

VERÄNDERTES THERMOPRÄFERENDUM VON JUNGBIENEN DURCH INTOXIKATION MIT ROXION-S (DIMETHOAT)¹

Anton Stabentheiner, Sigurd Schmaranzer, Herbert Heran & Renate Ressi

Institut für Zoologie, Karl-Franzens-Universität Graz

Abstract: Intoxication with Roxion-S (dimethoate) changes the temperature preference of young honeybees.

1 - 5 days old bees (*Apis mellifera carnica* Pollm., Hymenoptera, Apidae) were individually fed with 5 µl 2 M sucrose solution or with a mixture of 2 parts honey and 1 part water, contaminated with Roxion-S (active agent: 400 g dimethoate/l). Afterwards they could select the spot of their preferred temperature within the temperature gradient of metal rails, which were cooled on one side and heated on the other.

In one series of experiments, where the rail floor temperature was measured, 50 ng dimethoate per bee (8.5 ppm w/w) caused a drop of the temperature preference by 4.9 °C (compared to the controls) 22 hours after contamination.

In the second series of experiments the air temperature within the rail was measured. When fed with 50 ng dimethoate (8 ppm w/w), 18 hours after contamination the animals preferred 2.4 °C lower temperatures in one of two experiments; after 24 hours in both experiments the temperature preference was decreased (3.8 °C and 3.5 °C).

Key words: Insect, honeybee, pesticide, Roxion-S, dimethoate, intoxication, temperature preference

Dr. A. Stabentheiner, Dr. S. Schmaranzer, Univ. Prof. Dr. H. Heran, Mag. R. Ressi, Institut für Zoologie der Universität Graz, Universitätsplatz 2, A-8010 Graz, Austria.

Die Regulation des Temperaturhaushaltes spielt im Bienenvolk eine Außerordentlich große Rolle (HESS 1926; HIMMER 1932). Zur Brutzeit wird z. B. die Brutnesttemperatur konstant zwischen 34,5 und 35,5°C gehalten (HESS 1926). Fällt sie darunter, kommt es zu Entwicklungsstörungen der Bienenlarven (HIMMER 1932). Jungbienen haben eine ausgeprägte Vorzugstemperatur (Thermopräferendum; HERAN 1952), welche in den ersten 6 Tagen im Bereich der Brutnesttemperatur liegt. HERAN (1952) beobachtete auch, daß toxische Substanzen das Thermopräferendum beeinflussen können: Mit CO₂ narkotisierte 2-tägige Bienen bevorzugten um 3,3°C niedrigere Temperaturen als unbehandelte.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob mit Roxion-S (Wirkstoff Dimethoat) kontaminierte Jungbienen in einem Temperaturgradienten eine andere Vorzugstemperatur wählen als unbehandelte Kontrollen.

¹Gefördert durch das Österreichische Bundesministerium für Gesundheit und Umweltschutz (jetzt Umwelt, Jugend und Familie), wo besonderer Dank Herrn Dr. Walter Höfler gilt.

Material und Methoden

1 - 5 Tage alte Bienen (*Apis mellifera carnica* Pollm., Hymenoptera, Apidae) waren bei 34°C im Brutschrank geschlüpft. Nach einer ca. dreistündigen Hungerperiode (gemeinsam im Brutschrank gekräftigt) wurden sie einzeln in Eprovetten gegeben, die mit Kunststoffnetzen verschlossen waren. In die Eprovetten ragte eine Pipettenspitze, aus der die Bienen 5 µl reine oder mit Roxion-S kontaminierte 2 M Rohrzuckerlösung bzw. Honigwasser (Honig : Wasser = 2 : 1) trinken konnten. Die benötigten Wirkstoffkonzentrationen in der Futterlösung wurden durch Verdünnen von handelsüblicher Roxion-S-Spritzmittellösung (Celamerck, 400 g Dimethoat/1 l Roxion-S) hergestellt. Hatten sie die ganzen 5 µl getrunken, kamen sie in Gruppen von 3 - 7 Tieren in die Laufschienen von Temperaturorgeln.

