HAL open science

# 10. Methode zur Bestimmung der akuten oralen LD50 von Pflanzenschutzmitteln an Hummeln (Bombus terrestris L)

H Schaefer, C Gretenkord, Jjm van Der Steen

**To cite this version:**

H Schaefer, C Gretenkord, Jjm van Der Steen. 10. Methode zur Bestimmung der akuten oralen LD50 von Pflanzenschutzmitteln an Hummeln (Bombus terrestris L). Apidologie, 1996, 27 (4), pp.275-277. hal-00891348

**HAL Id: hal-00891348**

**https://hal.science/hal-00891348**

Submitted on 11 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Premières expériences au champ sur les effets secondaires de l'Alsystine sur le bourdon (*Bombus terrestris* L)**

Jusqu'à présent, les effets des produits phytopharmaceutiques sur le bourdon (*Bombus terrestris* L) avaient été examinés au laboratoire et dans les essais sous tente. Lors d'essais préliminaires, l'Alsystine, un inhibiteur de la synthèse de la chitine, avait exercé un effet négatif sur les larves. On s'est posé la question de savoir si l'utilisation d'Alsystine présentait également un risque pour les populations naturelles de bourdons en plein champ. En juillet 1995, six colonies de *Bombus terrestris* (maximum: 43 ouvrières) d'un élevage de l'Institut ont été installées sur une surface de 2 400 $m^2$ plantée de *Phacelia*. La densité des insectes, l'activité de vol de chaque colonie, l'origine du pollen récolté et la mortalité (larves–imagos) ont été déterminées. On a appliqué 800 g d'Alsystine/ha dans 400 L d'eau trois jours après l'installation des bourdons.

La densité de bourdons sur le champ de phacélie variait entre 2 880 (10/07/1995) et 8 160 (05/07/1995). Après utilisation du produit, la densité de vol était de 5 280 bourdons. La visite des fleurs n'a pas été influencée par l'Alsystine. L'activité de vol globalement faible des petites colonies (0 à 20 vols en dix minutes) est restée constante. L'étude du pollen récolté a montré que les bourdons butinaient, outre la phacélie, également les asperges, le trèfle et diverses rosacées. La composition du pollen récolté variait de jour en jour dans les colonies. On a trouvé des larves mortes dès le premier jour suivant le traitement. Quatre jours après l'emploi d'Alsystine, les colonies n'avaient plus de stades larvaires. Le couvain était composé uniquement de cocons et d'amas d'œufs, les larves étaient détruites à 100 % dans les colonies.

Le développement des colonies expérimentales a été influencé par l'utilisation d'Alsystine. L'analyse des résultats indique un effet nocif durable chez les populations naturelles de bourdons après un traitement à l'Alsystine.

**10. Methode zur Bestimmung der akuten oralen $LD_{50}$ von Pflanzenschutzmitteln an Hummeln (*Bombus terrestris* L)**

H Schaefer [1], C Gretenkord [2], JJM van der Steen [3] *([1] Institut für Pflanzenschutz, Saatgutuntersuchung und Bienenkunde, Münster; [2] Institut für Landwirtschaftliche Zoologie und Bienenkunde, Bonn, Deutschland; [3] Landelijk Proefbedrijf voor Insektenbestuiving en Bijenhouderij "Ambrosiushoeve", Hilvarenbeek, Neederlands)*

Bei der Bestimmung der oralen $LD_{50}$ müssen zwei spezifische Eigenschaften von Hummeln berücksichtigt werden: (a) Hummeln haben keine Trophallaxis und (b) individuell gehaltene Hummeln werden lethargisch.

*Methode.* Arbeiterinnen mittlerer Größe und mittleren Alters werden aus jungen Völkern entnommen und ihr Durchschnittsgewicht bestimmt. Die Hummeln werden einzeln in Plastikbechern bei einer Temperatur von 25 ± 2 °C im Dunkeln gehalten; sie hungern 2–3 Stunden. Die Prüfsubstanz wird in 50 %iger Zuckerlösung gelöst. Nachdem der Wirkungsbereich des Prüfmittels in Vorversuchen ermittelt wurde, werden 5 Konzentrationen zwischen der prospektiven $LD_0$ und $LD_{100}$ geprüft. Der Versuch umfaßt zwei zeitlich versetzte Wiederholungen mit 30 Hummeln pro Konzentration. Die Prüflösung kann auf zwei Weisen verabreicht werden: i) Unterhalb eines Loches (2 mm) im Boden des Plastikbechers oder ii) in einer Pipette, die seitlich in den Behälter hineinragt. Die Arbeiterinnen werden mit Hilfe eines Tropfens Zuckerlösung aktiviert, der sich auf dem Boden des Bechers (Methode 1) oder an der Pipettenspitze (2) befindet. Wenn die Tiere diesen Tropfen aufgenommen haben, suchen sie weiter und nehmen auch die Prüflösung auf. Die Applikationszeit

