

Anna Wernecke, Denise Castle

Auswirkungen von Pflanzenschutzmittel-Tankmischungen auf Honigbienen und mögliche physiologische Interaktionen

Effects of tank mixtures of plant protection products on honey bees and possible physiological interactions

154

Zusammenfassung

Im Zuge der Nahrungssuche werden Bestäuber, wie Honigbienen, unter Umständen einer Vielzahl von Pflanzenschutzmitteln (PSM) ausgesetzt. Während die Effekte einzelner PSM auf Bienen im Rahmen des Zulassungsprozesses umfangreich geprüft werden, erfolgt für Tankmischungen eine routinemäßige Risikobewertung i.d.R. nur für Insektizide und bekannte potentiell synergistisch wirkende Mischungspartner. Aus ökonomischen und arbeitswirtschaftlichen Gründen kommen Mischungen von PSM dennoch häufig zum Einsatz. In einigen Fällen führen Interaktionen zwischen den Mischungspartnern hierbei zu unerwünschten additiven oder synergistischen Effekten. Insbesondere für Pyrethroide und Neonikotinoide in Mischung mit Ergosterol-Biosynthese-hemmenden Azolfungiziden ist das synergistische Potential der Mischtoxizität auf Honigbienen bekannt und wird regulatorisch bereits berücksichtigt. Diese Wirkungssteigerung resultiert aus der Hemmung des Hauptentgiftungsenzyms P450 durch Azolfungizide, sodass das jeweilige Insektizid von den Bienen nicht mehr abgebaut werden kann. Erste Hinweise auf wirkungssteigernde Effekte liegen ebenfalls für Mischungen aus Insektiziden und Zusatzstoffen vor. Für eine realistische Risikobewertung ist ein besseres Verständnis von Mischungseffekten essentiell, das nur über weitere Forschung erreicht werden kann.

Stichwörter: Honigbienen, Tankmischungen, Synergistische Effekte, Entgiftung

Abstract

During foraging bouts pollinators like honey bees may be exposed to multiple plant protection products (PPPs). In contrast to applications of single PPPs the effects of tank mixtures are not routinely evaluated in the risk assessment process of PPPs with the exception of known synergistic insecticides and mixing partners. Due to economical constraints and process efficiency PPP mixtures are commonly used in agricultural practices. However, sometimes interactions among agrochemicals lead to undesirable additive and synergistic effects. Especially mixtures of pyrethroids or neonicotinoids with azole fungicides, which inhibit sterol biosynthesis, have a synergistic potential of negatively affecting honey bees. For such mixtures, regulatory restrictions are already in place. These synergistic effects are associated with azole fungicides inhibiting the main detoxification enzyme P450, which hinders the bee to detoxify the insecticide. Further studies provide first evidence for increased impacts of mixtures of insecticides with adjuvants on honey bees. More research is necessary to better understand mixture toxicity and to implement this knowledge in the risk assessment.

Key words: Honey bees, Tank mixtures, Synergistic impacts, Detoxification

Affiliation

Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Bienenschutz, Braunschweig

Kontaktanschrift

M.Sc. Anna Wernecke, Julius Kühn-Institut (JKI) – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Bienenschutz, Messeweg 11/12, 38104 Braunschweig, E-Mail: anna.wernecke@julius-kuehn.de

Zur Veröffentlichung angenommen

03. April 2020

Einleitung

Annähernd 90% der blühenden Wildpflanzenspezies und über zwei Drittel der menschlichen Hauptnahrungspflanzen sind bei der Weitergabe des Blütenpollens auf Tierbestäubung angewiesen (IPBES, 2017). Ein Akt der Befruchtung, der die Grundlage für den Fortbestand vieler Pflanzen legt und so der Natur zu mehr Vielfalt und Stabilität verhilft. Der Marktwert der globalen tierischen Bestäubungsleistung wurde 2015 auf bis zu 577 Billionen US\$ jährlich geschätzt (IPBES, 2017). Neben den Wildbienen zählt die Westliche Honigbiene *Apis mellifera* mit rund 81 Millionen Völkern weltweit zu den wichtigsten ökologischen und ökonomischen Bestäubern (KLEIN et al., 2007; IPBES, 2017). Ihre Gesundheit wird von einer Vielzahl einzelner und interagierender Stressoren beeinflusst. Abgesehen von biologischen Faktoren, wie Pathogenen und Parasiten oder Umweltfaktoren, wie Witterungsverhältnissen und Nahrungsressourcen, beeinflussen insbesondere chemische Stressoren, wie Pflanzenschutzmaßnahmen, die Vitalität der Honigbiene (RORTAIS et al., 2017; KOPIT und PITTS-SINGER, 2018). Der weltweite Pflanzenschutzmittelumsatz lag im Jahr 2018 bei rund 47,9 Milliarden Euro (STATISTA, 2020). Neben Fungiziden, Wachstumsregulatoren und Herbiziden kommen Honigbienen auf ihren Trachtflügen auch als Nichtzielorganismen mit einer Reihe von Insektiziden in Kontakt, sofern diese in blühenden oder bienenattraktiven Kulturen zum Einsatz kommen. Im Kampf gegen Schaderreger setzen Landwirte in der Praxis vermehrt auf Tankmischungen (THOMPSON und WILKINS, 2003). Hierunter wird im Agrarsektor das eigenmächtige Mischen fertig formulierter, käuflich erworbener Produkte (darunter PSM, Düngemittel oder Zusatzstoffe) im PSM-Tank des Pflanzenschutzgerätes verstanden. Die Kombination mehrerer Mischungspartner bietet dem Landwirt die Möglichkeit in einem Arbeitsgang den Arbeitsaufwand zu reduzieren, Aufwandmengen zu senken und so sowohl Zeit als auch Arbeitskosten einzusparen. Gleichzeitig können Tankmischungen das Wirkspektrum gegen verschiedene Schaderreger erweitern und der Resistenzentwicklung entgegenwirken (RODE, 1986; BVL, 2018). Werden bei der Ausbringung alle Anwendungsvorschriften erfüllt, ist der Einsatz von Tankmischungen gesetzlich zulässig (BVL, 2015). Eine Regelung zu Tankmischungen seitens der deutschen Bienenschutzverordnung besteht nicht (BIENSCHV, 1992).

Während die Effekte einzelner PSM auf Bienen im Rahmen des Zulassungsprozesses umfangreich geprüft und bewertet werden, erfolgt für Tankmischungen eine routinemäßige Risikobewertung i.d.R. nur für Insektizide und bekannte potentiell synergistisch wirkende Mischungspartner. Eine Prüfung aller potentiell möglichen Mischungskombinationen ist aufgrund der Fülle an Handelspräparaten auf dem Markt kaum möglich. Obwohl viele Mischungen keine negativen Effekte auf Bienen hervorrufen, kommt es bei einigen Anwendungen zu additiven oder gar synergistischen Wirkungssteigerungen, sodass sich die Einstufung der Bienengefährlichkeit in

Mischung ändern kann (BROWN und KEGLEY, 2015; BVL, 2018). Bei einem additiven Effekt entspricht die Toxizität der Tankmischung der Summe der Toxizität der einzelnen PSM (CEDERGREEN et al., 2013). Eine synergistische Wirkungssteigerung hingegen liegt vor, wenn die Toxizität der Mischung die Summe der Einzelkomponenten übersteigt (BLISS, 1939). In seltenen Fällen werden auch antagonistische Wechselwirkungen durch Tankmischungen erzielt, bei denen die Effekte geringer ausfallen als erwartet (AHMAD, 2007). In den letzten Jahren wurden zahlreiche Toxizitätsstudien zu Honigbienen veröffentlicht. Nur ein geringer Teil hiervon jedoch untersucht die Toxizität von PSM in Mischung (WANG et al., 2019). Bislang sind die Mischtoxizität und die damit verbundenen letalen und subletalen Auswirkungen auf Bestäuber nicht umfassend erforscht, was eine realistische Einschätzung der Risiken erschwert, welche im Zulassungsverfahren von PSM jedoch für Entscheidungsprozesse von großer Bedeutung ist.

