

Bestimmung kleiner Mengen Insektizide mit *Daphnia pulex* de Geer

Autor(en): **Kocher, C. / Roth, W. / Treboux, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Entomologique Suisse = Journal of the Swiss Entomological Society**

Band (Jahr): **26 (1953)**

Heft 1

PDF erstellt am: **25.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-401173>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Bestimmung kleiner Mengen Insektizide mit *Daphnia pulex* DE GEER

von

C. KOCHER, W. ROTH und J. TREBOUX

Forschungslaboratorien der J. R. GEIGY A. G., Basel

Auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes hat in den vergangenen Jahren eine Reihe synthetischer Insektizide Eingang gefunden. Diese Substanzen sind in manchen Fällen nicht nur für die zu bekämpfenden Insekten toxisch, sondern unter Umständen in mehr oder weniger hohen Dosen auch für Warmblüter schädlich. Es ist deshalb von grosser Bedeutung, Insektizide auch in kleinsten Mengen an und in pflanzlichen Nahrungsmitteln oder anderem Material zu bestimmen, bzw. deren Abwesenheit zu beweisen. In den meisten Fällen ist in Früchten, Gemüse usw. der Gehalt an Insektiziden so klein, dass er auf dem Wege der chemisch-analytischen Bestimmungsmethode nicht mehr mit Sicherheit erfasst werden kann. Man hat deshalb versucht, diese Insektizid-Spuren direkt mit Tieren nachzuweisen (Bio-Assay). Dabei stellte es sich heraus, dass mit gewissen Arthropoden wesentlich geringere Insektizidmengen pro Gewichtseinheit Pflanzenmaterial quantitativ nachgewiesen werden können als nach chemisch-analytischen Methoden.

Die bisher bekannt gewordenen Methoden bestehen im Prinzip aus der Anreicherung des Insektizids durch Extraktion des zu analysierenden Materials mit einem geeigneten Lösungsmittel, Eindampfen des Extraktes und Testen des Rückstandes, z. B. mit Fliegen auf einer Glasplatte oder mit Mückenlarven in wässriger Lösung. KAEMPFE (3) beschreibt in seiner Publikation, die im Verlaufe unserer Untersuchungen erschien, die Verwendung von Daphnien (ohne nähere Bezeichnung) zur Prüfung der Tiefenwirkung flüssiger Kontaktinsektizide.

Nach Abschluss des Manuskriptes ging uns die Arbeit von H. J. WASSERBURGER (4) über die Verwendung von *Daphnia magna* STRAUS zum Spurennachweis von DDT-Wirksubstanz, HCC und E-Wirkstoff zu. Es erfolgt kein quantitativer Nachweis. Es gelingt hingegen dem Verfasser, die drei genannten Insektizide nach unterschiedlichen Vergiftungsbildern bei Daphnien zu differenzieren.

FLOREY (1) untersuchte das Verhalten bestimmter Organe von Arthropoden u. a. bei *Daphnia* unter dem Einfluss verschiedener Pharmaca und Insektizide. Die *Daphnien* werden in diesen Veröffentlichungen nicht zur quantitativen Bestimmung von Insektiziden verwendet.

Das Ziel unserer Versuche zur Verbesserung der bekannten Bioassay-Methoden war, deren Genauigkeit zu erhöhen und auch Mengen unter 1 mg pro kg Pflanzenmaterial mit grösserer Präzision nachzuweisen, als es beispielsweise durch Testen mit Stubenfliegen möglich ist. Die Extraktion wird in Gegenwart von Natriumsulfat (2) in einem von der üblichen Form abweichenden Apparat vorgenommen. Die quantitative Bestimmung des Insektizids im Extrakt erfolgt in wässriger Lösung mit *Daphnia pulex* DE GEER¹ (Phyllopoden)² durch Vergleich mit einer Verdünnungsreihe eines Extraktes mit bekannter Menge des gleichen Insektizids.