Versuchsreihe A

1,5 m lange, wärmeisolierte Aluminiumschienen (2,6 cm breit, 1,6 cm tief) wurden an einem Ende mit Eiswasser gekühlt, am anderen Ende mit Hilfe eines thermostatisierten Wasserbades auf 80°C erhitzt. Nach einiger Zeit stellte sich in den Schienen ein stationäres Temperaturgefälle ein (vgl. HERAN 1952). Abgedeckt waren die Schienen mit Doppelfolien, die im Rotbereich eine Beobachtung der Bienen erlaubten, unter 600 nm aber mehr als 90% des einfallenden Lichtes absorbierten (SCHMARANZER & STABENTHEINER 1987). Da (im Rahmen anderer Versuche) auch die Körpertemperatur der Jungbienen in der Orgel telethermographisch gemessen werden sollte, waren die Schienen 40° zur Horizontalen geneigt (SCHMARANZER & STABENTHEINER 1986; STABENTHEINER & SCHMARANZER 1987).

Die Messung der Schientemperatur erfolgte mit Thermoelementen in Abständen von 20 cm. Zwischen den Meßstellen wurde linear interpoliert; das Temperaturgefälle betrug 0,2 - 0,3°C/cm. Die kältesten und wärmsten Schienenbereiche waren durch Netze abgesperrt, den Tieren stand also eine Laufganglänge von 90 cm zur Verfügung. 15 - 35 min nach dem Einsetzen in die Schienen (zwei Schienen mit kontaminierten Tieren und zwei mit Kontrollen) wurden in Abständen von 20 min die Positionen der ruhenden Bienen (im Mittel 1,5 Stunden lang) protokolliert. Saßen sie auf der Abdeckfolie, wurden sie bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Versuchszeit: August 1985.

Versuchsreihe B

Eine 60 cm lange, waagerechte und isolierte Eisenschiene (5,5 cm breit, 3,5 cm tief) ragte mit einem Ende in ein Eiswasserbad und mit dem anderen in ein Bad mit kochendem Wasser. Auf einer Seite wurde mit Thermometern in Abständen von 10 cm 2 - 7 mm über dem Schienenboden die Lufttemperatur gemessen. Zwischen den Thermometern wurde anhand von Eichkurven linear interpoliert. Das Gefälle der Lufttemperatur betrug im Mittel 0,9°C/cm. Der 45 cm lange Laufgang (wärmste und kälteste Schienenbereiche durch Drahtgitter abgesperrt) war mit Rotglas abgedeckt. Zehn Minuten nach dem Einsetzen (Kontrollen und Kontaminierte in getrennte Temperaturorgeln) wurden 30 min lang, in Abständen von 2 min, die Positionen der ruhenden Tiere protokolliert. Versuchszeit: Mai, Juni 1986.

Zwischen den Versuchen kamen die kontaminierten und unbehandelten Tiere bei beiden Versuchsreihen in getrennten Gruppen mit 2 M Saccharoselösung bzw. Honigwasser bei 34°C in einen Brutschrank. Nach 18 - 24 Stunden erfolgten weitere Messungen ohne neuerliche Kontamination.

Ergebnisse

Versuchsreihe A

Die Kontrollbienen stellten sich im Mittel auf Schienentemperaturen zwischen 40,7°C und 43,2°C ein. Die kontaminierten Jungbienen bevorzugten bei den meisten Messungen eher niedrigere Temperaturen als die jeweiligen Kontrollen (Abb. 1). Am deutlichsten war dies bei 50 ng Dimethoat (inkl. Formulierung)/Biene, gelöst in 2 M Saccharoselösung (8,5 ppm Gew/Gew) zu sehen (Abb. 1c). Bei der ersten Messung lag das Thermopräferendum der Vergifteten im Mittel um 1,9°C unter dem der Kontrollen; am nächsten Tag betrug der Unterschied bereits 4,9°C. Zum Vergleich: Die orale LD₀ von Flugbienen (älter als 20 Tage) für Roxion-S innerhalb 24 Stunden liegt nach eigenen Untersuchungen zwischen 55 - 70 ng Dimethoat/Biene (SCHMARANZER & STABENTHEINER 1987). Bei 33 ng und 10 ng Dimethoat/Biene (5,6 ppm bzw. 1,7 ppm Gew/Gew) konnten in dieser einen Versuchsreihe noch keine gesicherten Unterschiede festgestellt werden, doch könnte sich zumindest bei 33 ng eine Beeinflussung der vergifteten Tiere andeuten.