Status quo 2020

Tankmischungen ohne Toxizitätssteigerungen

Die aktuelle Datenlage lässt darauf schließen, dass nicht alle Kombinationen eine erhöhte Toxizität bei Honigbienen bewirken. Bestätigen lässt sich dies für eine getestete Tankmischung aus einem Neonicotinoid (Insektizid, welches in das zentrale Nervensystem von Insekten eingreift) und einem respirationshemmenden Fungizid. Bei der im Rapsanbau häufig verwendeten Tankmischung aus Biscaya® (Wirkstoff: Thiacloprid; IRAC (2019): 4A) und Cantus® Gold (Wirkstoff: Boscalid, Dimoxystrobin; FRAC (2019): C2 und C3) traten weder auf Laborebene noch unter Halbfreiland- oder Freilandbedingungen biologisch relevante Mortalitätserhöhungen oder Verhaltensanomalien im Vergleich zur Einzelformulierung oder Kontrollvariante auf (WERNECKE et al., 2019).

Tankmischungen aus mehreren Insektiziden

Die nationale Zulassungsmanagementbehörde für Pflanzenschutzmittel (das BVL – Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) gab im Jahr 2015 in einer Fachmeldung bekannt, dass Mischungen aus mehreren B4-Insektiziden (bienenungefährliche) unvertretbare Auswirkungen auf Honigbienen hervorrufen (BVL, 2015). Hierin heißt es: „Speziell bei der Mischung mehrerer Insektizide sind Vergiftungen von Bienen nicht auszuschließen, auch wenn die Mischungspartner als bienenungefährlich eingestuft sind. Die Einstufung als bienenungefährlich basiert auf einer Prüfung bis zu der höchsten durch die Zulassung festgelegten Aufwandmenge des einzelnen Mittels. Die Mischung mehrerer Mittel ist toxiologisch einer Erhöhung der Aufwandmenge gleichzusetzen, da Dosisaddition oder synergistische Prozesse nicht ausgeschlossen werden können. Eine Mischung mehrerer Insektizide sollte deshalb wie ein bienengefährliches Pflanzenschutzmittel betrachtet werden, also nicht auf blühende oder von Bienen beflogene Pflanzen ausgebracht werden.“ (BVL, 2015). Für Bienen bedeuten

Tankmischungen aus mehreren Insektiziden eine Doppelbelastung, die letztlich die Entgiftungskapazitäten der Biene übersteigt. Daher entsprechen derartige Mischungen wegen zu hoher Risiken für den Naturhaushalt nicht der guten fachlichen Praxis.

Tankmischungen aus Pyrethroiden und Azolfungiziden

Das Phänomen der synergistischen Wirkung ist von Pyrethroiden (synthetische Insektizide mit neurotoxischer Wirkung) und Azolfungiziden, den Ergosterol-Biosynthese-Hemmern (EBH-Fungiziden), bekannt. Bereits 1992 stellten COLIN und BELZUNCES die synergistischen Effekte einer Tankmischung aus Deltamethrin und Prochloraz auf Honigbienen fest. In den Folgejahren erschienen weitere Studien u.a. von PILLING und JEPSON (1993), PILLING et al. (1995), THOMPSON und WILKINS (2003) und WERNECKE et al. (2019), die die synergistischen Wechselwirkungen zwischen Pyrethroiden und EBH-Fungiziden belegten. Seit Ende der 90er Jahre wird daher die Anwendung von pyrethroidhaltigen Insektiziden zusammen mit Azolfungiziden geregelt. B4-Pyrethroide dürfen laut Bienenschutzauflage NB6623 in Mischung mit Ergosterol-Biosynthese-hemmenden Fungiziden an blühenden Pflanzen und an Pflanzen, die von Bienen befliegen werden, nur abends nach dem täglichen Bienenflug bis 23:00 Uhr angewendet werden, es sei denn, die Anwendung dieser Mischung an blühenden Pflanzen und an Pflanzen, die von Bienen befliegen werden, ist ausweislich der Gebrauchsanleitung des Fungizids auch während des Bienenfluges ausdrücklich erlaubt (BVL, 2019a). Potentielle EBH-Wirkstoffe sind der „Fungicide Resistance Action Committee“ – Liste (FRAC, 2019) zu entnehmen. Dennoch registriert die deutsche Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen des Julius Kühn-Institutes immer wieder Schadfälle durch Fehlanwendungen von Pyrethroid-Azolfungizid-Tankmischungen (JKI, 2017).

Keine wissenschaftlichen Empfehlungen hingegen gibt es zu der bienensicheren Anwendung von Spritzfolgen synergistisch wirkender Mischungspartner. Laborversuche mit Honigbienen weisen auf starke synergistische Effekte bei zeitnahen Spritzfolgen hin (WERNECKE et al., 2019). Diese führten zunächst zu heftigen Krämpfen und unkoordinierten Bewegungen bei den Versuchsbienen und ergaben bereits 48 h nach der Applikation Mortalitätsraten von bis zu 100% bei maximal zulässiger Aufwandmenge (WERNECKE et al., 2019). Inwiefern diese Mortalitätserhöhungen auch in der Praxis zu beobachten sind, gilt es in höherstufigen Tests mit Azolfungizid-Vertretern zu prüfen, die eine möglichst hohe Bindungsaffinität aufweisen.

Tankmischungen aus Neonikotinoiden und Azolfungiziden

Seit 2018 werden nun auch Thiacloprid-Azolfungizid-Tankmischungen durch die Auflage NB6613 in ihrer Anwendung beschränkt. Verschiedene Studien an Honigbienen (u.a. SCHMUCK et al., 2003; IWASA et al., 2004; THOMPSON et al., 2014; WERNECKE et al., 2019) machten Regulierungsbedarf deutlich. In den Untersuchungen

von WERNECKE et al. (2019) konnten hoch signifikante synergistische Wirkungssteigerungen bei Tankmischungen aus Biscaya® (Wirkstoff: Thiacloprid) und verschiedenen EBH-Fungiziden auf Laborebene nachgewiesen werden, die sich bei höherstufigen Tests im Halbfreiland und Freiland für die getestete Tankmischung aus Biscaya® (Wirkstoff: Thiacloprid) und Mirage® 45 EC (Wirkstoff: Prochloraz) bestätigten. Hier kam es wenige Stunden nach der Applikation zu einer Vielzahl krampfender Honigbienen im Pflanzenbestand sowie vor der Beute und einem starken Mortalitätsanstieg (WERNECKE et al., 2019). Folglich dürfen laut Auflage NB6613 Mittel mit dem Wirkstoff Thiacloprid nicht auf blühende oder von Bienen beflogene Pflanzen in Mischung mit Fungiziden aus der Gruppe der Ergosterol-Biosynthese-Hemmer ausgebracht werden, es sei denn die Anwendung dieser Mischungen auf blühenden oder bienenattraktiven Kulturen ist in der Gebrauchsanleitung des Fungizids ausweislich erlaubt. Von der Auflage NB6613 ausgenommen sind demnach EBH-Fungizide mit dem Wirkstoff Prothioconazol, wie Propulse®, Proline® und Curbatur®, da für diesen Wirkstoff in Studien keine Wirkungssteigerung in Kombination mit B4-Neonikotinoiden nachgewiesen werden konnte (BVL, 2018). Mittel mit dem Hinweis NB6645 dürfen daher weiterhin „in Mischung mit einem als nicht bienengefährlich eingestuftem Insektizid aus der Gruppe der Neonikotinoide an blühenden Pflanzen und an Pflanzen, die von Bienen befliegen werden, angewendet werden, sofern dies ausweislich in der Gebrauchsanleitung des Insektizids erlaubt ist“ (BVL Fachmeldung Stand 12.11.2018) (BVL, 2018).