1. Die Extraktionsmethode

Für die Extraktion des zu untersuchenden Materials wird der unten abgebildete Durchfluss-Extraktor verwendet. An Stelle der sonst üblichen Extraktionshülse aus Zellstoff tritt ein ca. 700 ml fassender Glas-



Extraktions-Apparate

zylinder mit durchlochtem Boden. Die Extraktoren, sowie alle anderen benötigten Glas- und Porzellanwaren werden vor ihrer Verwendung in eine 1%ige Lösung von Natriumbichromat in konz. Schwefelsäure eingelegt und anschliessend auf die übliche Weise gewaschen, um jede Spur von Insektiziden zu entfernen.

100 g Pflanzenmaterial werden, falls notwendig, vorher zerkleinert und mit 200–500 g wasserfreiem Natriumsulfat

¹ Die Tiere wurden freundlicherweise durch Herrn Prof. Dr. E. Handschin, Basel, bestimmt.

² Es wurde auch mit *Daphnia magna* STRAUS gearbeitet. Diese erwies sich als widerstandsfähiger als *Daphnia pulex* de Geer, obschon wahrscheinlich im Prinzip diese Form ebenfalls verwendet werden könnte.

in einer Porzellanschale zerrieben. Dadurch entsteht gegenüber dem Lösungsmittel eine grössere Oberfläche, welche einen guten Wirkungsgrad der Extraktion gewährleistet. Ausserdem wird das Wasser des Pflanzensaftes vom Natriumsulfat als Kristallwasser gebunden, so dass man praktisch wasserfreie Extrakte erhält. Durch diese Behandlung wird das Insektizid nicht beeinflusst. 100 g wasserfreies Natriumsulfat binden theoretisch 126 g Wasser als Kristallwasser. Es wird aber zweckmässig mit einem Überschuss gearbeitet, damit das zu extrahierende Gemisch pulvrig bleibt und vom Lösungsmittel besser durchflossen wird. Man beschickt den Extraktor mit 150 g wasserfreiem Natriumsulfat (im Bild als weisse Zone sichtbar) und füllt darauf das Gemisch mit dem Pflanzenmaterial ein. Durch den Kühler des komplett montierten Extraktors giesst man 450 ml Diäthyläther. Das Lösungsmittel vermag so aus dem Pflanzenmaterial/Natriumsulfat-Gemisch schon einen grossen Teil des Insektizids herauszulösen. Man extrahiert nun während 12 Stunden durch kräftiges Sieden des Äthers, wobei sich 95-98 % des Insektizids im Extrakt anreichern.

Der praktisch wasserfreie Ätherauszug wird mit 5 ml Äthanol versetzt, der Äther möglichst vollständig abdestilliert, der Rückstand mit Äthanol quantitativ in ein Messkölbchen von 20 ml Inhalt gespült und bis zur Marke aufgefüllt.

1 ml des Extraktes entspricht also 5 g Pflanzenmaterial. Die zum Testen verwendete Menge von 0,1 ml des alkoholischen Extraktes auf 100 ml Wasser darf nicht beliebig erhöht werden, da das Lösungsmittel in höheren Konzentrationen als 0,1 % bereits auf die Daphnien wirkt und damit den Test stört. Ausser diesem Auszug aus dem zu prüfenden Material benötigt man einen Vergleichsextrakt, der wie folgt gewonnen wird: Das gleiche, aber insektizidfreie Pflanzenmaterial wird mit einer bekannten Menge des Insektizids, z. B. in Form einer acetischen Lösung, bespritzt und dem genau gleichen Extraktionsgang wie das zu analysierende Gut unterworfen. Dieser « Vergleichsextrakt » muss mindestens die doppelte Menge des in der eigentlichen Analyse erwarteten Insektizids enthalten. Schliesslich wird unbehandeltes Pflanzenmaterial als solches auch wie oben beschrieben extrahiert und ergibt den « Kontrollextrakt ». Alle drei Auszüge sollen nebeneinander hergestellt werden und in einer Serie zum biologischen Test kommen, um Abweichungen, die durch verschiedene Lagerzeit oder Differenzen im Tiermaterial entstehen könnten, zu vermeiden. Die Lagerfähigkeit der Extrakte hängt vom Insektizid ab; bei empfindlichen Substanzen ist der Test unverzüglich durchzuführen.

