

METODA PRO STANOVENÍ AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITY PRO VČELU MEDONOSNOU

Metoda C.16 podle přílohy směrnice 2001/59/ES



Metoda

- **Podstata metody:** Dospělé dělnice včely medonosné (*Apis mellifera*) se exponují řadě dávek zkoušené látky rozptýlené do cukerného roztoku. Včely jsou poté krmeny stejným roztokem neobsahujícím zkoušenou látku. Mortalita se zaznamenává denně během alespoň 48 hodin a porovnává se s kontrolními hodnotami.
- **Validita testu:**
 - Průměrná mortalita u všech kontrolních skupin nesmí na konci zkoušky překročit 10%.
 - LD50 pro referenční látku odpovídá předpokládané hodnotě.

Popis zkušební metody

- **Včelstvo:** mladé dospělé včely, dělnice téhož plemena a stáří, stejně krmené
- Vybírají se v den zkoušky, nebo večer před zkouškou a následně jsou drženy v podmínkách zkoušky.
- Chov probíhá v čistitelných a dobře větraných klíčkách, nasazují se skupiny po 10 včelách, teplota $25 \pm 2^\circ\text{C}$, vlhkost 50-70%
- Před začátkem zkoušky necháme včely 2 h hladovět, aby byly rovnocenné

Postup

- Požaduje se alespoň 5 zkušebních koncentrací tvořících geometrickou řadu a pokrývající rozsah LD50. Každá zkušební koncentrace se podá alespoň třem paralelním zkušebním skupinám o 10 včelách. Dále se nasazují 3 kontrolní skupiny a zkušební skupiny pro použité rozpouštědlo.
- **Podávání dávek:** každé zkušební skupině včel se podá 100-200 μ l 50% vodného cukerného roztoku obsahujícího zkoušenou látku. Po spotřebování potravy (3-4 hod) se odebere krmicí zařízení a nahradí se zařízením obsahujícím pouze cukerný roztok, který mohou přijímat dle libosti.
- **Délka zkoušky:** 48 hodin od okamžiku kdy byl zkušební roztok nahrazen samotným cukerným roztokem. Pokud mortalita v kontrole nepřekročí 10%, zkoušku můžeme prodloužit na 96 hodin.

Protokol o zkoušce

- Obsahuje informace o zkoušené látce (fyzikální a chemické vlastnosti), testovacím druhu (název, plemeno, stáří, zdravotní stav) a zkušebních podmínkách (teplota, vlhkost, velikost a materiál klíček, příprava roztoků, datum).
- **Výsledky:** popisujeme výsledky orientační zkoušky, mortalitu pro každou koncentraci v každém čase (graf), hodnoty LD50, metody pro jejich stanovení, mortalita v kontrolních skupinách, jiné účinky (neobvyklé chování, rychlost spotřebování potravy,...)

METODA PRO STANOVENÍ AKUTNÍ KONTAKTNÍ TOXICITY PRO VČELU MEDONOSNOU

Metoda C.17 podle přílohy směrnice 2001/59/ES



Metoda

- **Podstata metody:** Dospělé dělnice včely medonosné (*Apis mellifera*) se exponují řadě dávek zkoušené látky rozpuštěné ve vhodném nosiči přímou aplikací na hrudník jako kapičky. Délka trvá 48 hodin, max. 96 hodin.
- **Validita testu:**
 - Průměrná mortalita u všech kontrolních skupin nesmí na konci zkoušky překročit 10%
 - LD50 pro referenční standard odpovídá specifikovanému rozsahu

Popis zkušební metody

- **Včelstvo:** mladé dospělé včely, dělnice téhož plemena a stáří, stejně krmené
- Vybírají se v den zkoušky, nebo večer před zkouškou a následně jsou drženy v podmínkách zkoušky.
- Chov probíhá v čistitelných a dobře větraných klíčkách, nasazují se skupiny po 10 včelách, teplota $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, vlhkost 50-70%
- Včely mohou být za účelem aplikace zkušební látky narkotizovány CO_2 nebo dusíkem.
- Zkušební látka se aplikuje jako roztok v nosiči, tj. v organickém rozpouštědle (aceton, dimethylformamid, dimethylsulfoxid), nebo ve vodě se smáčedlem. Jako kontrolní roztoky se používají dvě samostatné kontrolní skupiny: roztok ve vodě a roztok s rozpouštědlem/nosičem.

Postup

- Požaduje se alespoň 5 zkušebních koncentrací tvořících geometrickou řadu a pokrývající rozsah LD50. Každá zkušební koncentrace se podá alespoň třem paralelním zkušebním skupinám o 10 včelách. Dále se nasazují 3 kontrolní skupiny a zkušební skupiny pro použité rozpouštědlo.
- **Podávání dávek:** u narkotizovaných včel se jednotlivě provede lokální aplikace. Objem 1 μ l roztoku obsahující zkušební látku ve vhodné koncentraci se aplikuje mikroaplikátorem na zádovou oblast hrudníku každé včely.
- **Délka zkoušky:** 48 Pokud mortalita v kontrole nepřekročí 10%, zkoušku můžeme prodloužit na 96 hodin.

Protokol o zkoušce

- Obsahuje informace o zkoušené látce (fyzikální a chemické vlastnosti), testovacím druhu (název, plemeno, stáří, zdravotní stav) a zkušebních podmínkách (teplota, vlhkost, velikost a materiál klíček, příprava roztoků, datum).
- **Výsledky:** popisujeme výsledky orientační zkoušky, mortalitu pro každou koncentraci v každém čase (graf), hodnoty LD50, metody pro jejich stanovení, mortalita v kontrolních skupinách, jiné účinky (neobvyklé chování, rychlost spotřebování potravy..)