Für die Neonikotinoide Mospilan® SG und Danjiri® (beides mit dem Wirkstoff Acetamiprid), welche beide in Soloapplikation als bienenungefährlich (B4) gelten, gibt es bereits seit 2013 die Auflage NB6612, die besagt, dass das Mittel in Mischung mit Fungiziden aus der Wirkstoffgruppe der Ergosterol-Biosynthese-Hemmer, aufgrund von Toxizitätssteigerungen, als bienengefährlich eingestuft wird (B1) und damit nicht auf blühende Pflanzen und Pflanzen, die von Bienen befliegen werden, ausgebracht werden darf (BVL, 2020a; BVL, 2020c).

Tankmischungen mit Zusatzstoffen

Neben reinen PSM-Tankmischungen wurden in jüngster Vergangenheit auch Tankmischungen mit Zusatzstoffen kritisch hinterfragt. Aktuell befinden sich mehr als 330 PSM-Zusatzstoffe auf dem deutschen Markt (Stand Februar 2020), die der Spritzbrühe u.a. in Form von Netzmitteln (Herabsetzung der Oberflächenspannung), Haftmitteln (Verbesserung der Anhaftung und der Regenfestigkeit), Penetrationsmitteln (kutikuläre Durchdringung) oder Schaumverminderern zugesetzt werden können (WOLBER und SEEMANN, 2006; BVL, 2020b; BVL, 2020d). Gemäß Artikel 2, Absatz 3 d der Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 definieren sich Zusatzstoffe als „Stoffe oder Zubereitungen, die aus Beistoffen oder Zubereitungen mit einem oder mehreren Beistoffen bestehen [...], die vom Verwender mit einem Pflanzenschutzmittel vermischt werden, um dessen Wirkung oder ande-

re pestizide Eigenschaften zu verstärken [...]“. Sie sollen folglich die Wirksamkeit und das Wirkungspotential von PSM auch unter ungünstigen Bedingungen (bspw. einer starken Blattbehaarung), sicherstellen. Für den Vertrieb ist bisher nur ein Genehmigungsantrag erforderlich (BVL, 2020d). Im Gegensatz zu PSM, wie Insektiziden und Fungiziden, werden für Zusatzstoffe i.d.R. keine Daten als Bewertungsgrundlage für Risiken und Wirksamkeit eingereicht. Erste durchgeführte Versuche unter Laborbedingungen geben Hinweise auf mögliche, durch Zusatzstoffe verursachte, Wirkungssteigerungen von Insektiziden in Tankmischung. Negative Effekte (u.a. letale und subletale Auswirkungen z.B. auf Lernfähigkeit oder Immunabwehr) ließen sich hierbei für adulte Honigbienen (Bsp.: CIARLO et al., 2012; CHEN et al., 2018, WERNECKE et al., 2018) und Honigbienenlarven (Bsp.: FINE et al., 2017; ZHU et al., 2014) nachweisen. Inwieweit jedoch Tankmischungen aus PSM und Zusatzstoffen tatsächlich ein realistisches Risiko für Honigbienen und andere Nichtzielorganismen bieten, ist bisher umstritten. Ob Unterschiede im wirkungssteigernden Potential zwischen einzelnen Zusatzstoffklassen bestehen und diese Effekte auch unter Praxisbedingungen auftreten, gilt es in weiteren Untersuchungen zu klären.

Interaktion von Pflanzenschutzmitteln und Biene

Charakteristik und Wirkungsweise von Insektiziden

Zur Sicherung quantitativer und qualitativer Erträge sind PSM, wie Insektizide, fester Bestandteil der modernen Landwirtschaft. Neben Carbamaten, Organophosphaten, oder Diamiden kommen derzeit v.a. Pyrethroide und Neonikotinoide in der landwirtschaftlichen Praxis zum Einsatz (KOPIT und PITTS-SINGER, 2018; JKI, 2020a; JKI, 2020b). Hierbei wirken sie an spezifischen Targets (u.a. Rezeptoren) der Schädlinge, indem sie diese z.B. hemmen oder aktivieren (z.B. DAVID et al., 2005; JESCHKE und NAUEN, 2008; SOLTANINEJAD und ABDOLLAHI, 2009). Insbesondere für Pyrethroide und Neonikotinoide ist das Potential der Mischtoxizität auf Honigbienen bekannt (PILLING et al., 1995; IWASA et al., 2004).

Pyrethroide. Pyrethroide zählen zu den effektivsten Insektiziden im Pflanzenschutz mit einem breiten Wirkungsspektrum gegen Schaderreger (VIJVERBERG und VANDEN BERCKEN, 1990). Als synthetische Verbindungen ähneln sie in der Struktur dem natürlichen Chrysanthemengift Pyrethrum, sind gleichzeitig jedoch stabiler und wirksamer (CASIDA, 1980). Seit dem sie in den 1970er Jahren in den Verkehr gebracht wurden (SODERLUND, 2010), erobernten sie den Weltmarkt (VIJVERBERG und VANDEN BERCKEN, 1990) und kommen als Fraß- und Kontaktgifte (BVL, 2011) auch in bienenattraktiven Kulturen, wie Apfel oder Raps (JKI, 2020a; JKI, 2020b) während der Blüte zum Einsatz. Hierbei sind sie nicht zwangsläufig selektiv für Nichtziel-Arthropoden (INGLESFIELD, 1989). Sie entfalten ihre insektizide Wirkung indem sie die spannungsabhängigen Natriumkanäle in den Membranen von Nervenzel-

len der Insekten blockieren und sie so am Schließen hindern (DAVID et al., 2005). Infolgedessen kommt es zu einer Störung der elektrischen Signalübertragung im zentralen Nervensystem und somit innerhalb kürzester Zeit zu Ausfallerscheinungen beim Insekt, denen im schlimmsten Fall der Tod folgt (bekannt als Knock-down) (SODERLUND, 2010; KILJANEK et al., 2016). Hierbei lassen sich je nach Pyrethroid-Typ unterschiedliche Symptome beobachten. Entsprechend ihrer chemischen Struktur können zwei Klassen von Pyrethroiden unterschieden werden: Typ I (ohne Alpha-Cyanogruppe (-C-N)) wie Permethrin und Typ II (Komplementierung des Grundgerüsts durch eine Alpha-Cyanogruppe), zu dem u.a. Lambda-Cyhalothrin, eines der am häufigsten eingesetzten Insektizide im Rapsanbau, gehört (NASUTI et al., 2003; SODERLUND, 2010; JKI, 2020b). Für beide Typen ist der spannungsabhängige Natriumkanal das primäre Target. Während Typ I-Pyrethroide kurze Folgen wiederholter Nervenimpulse mit einer bis zu 10-fachen Verlängerung der Öffnungszeit des Natriumkanals hervorrufen, induzieren Typ II-Pyrethroide lang anhaltende Folgen von Nervenimpulsen mit einer bis zu 200-fach längeren Öffnungszeit (FAULDE, 2010; SODERLUND, 2010) von bis zu einer Minute (FAULDE, 2010). Entsprechend fällt die Wirkung der Typ II-Pyrethroide stärker aus (FAULDE, 2010). Hier wird das Choreoathetose Syndrom (bekannt als „CS“-Syndrom) ausgelöst, was für unkoordinierte Bewegungen, grobschlägigen Tremor und klonische Krämpfe bekannt ist, wohingegen Typ I das sogenannte „T“-Syndrom mit Muskelzittern (Tremor), Übererregbarkeit und Ataxie hervorruft (NASUTI et al., 2003; REICHL, 2011). In seltenen Fällen können bei Pyrethroiden des Typs I und II beide Syndrome beobachtet werden (SODERLUND, 2010).

