gibt keinen Grund mehr, diesen Weg der Zerstörung fortzusetzen.“ (<https://davidsuzuki.org/press/global-research-uncovers-new-threatening-ecological-impacts-neonicotinoid-pesticides/>).

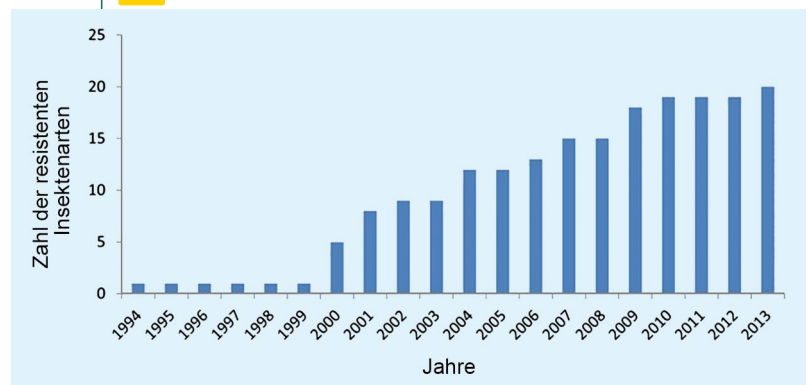
Zusammenfassung

Die industrialisierte Landwirtschaft setzt zunehmend auf chemische Mittel bei der Bekämpfung von Nahrungskonkurrenten. Daraus ergeben sich eine Reihe von direkten und indirekten Wirkungen auf die Kulturlandschaft. Unter den Insektiziden sind es vor allem die Neonicotinoide, die die bestäubenden Insekten abtöten oder schädigen. Diese Insektizide binden an den nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor im Gehirn der Insekten und beeinträchtigen insbesondere die Gedächtnisbildung und den Abruf aus dem Gedächtnis. Lernvermögen und Gedächtnis sind essentielle Voraussetzungen für eine effektive Bestäubung. Untersuchungen an der Honigbiene ergaben, dass so geringe Dosen, wie sie von behandelten Pflanzen im Nektar und Pollen aufgenommen werden, das Lernvermögen, das Gedächtnis, die Navigation, die Sammelmotivation und die soziale Kommunikation massiv stören. Neben diesen direkten Wirkungen der Neonicotinoide auf Nicht-Zielinsekten gehen eine Fülle von weiteren indirekten Wirkungen aus, die zu einer Verarmung der Umwelt führen, und dies nicht nur auf den behandelten Flächen. Die Ursache für diese großflächige Wirkung liegt an der Stabilität und der Wasserlöslichkeit der Neonicotinoide.

Summary

Current industrialised farming applies multiple pesticides to fight against competitors of agricultural products. The consequences lead to direct and indirect detrimental effects on the environment. Neonicotinoids are particularly frequently

ABB. 6 | 



Entwicklung der Arten von Schadinsekten, die seit Einführung der Neonicotinoide eine Resistenz gegenüber diesen Insektiziden entwickelt haben.

Abbildung mit freundlicher Genehmigung nach [3].

applied to fight against pest insects but pollinating insects are also effected. These insecticides bind to the nicotinic acetylcholine receptors in the insect brain and interfere with neuronal processed underlying learning, memory formation and memory retrieval. Experience dependent behaviors are essential for effective pollination. Experimental studies with honeybees documented that even extremely small doses of neonicotinoids taken up with nectar and pollen massively interfere with learning, memory, navigation, social communication and foraging motivation. Besides these direct actions on non-target insects neonicotinoids impoverish the environment, reduce the number of wild life and destroy the quality of the agricultural ground. The multiple effects are caused by the high water solubility and the persistence of the insecticides.

Schlagworte

Insektizide, Neonicotinoide, Honigbiene, Lernen, Gedächtnis, Navigation, soziale Kommunikation, Bestäubung.