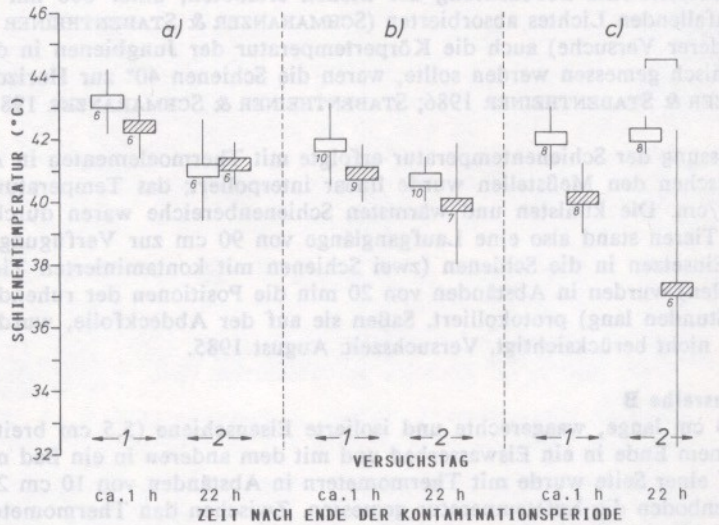


Abb. 1: Vorzugstemperaturen der Jungbienen, Versuchsreihe A. a) 10 ng (1,7 ppm Gew/Gew), b) 33 ng (5,6 ppm), c) 50 ng (8,5 ppm) Dimethoat (inkl. Formulierung)/5 µl 2 M Saccharoselösung und Biene. Leere Rechtecke: Mittelwerte der unbehandelten Kontrollen, schraffierte Rechtecke: Mittelwerte der mit Roxion-S kontaminierten Bienen, senkrechte Striche: Standardabweichung, eckige Klammer: gesicherter Kontaminationseffekt (P < 0,001, U-Test; vgl. Text), Zahlen: Anzahl beobachteter Bienen. Luftfeuchte im Labor: ca. 80%; Dauer der Kontaminationsperiode: 0,5 - 2 Stunden (bei 25 - 27°C).

Versuchsreihe B

Die unbehandelten Kontrollbienen hielten sich im Mittel bei Lufttemperaturen zwischen 33°C bis 35,6°C auf. Bei einem Vorversuch wurden jeder Biene 100 ng Dimethoat (inkl. Formulierung), gelöst in 2 M Saccharoselösung (16,9 ppm Gew/Gew), verabreicht. Am ersten Tag hatten die Kontaminierten und Kontrollen (je 5 Tiere) das gleiche Thermopräferendum (33°C). Am zweiten Tag (18 und 24 Stunden nach Kontaminationsende) wiesen die behandelten Bienen um ca. 5 °C niedrigere Vorzugstemperaturen auf. Auf Grund der hohen Ausfallrate wurde bei dieser Dosis (ca. orale LD₇₀ in 24 h, SCHMARANZER & STABENTHEINER 1987) auf weitere Versuche verzichtet.

Mit 50 ng Dimethoat (inkl. Formulierung)/Biene, gelöst in Honigwasser (8 ppm Gew/Gew) wurden zwei Versuche durchgeführt (Abb. 2, 3); beim ersten bevorzugten die kontaminierten Jungbienen immer niedrigere Temperaturen als die unbehandelten Kontrollen: 2,4°C 18 Stunden bzw. 3,8°C 24 Stunden nach Ende der Kontaminationsperiode (Abb. 2). Abb. 3 zeigt die Ergebnisse in Form von Häufigkeitsdiagrammen. Am 2. Versuchstag verschiebt sich der Höchstwert des Kontaminierten-Histogrammes zusehends zu niedrigeren Vorzugstemperaturen, am Nachmittag (24 h) des 2. Tages überschneiden sich bei diesem 1. Versuch die Histogramme von Kontrollen und vergifteten Bienen überhaupt nicht mehr.