beträgt zwei Stunden. Nach 24, 48 und, falls erforderlich, 72 Stunden wird die Mortalität festgestellt. Als Positivkontrolle dienen drei Konzentrationen eines Pflanzenschutzmittels mit bekannter Toxizität (z.B. Parathion, Dimethoat), als Negativkontrolle unkontaminierte Zuckerlösung. $LD_{50}$ und $ED_{50}$ werden mit geeigneten statistischen Methoden berechnet. Die Werte werden angegeben in µg ai / Hummel oder µg ai / Gramm Hummel.

Weil fast immer mehr als 80 % der Hummeln die Prüflösung in zwei Stunden aufnehmen, werden 36 Hummeln pro Konzentration gefüttert.

Die bisher bestimmte akuten oralen $LD_{50}$ Werten von Wirkstoffen sind: Pirimicarb : 8,4 µg / Hummel, Propoxur: 23,6 µg / Hummel, Endosulfan : 13,7 µg / Hummel, Parathion : 0,69 µg / Hummel, Oxydemeton-methyl : 0,73 µg / Hummel, Dimethoat : 1,7 µg / Hummel, Phosalon : 59,7 µg / Hummel, Deltamethrin : 0,54 µg / Hummel und Lambda-cyhalothrin 0,16 µg / Hummel.

## A method to determine the acute oral $LD_{50}$ of pesticides for bumblebees (*Bombus terrestris* L)

For the determination of the oral $LD_{50}$, two characteristics of bumblebees must be taken into account: i) bumblebees have no trophallaxis; and ii) individually caged bumblebees become lethargic.

*Method:* Worker bees of average size and age were taken from young colonies and the mean weight of the bees was determined. The bees were individually housed in plastic cups, kept in the dark at a temperature of 25 ± 2 °C; they were starved for 2–3 h. The test substance was dissolved in 50% sucrose solution. After a range finding test, five concentrations between the presumable $LD_0$ and $LD_{100}$ were tested. Thirty bees were fed per concentration. An $LD_{50}$ study consists of two replicates in time.

The test solution (10 µL) can be applied in two ways: i) as a drop under a hole (2 mm) in the bottom of the cup; or ii) in a pipette fixed in the test cup wall.

The bees were activated with a drop of sugar solution on the bottom of the test cup (*Method 1*) or on the top of the pipette (*Method 2*). Once the bumblebees have found and swallowed this drop, they will subsequently search and feed on the test solution. The bees were given 2 h to take in the test solution.

Mortality was recorded after 24, 48 and if necessary up to 72 h.

With the test substance, simultaneously three concentrations of a pesticide of known toxicity (positive control; eg, parathion, dimethoate) and uncontaminated sucrose solution (negative control) were administered.

The $LD_{50}$ and, if relevant, the $ED_{50}$ were calculated with an appropriate statistical method. $LD_{50}$ and $ED_{50}$ are expressed in µg ai / bee or in µg ai / gram of bee.

It appeared that almost always more than 80% of the bumblebees swallow the test substance solution within 2 hours. That is why the test substance solution is offered to 36 bumblebees.

The acute oral $LD_{50}$ values of active ingredients, determined up to now, are: pirimicarb: 8.4 µg / bee, propoxur: 23.6 µg / bee, endosulfan: 13.7 µg / bee, parathion: 0.69 µg / bee, oxydemeton-methyl: 0.73 µg / bee, dimethoate: 1.7 µg / bee, phosalon: 59.7 µg / bee, deltamethrin: 0.54 µg / bee and lambda-cyhalothrin 0.16 µg / bee.

## Méthode de détermination de la $DL_{50}$ orale aiguë de produits phytopharmaceutiques chez le bourdon (*Bombus terrestris* L)

Deux caractéristiques spécifiques des bourdons doivent être prises en considération

lorsqu'on détermine la $DL_{50}$ orale : i) il n'y a pas de trophallaxie chez les bourdons et ii) les bourdons élevés individuellement deviennent léthargiques.