Literatur

- [1] C. A. Hallmann, M. Sorg, E. Jongejans, et al., More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PloS one*, 2017, 12, e0185809.
- [2] F. Sánchez-Bayo, K. A. Wyckhuys, Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, 2019, 232, 8–27.
- [3] C. Bass, I. Denholm, M. S. Williamson, R. Nauen, The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2015, 121, 78–87.
- [4] M. L. Hladik, A. R. Main, D. Goulson, Environmental risks and challenges associated with neonicotinoid insecticides. *ACS Publications*, 2018.
- [5] S. Kreissl, G. Bicker, Histochemistry of acetylcholinesterase and immunocytochemistry of an acetylcholine receptor-like antigen in the brain of the honey bee. *Journal of Comparative Neurology*, 1989, 286, 71–84.
- [6] S. Himmelreich, B. Grünewald, Cellular physiology of olfactory learning in the honeybee brain. *Apidologie*, 2012, 43, 308–321.
- [7] R. Menzel, M. Eckoldt, Die Intelligenz der Bienen: Wie sie denken, planen, fühlen und was wir daraus lernen können, 2016, Albrecht Knaus Verlag.

- [8] F. Sánchez-Bayo, D. Goulson, F. Pennacchio et al., Are bee diseases linked to pesticides? – A brief review. *Environment international*, 2016, 89, 7–11.
- [9] C. Manjon, B. J. Troczka, M. Zaworram et al., Unravelling the molecular determinants of bee sensitivity to neonicotinoid insecticides. *Current Biology*, 2018, 28, 1137–1143. e1135.
- [10] L. Tison, S. Holtz, A. Adeoye et al., Effects of sublethal doses of thiacloprid and its formulation Calypso® on the learning and memory performance of honey bees. *Journal of Experimental Biology*, 2017, 220, 3695–3705.
- [11] L. Tison, M.-L. Hahn, S. Holtz et al., Honey bees' behavior is impaired by chronic exposure to the neonicotinoid thiacloprid in the field. *Environmental science & technology*, 2016, 50, 7218–7227.
- [12] M. G. Vijver, P. J. and van den Brink. Macro-Invertebrate Decline in Surface Water Polluted with Imidacloprid: A Rebuttal and Some New Analyses. *Plos One*, 2014, 9, e89837.
- [13] C. A. Morrissey, P. Mineau, J. H. Devries et al., Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. *Environment international*, 2015, 74, 291–303.
- [14] C. Giorio, A. Safer, F. Sánchez-Bayo et al., An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 1: new molecules, metabolism, fate, and transport. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 1–33.
- [15] L. Pisa, D. Goulson, E.-C. Yang et al., An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 1–49.
- [16] D. Goulson. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 2013, 50, 977–987.
- [17] M. Lechenet, F. Dessaint, G. Py et al., Reducing pesticide use while preserving crop productivity and profitability on arable farms. *Nature Plants*, 2017, 3, 17008.
- [18] F. Sánchez-Bayo, The trouble with neonicotinoids. *Science*, 2014, 346, 806–807.

Die Autoren



Randolf Menzel, Jahrgang 1940, Promotion 1967 und Habilitation 1972. Forschungsaufenthalte in Australien, USA, Brasilien, Neuseeland, Norwegen, China. Leiter des Instituts für Neurobiologie an der Freien Universität Berlin von 1976 bis 2008. Seitdem emeritierter Professor. Leibniz Preis 1991, Körber Preis der Europäischen Wissenschaft 2000, Karl-Ritter von Frisch Preis 2004, Mitglied mehrerer Akademien (Leopoldina, Berlin-Brandenburgische Akademie, Mainzer Akademie der Wissenschaften, Königlich-Norwegische Akademie), Ehrenpromotion der Universität Toulouse 2007.



Lea Tison, Jahrgang 1989, Bachelor-Studium der Biologie an der Universität Bordeaux 1 (Frankreich), Masterstudium in Agrarwissenschaften und Ökotoxikologie an der Bordeaux Sciences Agro, Promotion 2017 an der Freien Universität Berlin. Wissenschaftliche Mitarbeiterin am INRA Institut, Abteilung Bienen und Umwelt, in Avignon (Frankreich).

Korrespondenz:

Randolf Menzel
 Institut für Biologie
 Freie Universität Berlin
 Königin-Luise-Str. 1-3
 14195 Berlin
 menzel@neurobiologie.fu-berlin.de