2. Der biologische Nachweis

Wie eingangs erwähnt, beruht dieser auf einem Vergleich des zu bestimmenden Extraktes mit einer Verdünnungsreihe. Letztere wird durch Verdünnen des Vergleichsextraktes mit dem Kontrollextrakt

hergestellt und auf ppm (Teile pro Million) Insektizid im Pflanzenmaterial bezogen: 1 ppm d. h. 1 mg Insektizid pro 1 kg extrahiertes Material, oder 0,1 mg pro 100 g. Werden aus 100 g 20 ml Extrakt gewonnen, so entspricht also 0,1 mg darin enthaltenes Insektizid 1 ppm im Pflanzenmaterial. Die Verdünnungsreihe besteht beispielsweise aus Lösungen mit 10—0,1 ppm, d. h. mit 1—0,01 mg Insektizid in 20 ml.

Diese Lösungen enthalten alle gleichviel pflanzliche Extraktstoffe und unterscheiden sich nur im Gehalt an Insektizid. Der eventuelle Einfluss des Pflanzenmaterials auf das Insektizid oder auf die als Testtiere benutzten *Daphnia pulex* ist in allen Fällen gleich.

Für den biologischen Test werden Gefässe mit relativ grossem Durchmesser, z. B. Geleegläser mit je 100 ml Leitungswasser gefüllt, 0,1 ml des zu prüfenden bzw. der Vergleichsextrakte der Verdünnungsreihe zugegeben und schliesslich mittels Pipette je 20 Versuchstiere eingeführt. Diese Anzahl hat sich am zweckmässigsten erwiesen; mehr Daphnien lassen sich in einem Glase nicht gut überblicken. Um die Genauigkeit der Bestimmung zu erhöhen, kann die Untersuchung mehrfach durchgeführt werden. Die Temperatur der Lösungen, in welchen die Tests durchgeführt werden, muss gleich sein wie in der *Daphnia*-Zucht. In bestimmten Zeitabständen nach Versuchsbeginn zählt man die schwimmunfähigen Daphnien. Die Untersuchungsdauer kann auf wenige Stunden beschränkt werden, da der Exitus der Tiere nicht abgewartet werden muss. Das Stadium der Schwimmunfähigkeit der Daphnien ist deutlich erkennbar: die Tiere liegen auf dem Grund des Gefässes, wenn auch die Extremitäten noch lebhaft bewegt werden können und periodisch kurze hüpfende Bewegungen der Tiere noch möglich sind.

3. Beispiele für die Durchführung einiger Bestimmungen

a) Nachweis von Diazinon¹ in Blumenkohl

Blumenkohl wurde während des Wachstums mit einer Diazinon-Emulsion behandelt. Nach der Ernte sollte festgestellt werden, ob und wieviel Diazinon auf und im Blumenkohl nachweisbar ist. 200 g wurden, wie oben beschrieben, mit 400 g wasserfreiem Natriumsulfat zerrieben und extrahiert, wobei 20 ml alkoholische Lösung resultierten. Andererseits wurden 200 g unbehandelten, insektizidfreien Blumenkohls mit 2 mg Diazinon in Form der gleichen Emulsion behandelt und auf-

¹ Thiophosphorsäure-[2-isopropyl-4-methyl-pyrimidyl-(6)]-diäthylester.