*Méthode* : Des ouvrières de taille et d'âge moyens sont prélevées dans les jeunes colonies et on détermine leur poids moyen. Les bourdons sont maintenus individuellement dans des béchers en plastique, à l'obscurité et à une température de 25 ± 2 °C ; ils jeûnent pendant deux à trois heures. La substance testée est dissoute dans une solution sucrée à 50 %. Après avoir déterminé le spectre d'action du produit dans des essais préliminaires, on étudie cinq concentrations comprises entre la $DL_0$ prospective et la $DL_{100}$. L'essai comprend deux répétitions décalées dans le temps avec 30 bourdons pour chaque concentration. La solution testée peut être administrée de deux manières : i) au-dessous d'un trou (2 mm) dans le fond du bécher en plastique ou ii) par une pipette qui entre latéralement dans le gobelet. Les ouvrières sont activées grâce à une goutte de solution sucrée qui se trouve au fond du gobelet (méthode 1) ou à l'extrémité de la pipette (2). Lorsque les bourdons ont absorbé cette goutte, ils continuent à chercher de la nourriture et acceptent alors la solution testée. La durée d'administration est de deux heures. Au bout de 24, 48 et, si nécessaire, 72 heures, on détermine la mortalité. Comme témoin positif, on utilise trois concentrations d'un produit phytopharmaceutique à toxicité connue (p ex parathion, diméthoate), comme témoin négatif une solution sucrée non contaminée. La $DL_{50}$ et la $DE_{50}$ sont calculées avec des méthodes statistiques adaptées. Les valeurs sont indiquées en µg ma/bourdon ou en µg ma par gramme de bourdon.

Étant donné que plus de 80 % des bourdons absorbent presque toujours la solution en deux heures, on nourrit 36 bourdons par concentration.

Les valeurs de la $DL_{50}$ orale aiguë des matières actives sont les suivantes: Pirimicarb : 8,4 µg/bourdon, Propoxur : 23,6 µg/bourdon ; Endosulfan : 13,7 µg/bourdon ; Parathion : 0,69 µg/bourdon ; Oxydémétonméthyl : 0,73 µg/bourdon : Diméthoate : 1,7 µg/bourdon, Phosalone : 59,7 µg/bourdon, Deltaméthrine : 0,54 µg/bourdon, et Lambda-cyhalotrine : 0,16 µg/bourdon.

**14. Arealuntersuchungen auf *Bacillus larvae*-Sporen im Honig als Prophylaktikum.**

W von der Ohe, K Schütze, FW Lienau *(Nieders Landesinstitut für Bienenkunde, Wehlstr 4a, D-29221 Celle, Deutschland)*

Die Auftreten der Amerikanischen Faulbrut hat in manchen Regionen eine steigende Tendenz. Eine Verhinderung der Seuche ist nur möglich, wenn der Infektionsdruck eingeschätzt und das Sporenreservoir in einem Areal aufgedeckt werden können. Zur Klärung sind Untersuchungen über Verbreitung und Transfer von *Bacillus larvae*-Sporen nötig.

Honige sowie Futterkranzproben (n = 2575) aus Bienenvölkern in Norddeutschland wurden auf die Kontamination mit *B larvae*-Sporen untersucht. Differentialdiagnose und Ermittlung der Sporenmenge erfolgte über die Inkubation 50%iger Honiglösung, die zuvor 5 min bei 92 °C erwärmt wurde, auf Columbia-Schafblut-Agar, sowie dem Katalase- und Plagemann-Test.

Die Nachweisgrenze liegt bei 97,8 (± 48,7) *B larvae*-Sporen/g Honig. Sämtliche untersuchten Importhonige waren hochgradig kontaminiert, während Zufallsproben von Imkern je nach Region nur zwischen 3 und 7% belasted sind. *B larvae* ist nicht ubiquitär. Die Untersuchung von Honigen aus Befalls- und den Vorjahren belegte, daß 2–3 Jahre vor Feststellung der klinischen Symptome die Honige bereits mit Sporen kontaminiert waren. Auch der Erfolg einer Kunstschwarmsanierung läßt sich mittels des Sporennachweises überprüfen. In den untersuchten Sperrbezirken wiesen die Völ-