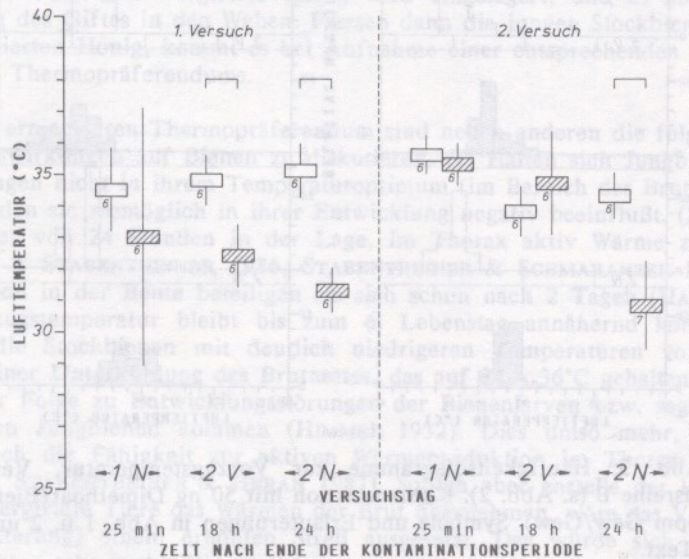


Abb. 2: Vorzugstemperaturen der Jungbienen, Versuchsreihe B. Kontamination mit 50 ng Dimethoat (inkl. Formulierung)/5 µl Honigwasser (2 : 1) und Biene (8 ppm Gew/Gew). 1N: 1. Versuchstag Nachmittag, 2 V (2 N): 2. Versuchstag Vormittag (Nachmittag), andere Symbole etc. wie in Abb. 1. Luftfeuchte im Labor: ca. 60 %; Dauer der Kontaminationsperiode: ca. 3 Stunden (bei 34°C).

Der zweite Versuch mit 50 ng Dimethoat/Biene (8 ppm) bestätigte den ersten (Abb. 2); mit Ausnahme der Messung nach 18 Stunden, wo sich die Kontaminierten bei etwas höheren Temperaturen einstellten als die Kontrollen. Der Histogramm-Maximalwert war hier allerdings für beide derselbe (Abb. 3). Am Nachmittag des 2. Versuchstages (nach 24 h) hatten die kontaminierten Bienen eine um 3,5°C niedrigere Vorzugstemperatur als die Kontrollen (Abb. 2). Auch die Histogramme überdecken sich hier nur wenig, die Maximalwerte sind deutlich getrennt (Abb. 3).

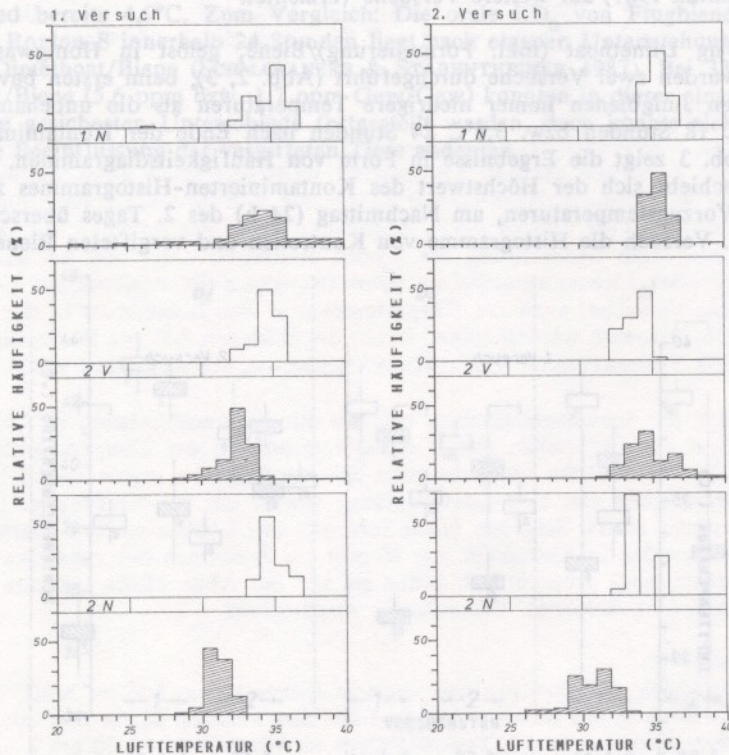


Abb. 3: Häufigkeitsdiagramme zur Vorzugstemperatur, Versuchsreihe B (s. Abb. 2). Kontamination mit 50 ng Dimethoat/Biene (8 ppm Gew/Gew). Symbole und Erläuterungen in Abb. 1 u. 2 und im Text.