Neonikotinoide. Ähnlich wie Pyrethroide zählen Neonikotinoide zu den synthetischen Insektiziden, die auf das zentrale Nervensystem von Insekten wirken (SIMON-DELISO et al., 2015). Als Kontakt- und Fraßgift kamen sie seit den 1980er Jahren aufgrund ihrer systemischen Eigenschaften v.a. als Beizmittel zum Einsatz, finden jedoch auch als Sprühapplikation Anwendung (SIMON-DELISO et al., 2015). Als hochwirksame Insektizide mit breitem Wirkungsspektrum binden sie an den nikotinischen Acetylcholinrezeptor (nAChR) von Insekten (BAI et al., 1991, ZHANG et al., 2000) und verhindern so den Abbau des Acetylcholins durch das Enzym Acetylcholinesterase. Hierdurch wird der Rezeptor dauerhaft stimuliert und die neuronale Weiterleitung von Nervenreizen gestört. Folglich kommt es zu spastischen Lähmungen und zellenergetischer Erschöpfung die letztlich zum Tod des Schadinsekts führt (JESCHKE und NAUEN, 2008; SIMON-DELISO et al., 2015). Aufgrund der hohen Selektivität von Neonikotinoiden gegenüber dem nikotinischen Acetylcholinrezeptor von Insekten haben sie nur eine geringe Toxizität für Warmblüter (PHUA et al., 2009), wirken dagegen jedoch nur gering selektiv gegen Nichtziel-Arthropoden, wie Bienen (MAIN et al., 2018). Die Stärke der Toxizität wird durch chemisch-strukturelle Eigenschaften bedingt. Demnach zeigen cyanosubstituierte Neonikotinoide (Bsp.: Thiaclo-

prid und Acetamiprid) eine deutlich geringere Toxizität gegenüber Honigbienen als nitrosubstituierte Neonikotinoide (Bsp. Imidacloprid, Clothianidin, Thiamethoxam, Dinotefuran und Nitenpyram) (IWASA et al., 2004). Hierbei scheint die geringere Toxizität von cyanosubstituierten Neonikotinoiden für Honigbienen nicht auf unterschiedliche Sensitivitäten am Wirkort, sondern eher auf eine schnellere Detoxifizierung am Enzym Cytochrome P450 (IWASA et al., 2004) und auf eine höhere Expression (ALPTEKIN et al., 2016) zurückzuführen zu sein.

Entgiftungsmechanismen der Honigbiene

Im Vergleich zu anderen Insekten ist bei Honigbienen das Genom der am Detoxifizierungsprozess beteiligten Enzyme stark reduziert (CLAUDIANOS et al., 2006), was jedoch nicht zu einer höheren Sensitivität führt (HARDSTONE und SCOTT, 2010). Trotz der geringen Anzahl an Entgiftungsenzymen sind Honigbienen in der Lage, bestimmte Insektizide, wie bspw. Thiacloprid, schnell und effektiv zu entgiften (MANJON et al., 2018).

Xenobiotika, wie z.B. PSM, aber auch sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, werden im Allgemeinen in drei Phasen detoxifiziert. Das bedeutet, dass wasserunlösliche und nur schwer ausscheidungsfähige Substanzen enzymatisch in wasserlösliche Metabolite umgewandelt werden, um sie transportfähig zu machen, sodass sie schließlich ausgeschieden werden können (BERENBAUM und JOHNSON, 2015).

In der ersten dieser drei Phasen (Funktionalisierung) sind hauptsächlich Enzyme der Familie der Cytochrome P450 s und Carboxylesterasen beteiligt (BERENBAUM und JOHNSON, 2015). Cytochrome P450 Monooxygenasen oxidieren eine Substanz (z.B. Pyrethroide oder Neonikotinoide; JOHNSON et al., 2009; SCHMUCK et al., 2003), indem ein Atom molekularen Sauerstoffs an die Substanz zu einem funktionalen Produkt transferiert wird, während das andere Atom, mit NADPH + H⁺ als Reduktionsmittel zu Wasser reduziert wird (FEYEREISEN, 2012). Carboxylesterasen hydrolysieren Esterbindungen (PILLING et al., 1995), um die Wasserlöslichkeit der Substanzen, (z.B. Pyrethroide, Neonikotinoide oder Organophosphate), zu steigern (CARVALHO et al., 2013).

In Phase II (Konjugation) sind insbesondere Gluthation-S-Transferasen beteiligt (BERENBAUM und JOHNSON, 2015; GONG und DIAO, 2017), welche Glutathion an die Produkte aus Phase I transferieren, um die Wasserlöslichkeit noch weiter zu erhöhen.

Phase III umfasst schließlich den Transportprozess durch die Zellmembran aus der Zelle heraus. Dies wird vor allem durch spezielle Transportproteine, z.B. aus der Familie der ABC-Transporter, realisiert (BERENBAUM und JOHNSON, 2015). Die enzymatische Detoxifizierung zu verstehen ist wichtig, um sowohl Resistenzen gegenüber PSM von Zielorganismen nachvollziehen zu können, aber auch um negative Effekte von PSM auf Nicht-Zielorganismen zu reduzieren. Überexpression von P450 kann zu Resistenzen von Schädlingen gegen Insektizide, wie Pyrethroide (DAVID et al., 2005; RODPRADIT et al., 2005) und Neonikotinoide führen (ELZAKI et al., 2016; PANG et al., 2016)

Zugrundeliegende Mechanismen der Mischtoxizität
Prinzipiell lassen sich Interaktionen zwischen Chemikalien unterschiedlich kategorisieren. Zu den wichtigsten Klassen zählen antagonistische, additive und synergistische Effekte (JIA et al., 2009). Wie sich eine Mischung letztlich im Einzelnen auswirkt, ist abhängig vom Wirkmechanismus der PSM und damit verbunden, der Wahl des Rezeptors (MARQUADT et al., 2019). Die Stärke der Ausprägung wird u.a. durch Umweltfaktoren (CARVALHO-NETTO et al., 2006), genetische Variationen (KIM und FAY, 2007) oder die Vitalität der betroffenen Individuen bestimmt (JOHNSON, 2015).

Antagonistische Effekte entstehen, wenn ein Mischungspartner (Antagonist) die Aktivität eines anderen hemmt, sodass die Mischung zu einer Reduktion der Effekte im Vergleich zur Soloanwendung führt (PALMER-YOUNG et al., 2017). Das tritt z.B. auf, wenn ein Mischungspartner den anderen an der Bindung am Target (der molekularen Zielstruktur) hindert, welche für die Entfaltung der Wirkung des Wirkstoffes essentiell ist. Hierzu kommt es, wenn der Antagonist noch vor dem anderen Mischungspartner am Target bindet und dieses besetzt oder an einem zweiten Target bindet, wodurch sich die Struktur des Targets für den anderen Mischungspartner ändert, sodass sich die Bindungsaffinität reduziert (JIA et al., 2009; PALMER-YOUNG et al., 2017). Außerdem kann eine reduzierte Wirkstoffaufnahme zu einer Verringerung der Effekte beitragen (DUFFEY und STOUT, 1996).

Additive Effekte hingegen ergeben sich, wenn die Effekte der Mischungspartner unabhängig voneinander auftreten (KÖNEMANN, 1981). Das passiert u. a. wenn zwei Substanzen einer Mischung einen ähnlichen Wirkmechanismus haben (Bsp.: gleiche Wirkung auf den gleichen Rezeptor, z.B. Tankmischung aus zwei Neonikotinoiden) (MARQUADT et al., 2019).

Verstärken sich Wirkstoffe gegenseitig in ihrer Wirkung, kommt es zu synergistischen Effekten. Hierbei wird ein größerer Effekt erzielt, als die Soloanwendung beider Substanzen erwarten ließe (CEDERGREEN, 2014; PALMER-YOUNG et al., 2017). Dieser überadditive Effekt lässt sich im Wesentlichen auf sechs Prozesse zurückführen: die Bioverfügbarkeit, die Aufnahme, den innerlichen Transport, die Bindung am Target, die Metabolisierung und die Ausscheidung (CEDERGREEN, 2014). So kommt es beispielsweise zu synergistischen Effekten, wenn eine Substanz die biologische Verfügbarkeit einer anderen erhöht (CEDERGREEN, 2014). Ebenso fördert eine verbesserte Wirkstoffaufnahme die Effekte, was v.a. für oberflächenaktive Zusatzstoffe zutrifft. Die Aufnahmerate und der Transport zum Wirkort wird u.a. durch die Konkurrenz um biologische Liganden sowie die Hemmung von Transportproteinen beeinflusst (CEDERGREEN, 2014). Der Großteil der stark synergistischen Interaktionen lässt sich jedoch durch Eingriffe in die Metabolisierungsprozesse und die Konkurrenz um den Zugang zum gleichen P450-Enzym erklären (JOHNSON et al., 2009; CEDERGREEN, 2014). Hierbei verringert eine Substanz die metabolische Enzymaktivität, was i.d.R. eine erhöhte Toxizität des anderen Mischungspartners bewirkt (CEDERGREEN, 2014).

Bekannt ist dieses Phänomen bspw. für die im Pflanzenschutz häufig eingesetzten Azolfungizide (IWASA et al., 2004). Während diese Fungizide allein auf Honigbienen normalerweise keine erhöhte Mortalität oder ähnliche Effekte bewirken (siehe z.B. WADE et al., 2019; WERNECKE et al., 2019), weisen Imidazole aus der Gruppe der Ergosterol-Biosynthese-Hemmer in Kombination mit Insektiziden ein wirkungssteigerndes Potential auf (PILLING und JEPSON, 1993; WADE et al., 2019). Als Inhibitoren hindern sie die Cytochrom P450-Monogenasen an der Metabolisierung lipophiler Verbindungen in Phase I (BRATTSTEN et al., 1994; BERENBAUM und JOHNSON, 2015). Sie gehen mit dem Eisen-Atom im aktiven Zentrum von Cytochrom P450-Enzymen eine starke Interaktion ein (KRÄMER und TESTA, 2009) und setzen dadurch die Aktivität von P450 herab (VINGGAARD et al., 2006), wodurch die Insektizide (Bsp.: Thiacloprid und Lambda-Cyhalothrin) nicht mehr richtig abgebaut werden können. Tankmischungen aus Azolfungiziden und Pyrethroiden führen folglich durch die Hemmung der mikrosomalen Oxidation und der damit verbundenen Störung des natürlichen Entgiftungsprozesses zu einer erhöhten Toxizität des Pyrethroids für Honigbienen (PILLING et al., 1995). Gleiches gilt für Mischungen aus Azolfungiziden und Neonikotinoiden. Hier kann sich die Toxizität des Neonikotinoids um mehr als das 1000-fache erhöhen (IWASA et al., 2004). Wie stark der synergistische Effekt ausfällt, wird durch die aktiven Bestandteile des Fungizids (PILLING und JEPSON, 1993), dessen Bindungsaffinität (TRÖSKEN et al., 2004) und Dosis bedingt (THOMPSON et al., 2014). Andere Fungizide, wie z.B. Substanzen aus der Wirkstoffgruppe der Succinat-Dehydrogenase-Hemmer oder Strobilurine, die nicht zur Klasse der EBI-Fungizide gehören, führen dagegen nicht zu synergistischen Effekten (JOHNSON et al., 2013; WERNECKE et al., 2019), da sie nicht an P450 binden (TUCKER und LILLICH, 1974; BARTLETT et al., 2002) und es so zu keinen Wechselwirkungen der Mischungspartner kommt.

Fazit und Ausblick

Angesichts des landwirtschaftlich intensiven Einsatzes von PSM und der verhältnismäßig geringen Zahl gemeldeter Bienenvergiftungen, ist davon auszugehen, dass das aktuelle Zulassungsverfahren für PSM und die damit einhergehende Erteilung spezifischer Bienenschutzauflagen grundsätzlich ein hohes Schutzniveau gewährleistet. Dennoch sind die Interaktionen zwischen Mischungspartnern komplex und die potentiellen Auswirkungen von Tankmischungen auf Bestäuber nicht umfassend erforscht. Prinzipiell bieten im Rahmen des Zulassungsverfahrens geprüfte Tankmischungen (Bsp. Tankmischungen aus Thiacloprid und Prothioconazol) daher die höchste Sicherheit (BVL, 2018). Für alle weiteren Tankmischungen gilt es zu bedenken, dass eine mögliche Schädigung von Nichtzielorganismen nicht ausgeschlossen werden kann. Gemäß der guten fachlichen Praxis sind Mischungen aus mehr als zwei Mischungspartnern zu vermeiden (BVL, 2018).

Für ein besseres Verständnis und die folgerichtige Bewertung der Risiken ist daher auch zukünftig weitere Forschung auf dem Gebiet der Tankmischungen essentiell. Aufgrund der Marktbreite an Produkten ist eine weitere systematische Testung von Wirkstoffgruppen und Formulierungstypen erforderlich, um eventuell risikoreiche Tankmischungen identifizieren zu können. Die Praxisrelevanz auffälliger Laborergebnisse ist in höherstufigen Tests zu prüfen. Hierbei sind sowohl akute als auch chronische Auswirkungen letaler und subletaler Natur auf adulte Tiere und Larven von Bedeutung. Auch die Ausweitung der Untersuchungen vom Modellorganismus „Honigbiene“ auf eusoziale und solitäre Wildbienen ist ein weiterer, notwendiger Schritt. Die Schließung dieser bestehenden Wissenslücken ist letztlich die Grundvoraussetzung für eine bestäuberfreundliche und nachhaltige Landwirtschaft zur Erhaltung der biologischen Vielfalt und zum Schutz der Bestäuber.

Erklärung zu Interessenkonflikten

Die Autoren erklären hiermit, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.