Bei der Interpretation beider Versuchsreihen (A und B) wurde berücksichtigt, daß das Präferendum der Kontrollen Schwankungen unterworfen war, oft größer als die beobachteten Differenzen zwischen Kontrollen und Kontaminierten. Als vollkommen gesicherte Kontaminationseffekte wurden daher nur solche statistisch signifikanten Unterschiede ($P < 0,001$, U-Test) gewertet, bei denen die Differenz Kontrollen-Kontaminierte im Mittel größer war als der größte Mittelwertunterschied zwischen allen Kontrollen einer Versuchsreihe.

Diskussion

Obwohl die Jungbienen in den zwei Versuchsreihen (A und B) auf etwas unterschiedliche Weise getestet wurden, erhielten wir in beiden Fällen das gleiche Ergebnis: 1 - 5tägige Jungbienen wählten in einem Temperaturgradienten 18-24 Stunden nach nur einmaligem Füttern mit der subletalen Konzentration von 50 ng Dimethoat Aufenthaltsorte mit signifikant niedrigeren Temperaturen (Abb. 1 - 3). Das Wählen einer falschen Vorzugstemperatur könnte u.a. folgende Ursachen haben: (1) Periphere Rezeptoren (siehe LACHER 1964) detektieren die Umgebungstemperatur falsch (wichtige Rezeptoren für das thermotaktische Verhalten befinden sich auf den vordersten 5 Antennengliedern, HERAN 1952). (2) Das zentrale Nervensystem wird durch Roxion-S irritiert und es kommt zu einer falschen Bewertung der afferenten Signale bzw. zu einer Verstellung des Temperatursollwertes. Phosphorsäureester wie das Dimethoat scheinen vor allem die Übertragung an cholinergen Synapsen im ZNS zu beeinflussen (FIEDLER 1984; KUHR & DOROUGH 1976; s. a. BRANDES 1984 und dort zitierte Literatur). Eine zentralnervöse Beeinträchtigung (Sollwertverstellung ?) erscheint daher am wahrscheinlichsten. Zur Klärung dieser Fragen wären gezielte neurophysiologische Untersuchungen notwendig.

Es ist bekannt, daß Sammlerinnen oft in relativ kurzer Zeit erhebliche Dimethoatmengen in den Stock eintragen können (WALLER, BARKER & MARTIN 1979; SCHMARANZER & STABENTHEINER 1987). Der vergiftete Honig wird eingelagert, und es kommt zu einer Akkumulierung des Giftes in den Waben. Fressen dann die jungen Stockbienen mit Dimethoat kontaminierten Honig, kommt es bei Aufnahme einer entsprechenden Dosis zu einer Absenkung des Thermopräferendums.

Bei einem erniedrigten Thermopräferendum sind neben anderen die folgenden (hypothetischen) Auswirkungen auf Bienen zu diskutieren. (1) Halten sich Jungbienen in ihren ersten Lebenstagen nicht in ihrem Temperaturoptimum (im Bereich des Brutnestes, HERAN 1952) auf, werden sie womöglich in ihrer Entwicklung negativ beeinflusst. (2) Bienen sind bereits im Alter von 24 Stunden in der Lage, im Thorax aktiv Wärme zu produzieren (SCHMARANZER & STABENTHEINER 1986, STABENTHEINER & SCHMARANZER 1987). An der Thermoregulation in der Beute beteiligen sie sich schon nach 2 Tagen (HARRISON 1987), und ihre Vorzugstemperatur bleibt bis zum 6. Lebenstag annähernd konstant (HERAN 1952). Wenn die Stockbienen mit deutlich niedrigeren Temperaturen vorlieb nehmen, könnte es zu einer Unterkühlung des Brutnestes, das auf 34 - 36°C gehalten werden muß, und in weiterer Folge zu Entwicklungsstörungen der Bienenlarven bzw. sogar zu Mißbildungen bei den Jungbienen kommen (HIMMER 1932). Dies umso mehr, als Roxion-S (Dimethoat) auch die Fähigkeit zur aktiven Wärmeproduktion im Thorax beeinträchtigt (SCHMARANZER, STABENTHEINER & HERAN 1987). Sollten aber anstelle der kontaminierten andere, nicht vergiftete Tiere das Wärmen der Brut übernehmen, wäre das Volk (vor allem bei kühler Witterung) einem erhöhten Streß ausgesetzt. Das würde sich besonders bei schwachen Völkern sehr nachteilig auswirken.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Roxion-S (Dimethoat) nicht nur die Fähigkeit der Honigbiene zur aktiven Wärmeproduktion beeinträchtigt (SCHMARANZER, STABENTHEINER & HERAN 1987), sondern sich auch bezüglich der Vorzugstemperatur bei deutlich subletalen Dosen als äußerst giftiges Insektizid erwiesen hat. Eine weitere Verwendung von Roxion-S (Dimethoat) oder ähnlichen Präparaten auf Dimethoatbasis ist daher, von einem ökophysiologischen bzw. ökotoxikologischen Standpunkt aus betrachtet, in von Bienen beflogenen Gebieten abzulehnen.