Literatur

- WOLBER und SEEMANN, 2006: Der Turbo für den Pflanzenschutz. Zugriff: 08. Oktober 2019, URL: <https://www.agrarheute.com/heftarchive/dlz/download/1093+&cd=1&hl=de&ct=clnk&gl=de&client=firefox-b-d>.
- AHMAD, M., 2007: Potentiation/antagonism of pyrethroids with organophosphate insecticides in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of economic entomology*, **100** (3), 886–893, DOI: 10.1093/jee/100.3.886.
- ALPTEKIN, S., C. BASS, C. NICHOLLS, M.J.I. PAINE, S.J. CLARK, L. FIELD, G.D. MOORES, 2016: Induced thiacloprid insensitivity in honeybees (*Apis mellifera* L.) is associated with up-regulation of detoxification genes. *Insect molecular biology* **25** (2), 171–180, DOI: 10.1111/imb.12211.
- BAI, D., S.C.R. LUMMIS, W. LEICHT, H. BREER, D.B. SATELLE, 1991: Actions of imidacloprid and related nitromethylene on cholinergic receptors of an identified insect motor neuron. *Pestic Sci* **33**, 197–204, DOI: 10.1002/ps.2780330208.
- BARTLETT, D.W., J.M. CLOUGH, J.R. GODWIN, A.A. HALL, M. HAMER, B. PARR-DOBZANSKI, 2002: The strobilurin fungicides. *Pest management science* **58** (7), 649–662, DOI: 10.1002/ps.520.
- BARTLETT, D.W., J.M. CLOUGH, J.R. GODWIN, A.A. HALL, M. HAMER, B. PARR-DOBZANSKI, 2002: The strobilurin fungicides. *Pest management science* **58** (7), 649–662, DOI: 10.1002/ps.520.
- BRATTSTEN, L.B., D.A. BERGER, L.B. DUNGAN, 1994: In vitro inhibition of midgut microsomal P450 s from *Spodoptera eridania* caterpillars by demethylation inhibitor fungicides and plant growth regulators. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **48** (3), 234–243, DOI: 10.1006/pest.1994.1025.
- BROWN, T.J., S.E. KEGLEY, 2015: The Curious Beekeeper – Chemical Synergies: When 1 + 1 does not equal 2. *American Bee Journal* **155** (1), 91–94.
- BERENBAUM, M.R., R.M. JOHNSON, 2015: Xenobiotic detoxification pathways in honey bees. *Current opinion in insect science* **10**, 51–58, DOI: 10.1016/j.cois.2015.03.005.
- BIENSCHV [Bienenschutzverordnung], 1992: Verordnung über die Anwendung bienengefährlicher Pflanzenschutzmittel, Bienenschutzverordnung vom 22. Juli 1992 (BGBl. I S. 1410), die zuletzt durch Artikel 6 der Verordnung vom 27. Juni 2013 (BGBl. I S. 1953) geändert worden ist.
- BLISS, C.I., 1939: The toxicity of poisons applied jointly. *Annals of applied biology* **26** (3), 585–615, DOI: 10.1111/j.1744-7348.1939.tb06990.x.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2011: PSM-Zulassungsbericht Karate Zeon. Zugriff: 27.


- Februar 2020, URL: https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/01_zulassungsberichte/024675-00-00.pdf?__blob=publicationFile&v=3.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2015: Bienenschutz bei Tankmischungen mit mehreren Insektiziden. Zugriff: 05. Februar 2020, URL: https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Fachmeldungen/04_pflanzenschutzmittel/2015/2015_03_20_Fa_Bienenschutz.html.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2018: Neue Vorgaben zum Bienenschutz bei Tankmischungen von Insektiziden mit Fungiziden. Zugriff: 05. Februar 2020, URL: https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Fachmeldungen/04_pflanzenschutzmittel/2018/2018_11_12_Fa_Bienenschutz_Tankmischung_Insekt_Fung.html.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2019a: Kodeliste für Kennzeichnungstexte und sonstige Auflagen zugelassener Pflanzenschutzmittel. Zugriff: 07.02.2020, URL: https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/PSM_Kodeliste.pdf?__blob=publicationFile&v=5.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2020a: Danjiri. Zugriff: 18. Februar 2020, URL: <https://apps2.bvl.bund.de/psm/jsp/DatenBlatt.jsp?kennr=005655-60>.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2020b: Liste der Zusatzstoffe (Stand 6. Februar 2020). Zugriff: 12. Februar 2020, URL: https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/Zusatzstoffe_liste.pdf?__blob=publicationFile&v=13.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2020c: Mospilan SG. Zugriff: 18. Februar 2020, URL: <https://apps2.bvl.bund.de/psm/jsp/DatenBlatt.jsp?kennr=005655-00>.
- BVL [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit], 2020d: Zusatzstoffe gemäß § 42 Pflanzenschutzgesetz. Zugriff: 12.02.2020, URL: https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/05_Zusatzstoffe/psm_Zusatzstoffe_node.html.
- CARVALHO, S.M., L.P. BELZUNCES, G.A. CARVALHO, J.-L. BRUNET, A. BADIOU-BENETEAU, 2013: Enzymatic biomarkers as tools to assess environmental quality: a case study of exposure of the honeybee *Apis mellifera* to insecticides. *Environmental toxicology and chemistry* **32** (9), 2117–2124, DOI: 10.1002/etc.2288.
- CARVALHO-NEITTO, E.F., C. MARKHAM, D.C. BLANCHARD, R.L. NUNES-DE-SOUZA, R.J. BLANCHARD, 2006: Physical environment modulates the behavioral responses induced by chemical stimulation of dorsal periaqueductal gray in mice. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* **85** (1), 140–147, DOI: 10.1016/j.pbb.2006.07.022.
- CASIDA, J.E., 1980: Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental health perspectives* **34**, 189–202, DOI: 10.1289/ehp.8034189.
- CEDERGREEN, N., C. SVENDSEN, T. BACKHAUS, 2013: Chemical mixtures: concepts for predicting toxicity. *Encyclopedia of Environmental Management*. New York: Taylor and Francis, 2601–2610, DOI: 10.1081/E-EEM-120046684.
- CEDERGREEN, N., 2014: Quantifying synergy: a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PLoS one* **9** (5), DOI: 10.1371/journal.pone.0096580.
- CHEN, J., J.D. FINE, C.A. MULLIN, 2018: Are organosilicon surfactants safe for bees or humans?. *Science of the total environment* **612**, 415–421, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.175.
- CIARLO, T.J., C.A. MULLIN, J.L. FRAZIER, D.R. SCHMEHL, 2012: Learning impairment in honey bees caused by agricultural spray adjuvants. *PLoS One* **7** (7), DOI: 10.1371/journal.pone.0040848.
- CLAUDIANOS, C., H. RANSON, R.M. JOHNSON, S. BISWAS, M.A. SCHULER, M.R. BERENBAUM, R. FEYEREISEN, J.G. OAKESHOTT, 2006: A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect molecular biology* **15** (5), 615–636, DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x.
- COLIN, M.E., L.P. BELZUNCES, 1992: Evidence of synergy between prochloraz and deltamethrin in *Apis mellifera* L.: A convenient biological approach. *Pesticide Science* **36** (2), 115–119, DOI: 10.1002/ps.2780360206.
- DAVID, J.P., C. STRODE, J. VONTAS, D. NIKOU, A. VAUGHAN, P.M. PIGNATELLI, C. LOUIS, J. HEMINGWAY, H. RANSON, 2005: The *Anopheles gambiae* detoxification chip: A highly specific microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102** (11), 4080–4084, DOI: 10.1073/pnas.0409348102.
- DUFFEY, S.S., M.J. STOUT, 1996: Antinutritive and toxic components of plant defense against insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* **32** (1), 3–37, DOI: 10.1002/(SICI)1520-6327(1996)32:1<3::AID-ARCH2>3.0.CO;2-1.
- ELZAKI, M.E.A., W. ZHANG, A. FENG, X. QIU, W. ZHAO, Z. HAN, 2016: Constitutive overexpression of cytochrome P450 associated with imidacloprid resistance in *Laodelphax striatellus* (Fallén). *Pest management science* **72** (5), 1051–1058, DOI: 10.1002/ps.4155.
- FAULDE, M., 2010: Insektizide, Akarizide und Repellenzien. In: Aspöck H (ed) *Krankheiten durch Arthropoden*. Wien, Österreich, Denisia-Verlag, Denisia 30, S. 113.
- FEYEREISEN, R., 2012: Insect CYP Genes and P450 Enzymes. In: *Insect molecular biology and biochemistry*. Gilbert, L.I. (Hrsg.), Amsterdam, Elsevier, S. 236–316.
- FINE, J.D., D.L. COX-FOSTER, C.A. MULLIN, 2017: An inert pesticide adjuvant synergizes viral pathogenicity and mortality in honey bee larvae. *Scientific Reports* **7** (1), 1–9, DOI: 10.1038/srep40499.
- FRAC [Fungicide Resistance Action Committee], 2019: FRAC Code List©* 2019: Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action. Zugriff: 11. Februar 2020, URL: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2019-finale0af2a2c512362eb9a1eff00004acf5d.pdf?Status=Temp&sfvrsn=7d8c489a_2.
- GONG, Y., Q. DIAO, 2017: Current knowledge of detoxification mechanisms of xenobiotic in honey bees. *Ecotoxicology* (London, England) **26** (1), 1–12, DOI: 10.1007/s10646-016-1742-7.
- HARDSTONE, M.C., J.G. SCOTT, 2010: Is *Apis mellifera* more sensitive to insecticides than other insects? *Pest management science* **66** (11), 1171–1180, DOI: 10.1002/ps.2001.
- INGLESFIELD, C., 1989: Pyrethroids and terrestrial non-target organisms. *Pesticide science* **27** (4), 387–428, DOI: 10.1002/ps.2780270407.
- IPBES [Weltbiodiversitätsrat], 2017: The assessment report on pollinators, pollination and food production. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES), S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages. Zugriff: 17. Februar 2020, URL: https://ipbes.net/sites/default/files/downloads/pdf/2017_pollination_full_report_book_v12_pages.pdf.
- IRAC [Insecticide Resistance Action Committee], 2019: The IRAC Mode of Action Classification Online. Zugriff: 11. Februar 2020, URL: <https://www.irac-online.org/modes-of-action/>.
- IWASA, T., N. MOTOYAMA, J.T. AMBROSE, R.M. ROE, 2004: Mechanism for the differential toxicity of Neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* **23** (5), 371–378, DOI: 10.1016/j.cropro.2003.08.018.
- JIA, J., F. ZHU, X. MA, Z. W. CAO, Y.X. LI, Y.Z. CHEN, 2009: Mechanisms of drug combinations: interaction and network perspectives. *Nature reviews Drug discovery* **8** (2), 111–128, DOI: 10.1038/nrd2683.
- JESCHKE, P., R. NAUEN, 2008: Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest management science* **64** (11), 1084–1098, DOI: 10.1002/ps.1631.
- JKI [Julius Kühn-Institut], 2017: Jahresbericht 2017 der Untersuchungsstelle für Bienenvergiftungen. Zugriff: 18.02.2020, URL: <https://bienenuntersuchung.julius-kuehn.de/index.php?menuid=91>.
- JKI [Julius Kühn-Institut], 2020a: Wirkstofffranking Apfel 2014. Zugriff: 19.02.2020, URL: <https://papa.julius-kuehn.de/index.php?menuid=54&reporeid=75>.
- JKI [Julius Kühn-Institut], 2020b: Wirkstofffranking Winterraps 2018. Zugriff: 19.02.2020, URL: <https://papa.julius-kuehn.de/index.php?menuid=54&reporeid=319>.
- JOHNSON, R.M., 2015: Honey bee toxicology. *Annual review of entomology* **60**, 415–434, DOI: 10.1146/annurev-ento-011613-162005.
- JOHNSON, R.M., H.S. POLLOCK, M.R. BERENBAUM, 2009: Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. *Journal of economic entomology* **102** (2), 474–479, DOI: 10.1603/029.102.0202.
- JOHNSON, R.M., L. DAHLGREN, B.D. SIEGFRIED, M.D. ELLIS, 2013: Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS one* **8** (1) e54092, DOI: 10.1371/journal.pone.0054092.
- KILJANEK, T., A. NIEWIADOWSKA, A. POSYNIK, 2016: Pesticide poisoning of honeybees: a review of symptoms, incident classification, and causes of poisoning. *Journal of Apicultural Science* **60** (2), 5–24, DOI: 10.1515/jas-2016-0024.
- KIM, H.S., J.C. FAY, 2007: Genetic variation in the cysteine biosynthesis pathway causes sensitivity to pharmacological compounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104** (49), 19387–19391, DOI: 10.1073/pnas.0708194104.
- KLEIN, A.M., B.E. VAISSIERE, J.H. CANE, I. STEFFAN-DEWENTER, S.A. CUNNINGHAM, C. KREMEN, T. TSCHARNTKE, 2007: Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences* **274** (1608), 303–313, DOI: 10.1098/rspb.2006.3721.