Literatur

- BRANDES, Ch. (1984): Tanztempo, Zuckerverbrauch, Lauf-, Fluggeschwindigkeit und Flügelschlagfrequenz von *Apis mellifera carnica* nach subletaler Parathionvergiftung. - Zool. Jb. Physiol. 88: 345-359.
- FIEDLER, L. (1984): Insektizidrückstände im Nektar nach Vorblüte-Spritzungen mit den Wirkstoffen Acephat, Dimethoat, Methomyl, Phosalone und Propoxur und deren Auswirkungen auf Honigbienen. - Dissertation, Hohe Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn: 160 S.
- HARRISON, J. M. (1987): Roles of individual honeybee workers and drones in colonial thermogenesis. - J. exp. Biol. 129: 53-61.
- HERAN, H. (1952): Untersuchungen über den Temperatursinn der Honigbiene (*Apis mellifera*) unter besonderer Berücksichtigung der Wahrnehmung strahlender Wärme. - Z. vergl. Physiol. 34: 179-207.
- HESS, W. R. (1926): Temperaturregulierung im Bienenvolk. - Z. vergl. Physiol. 4: 465-487.
- HIMMER, A. (1932): Die Temperaturverhältnisse bei den sozialen Hymenopteren. - Biol. Rev. 7: 224-253.
- KUHR, R. J. & DOROUGH, H. W. (1976): Carbamate insecticides: chemistry, biochemistry and toxicology. - CRC-Press, Boca Raton Florida.
- LACHER, V. (1964): Elektrophysiologische Untersuchungen an einzelnen Rezeptoren für Geruch, Luftfeuchtigkeit und Temperatur auf den Antennen der Arbeitsbiene und der Drohne (*Apis mellifica* L.). - Z. vergl. Physiol. 48: 587-623.
- SCHMARANZER, S. & STABENTHEINER, A. (1986): Thermographic body temperature recording of young bees and hornets. - Thermology 2: 71-72.
- SCHMARANZER, S. & STABENTHEINER, A. (1987): Das Temperaturverhalten der Honigbiene (*Apis mellifera carnica*) bei verschiedenen Aktivitäten als Bioindikator für subletale Wirkungen verabreichter Pestizide. - Eigenverlag Inst. f. Zool. d. Univ. Graz: 191 S.
- SCHMARANZER, S., STABENTHEINER, A. & HERAN, H. (1987): Effect of Roxion-S (dimethoate) on the body temperature of the honey-bee. In: Eder, J. & Rembold, H. (eds.): Chemistry and biology of social insects. - Proceedings 10th int. Congress of the International Union for the Study of Social Insects IUSI, Verlag J. Peperny, München, S. 241.
- STABENTHEINER, A. & SCHMARANZER, S. (1987): Thermographic determination of body temperatures in honey bees and hornets: calibration and applications. - Thermology 2: 563-572.
- WALLER, G., BARKER, R. J. & MARTIN, J. H. (1979): Effects of dimethoate on honey bee foraging. - Chemosphere 7: 461-463.