- KÖNEMANN, H., 1981: Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: A proposal for a quantitative approach and experimental results. *Toxicology* **19** (3), 229–238, DOI: 10.1016/0300-483X(81)90132-3.
- KOPIT, A.M., T.L. PITTS-SINGER, 2018: Routes of pesticide exposure in solitary, cavity-nesting bees. *Environmental Entomology* **47** (3), 499–510, DOI: 10.1093/ee/nvy034.
- KRÄMER, S.D., B. TESTA, 2009: The Biochemistry of Drug Metabolism - An Introduction: Part 7. Intra-Individual Factors Affecting Drug Metabolism. *Chemistry and Biodiversity* **6**, 1477–1660, DOI: 10.1002/cbdv.200900233.
- MAIN, A.R., E.B. WEBB, K.W. GOYNE, D. MENGEL, 2018: Neonicotinoid insecticides negatively affect performance measures of non-target terrestrial arthropods: a meta-analysis. *Ecological Applications* **28** (5), 1232–1244, DOI: 10.1002/eap.1723.
- MANJON, C., B.J. TROCZKA, M. ZAWORRA, K. BEADLE, E. RANDALL, G. HERTLEIN, K.S. SINGH, C.T. ZIMMER, R.A. HOMEM, B. LUEKE, R. REID, L. KOR, M. KOHLER, J. BENTING, M.S. WILLIAMSON, T.G.E. DAVIES, L.M. FIELD, C. BASS, R. REID, 2018: Unravelling the molecular determinants of bee sensitivity to neonicotinoid insecticides. *Current Biology* **28** (7), 1137–1143, DOI: 10.1016/j.cub.2018.02.045.
- MARQUADT, H., S. SCHÄFER, H. BARTH, 2019: Toxikologie. Stuttgart, Germany, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- NASUTI, C., F. CANTALAMESSA, G. FALCIONI, R. GABBIANELLI, 2003: Different effects of Type I and Type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology* **191** (2–3), 233–244, DOI: 10.1016/S0300-483X(03)00207-5.
- PALMER-YOUNG, E.C., B.M. SADD, R.E. IRWIN, L.S. ADLER, 2017: Synergistic effects of floral phytochemicals against a bumble bee parasite. *Ecology and evolution* **7** (6), 1836–1849, DOI: 10.1002/ece3.2794.
- PANG, R., M. CHEN, Z. LIANG, X. YUE, H. GE, W. ZHANG, 2016: Functional analysis of CYP6ER1, a P450 gene associated with imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Scientific reports* **6**, 34992, DOI: 10.1038/srep34992.
- PILLING, E.D., P.C. JEPSON, 1993: Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Pest Management Science* **39** (4), 293–297, DOI: 10.1002/ps.2780390407.
- PILLING, E.D., K.A.C. BROMLEYCHALLENGER, C.H. WALKER, P.C. JEPSON, 1995: Mechanism of synergism between the pyrethroid insecticide λ -cyhalothrin and the imidazole fungicide prochloraz, in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **51** (1), 1–11, DOI: 10.1006/pest.1995.1001.
- PHUA, D.H., C.C. LIN, M.-L. WU, J.F. DENG, C.C. YANG, 2009: Neonicotinoid insecticides: an emerging cause of acute pesticide poisoning. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)* **47** (4), 336–341, DOI: 10.1080/15563650802644533.
- REICHL, F.X., 2011: Moderne Umweltmedizin: Umweltbelastungen – Diagnostik – Therapie. Berlin, Germany, Lehmanns Media, S. 119–120, ISBN 978-3-86541-399-4.
- RODE, H., 1986: Zur Kombination von Pflanzenschutzmitteln bei der Schaderregerbekämpfung im Apfelintensivanbau. *Archiv für Gartenbau*, Berlin **34** (2), 95–107.
- RODPRADIT, P., S. BOONSUEPSAKUL, C. CHAREONVIRIYAPHAO, M.J. BANGS, P. RONGNOPARUT, 2005: Cytochrome P450 genes: molecular cloning and overexpression in a pyrethroid-resistant strain of *Anopheles minimus* mosquito. *Journal of the American Mosquito Control Association* **21** (1), 71–79, DOI: 10.2987/8756-971X(2005)21[71:CPGMCA]2.0.CO;2.
- RORTAIS, A., G. ARNOLD, J.L. DORNE, S.J. MORE, G. SPERANDIO, F. STREISSL, C. SZENTESI, F. VERDONCK, 2017: Risk assessment of pesticides and other stressors in bees: principles, data gaps and perspectives from the European Food Safety Authority. *Science of the Total Environment* **587**, 524–537, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.127.
- SCHMUCK, R., T. STADLER, H.W. SCHMIDT, 2003: Field relevance of a synergistic effect observed in the laboratory between an EBI fungicide and a chloronicotinyl insecticide in the honeybee (*Apis mellifera* L., Hymenoptera). *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* **59** (3), 279–286, DOI: 10.1002/ps.626.
- SIMON-DELSON, N., V. AMARAL-ROGERS, L.P. BELZUNCES, J.M. BONMATIN, M. CHAGNON, C. DOWNS, L. FURLAN, D.W. GIBBONS, C. GIORIO, V. GIROLAMI, D. GOULSON, D.P. KREUTZWEISER, C.H. KRUPKE, M. LIESS, E. LONG, M. McFIELD, P. MINEAU, E.A.D. MITCHELL, C.A. MORRISSEY, D.A. NOOME, L. PISA, J. SETTELE, J.D. STARK, A. TAPPARO, H. VAN DYCK, J. VAN PRAAGH, J.P. VAN DER SLUIJS, P.R. WHITEHORN, M. WIEMERS, 2015: Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research* **22** (1), 5–34, DOI: 10.1007/s11356-014-3470-y.
- STATISTA, 2020: Volumen des Welpflanzenschutzmarktes in den Jahren 2007 bis 2018. Zugriff: 27. Februar 2020, URL: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/183085/umfrage/umsatz-auf-dem-welpflanzenschutzmarkt-seit-2007/>.
- SODERLUND, D.M., 2010: Toxicology and mode of action of pyrethroid insecticides. In Hayes' handbook of pesticide toxicology (pp. 1665–1686). Academic Press, DOI: 10.1016/B978-0-12-374367-1.00077-X.
- SOLTANINEJAD, K., M. ABDOLLAHI, 2009: Current opinion on the science of organophosphate pesticides and toxic stress: A systematic review. *Medical Science Monitor* **15** (3), 75–90.
- THOMPSON, H., S. WILKINS, 2003: Assessment of the synergy and repellency of pyrethroid/fungicide mixtures. *Bulletin of Insectology* **56** (1), 131–134.
- THOMPSON, H.M., S.L. FRYDAY, S. HARKIN, S. MILNER, 2014: Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to Neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. *Apidologie* **45** (5), 545–553, DOI: 10.1007/s13592-014-0273-6.
- TRÖSKEN, E.R., K. SCHOLZ, R.W. LUTZ, W. VÖLKELE, J.A. ZARN, W.K. LUTZ, 2004: Comparative assessment of the inhibition of recombinant human CYP19 (aromatase) by azoles used in agriculture and as drugs for humans. *Endocrine research* **30** (3), 387–394, DOI: 10.1081/ERC-200035093.
- TUCKER, A.N., T.T. LILICH, 1974: Effect of the Systemic Fungicide Carboxin on Electron Transport Function in Membranes of *Micrococcus denitrificans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **6** (5), 572–578, DOI: 10.1128/AAC.6.5.572.
- Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln und zur Aufhebung der Richtlinien 79/117/EWG und 91/414/EWG des Rates, ABl. L309 vom 24.11.2009.
- VINGGAARD, A.M., U. HASS, M. DALGAARD, H.R. ANDERSEN, E. BONEFELD-JØRGENSEN, S. CHRISTIANSEN, P. LAIER, M.E. POULSEN, 2006: Prochloraz: an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action. *International journal of andrology* **29** (1), 186–192, DOI: 10.1111/j.1365-2605.2005.00604.x.
- VIJVERBERG, H.P., J. VANDEN BERCKEN, 1990: Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Critical reviews in toxicology* **21** (2), 105–126, DOI: 10.3109/10408449009089875.
- WADE, A., C.-H. LIN, C. KURKUL, E.R. REGAN, R.M. JOHNSON, 2019: Combined Toxicity of Insecticides and Fungicides Applied to California Almond Orchards to Honey Bee Larvae and Adults. *Insects* **10** (1), DOI: 10.3390/insects10010020.
- WANG, Y., Y.Z. ZHU, W. LI, 2019: Comparative examination on synergistic toxicities of chlorpyrifos, acephate, or tetraconazole mixed with pyrethroid insecticides to honey bees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Science and Pollution Research* **27**, 6971–6980, DOI: 10.1007/s11356-019-07214-3.
- WERNECKE, A., M. FROMMBERGER, J. PISTORIUS, 2018: Auswirkungen von Tankmischungen auf Honigbienen. In: JKI (Hrsg.): 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft; 11. - 14. September 2018, Universität Hohenheim -Kurzfassungen der Vorträge und Poster- (Julius-Kühn-Archiv 461), Braunschweig, 399.
- WERNECKE, A., M. FROMMBERGER, R. FORSTER, J. PISTORIUS, 2019: Lethal effects of various tank mixtures including insecticides, fungicides and fertilizers on honey bees under laboratory, semi-field and field conditions. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* **14** (3), 239–249, DOI: 10.1007/s00003-019-01233-5.
- ZHANG, A., H. KAYSER, P. MAIENFISCH, J.E. CASIDA, 2000: Insect nicotinic acetylcholine receptor: conserved neonicotinoid specificity of [3H]imidacloprid binding site. *Journal of Neurochemistry* **75**, 1294–1303, DOI: 10.1046/j.1471-4159.2000.751294.x.
- ZHU, W., D.R. SCHMEHL, C.A. MULLIN, J.L. FRAZIER, 2014: Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae. *PloS one* **9** (1), DOI: 10.1371/journal.pone.0077547.

© Der Autor/Die Autorin 2020.

 Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0) zur Verfügung gestellt wird (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>).

© The Author(s) 2020.

 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>).