GYSIN, H. *Un nouveau groupe de substances à activité insecticide.*

GASSER, R. *Expériences sur la lutte contre les araignées rouges avec de nouveaux acaricides.*

GROB, H. *Expériences sur la lutte contre les aphides avec de nouvelles substances à base d'uréthanes et d'esters phosphoriques.*

Vorträge am III^e Congrès international de Phytopharmacie, Paris, Sept. 1952.

gearbeitet wie der zu prüfende Blumenkohl (Vergleichsextrakt). Schliesslich wurde aus unbehandeltem Material ebenfalls nach obiger Methode der insektizidfreie Kontrollextrakt gewonnen. Nach Verdünnen des Vergleichsextraktes, der — bezogen auf den Blumenkohl — 10 ppm Diazinon enthält (d. h. 2 mg Diazinon in den 20 ml des Extraktes), mit dem Kontrollextrakt, wurde eine Verdünnungsreihe mit 10, 5, 2, 1, 0,5, 0,2 und 0,1 ppm erhalten. Die einzelnen Lösungen wurden mit *Daphnia pulex* getestet. Nach 30, 60, 90 und 240 Minuten wurde der prozentuale Anteil an schwimmunfähigen Tieren festgestellt. In der folgenden Tabelle sind die Werte der Verdünnungsreihe mit zwei Extrakten unbekannter Konzentration und mit dem Kontrollextrakt verglichen. Die unterste Zeile enthält die Mittel aus den 4 abgelesenen Prozentzahlen. Temperatur 25° C. Sämtliche Zahlen sind Mittelwerte aus zwei nebeneinander durchgeführten Versuchsreihen.

Nachweis von Diazinon in Blumenkohl

TABELLE I

Kontrollzeiten	Verdünnungsreihe aus Vergleichsextrakt plus Kontrollextrakt							Kontroll-extrakt	Extrakte mit unbekanntem Diazinongehalt	
	Gehalt an Diazinon bezogen auf Blumenkohl								Nummer	
	ppm									
Minuten	10	5	2	1	0,5	0,2	0,1	294	295	
30	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	53	35	13	5	3	0	0	0	0	15
90	93	63	20	10	5	5	0	0	5	25
240	100	100	100	90	50	30	20	15	5	42
Σ % Mittel	63	50	33	26	14	9	5	3	2	21

Nach graphischer Auswertung mit Hilfe des Wahrscheinlichkeitsnetzes kann über die beiden Blumenkohlmuster folgendes ausgesagt werden: Nr. 294 enthält kein Diazinon; Nr. 295 enthält 0,7 ppm Diazinon.

b) Nachweis von Isolan¹ in Pfirsichen

Einige Pfirsichbäume wurden mit einer Isolan enthaltenden Spritzbrühe behandelt. Nach der Ernte sollte festgestellt werden, wieviel Isolan auf und in den Pfirsichen nachweisbar ist. Die Früchte wurden wie im vorherigen Beispiel aufgearbeitet, sowie eine Verdünnungsreihe hergestellt. Der Test mit *Daphnia pulex* wurde bei 15° C durchgeführt.

¹ 1-Isopropyl-3-methyl-pyrazolyl-(5)-dimethylcarbammat. *loc. cit.*

Nachweis von Isolan in Pfirsichen

TABELLE 2

Kontrollzeiten	Verdünnungsreihe aus Vergleichsextrakt plus Kontrolleextrakt						Kontroll extrakt	Extrakt mit unbekanntem Isolangehalt
	Gehalt an Isolan bezogen auf Pfirsiche							
	ppm							
Minuten	10	5	2	1	0,5	0,1		Nr. 290
30	15	3	0	0	0	0	0	0
60	73	50	8	0	0	2	0	0
90	100	68	33	10	2	2	0	0
120	100	95	60	23	10	5	10	10
180	100	100	90	58	40	22	15	80
Σ % Mittel	78	63	38	18	10	6	5	18

Die graphische Auswertung ergibt, dass die geprüften Pfirsiche 1 ppm Isolan enthalten.

c) *Nachweis von 0,0-Diäthyl-äthyl-mercaptoäthyl-thiophosphorsäureester in Blumenkohl*

Verarbeitung, Extraktion und Herstellung der Vergleichslösungen wurden wie in Beispiel a) durchgeführt. Der biologische Test wurde mit *Daphnia pulex* bei 14° C vorgenommen.

TABELLE 3

Kontrollzeiten	Verdünnungsreihe aus Vergleichsextrakt plus Kontrolleextrakt							Kontroll extrakt	Extrakte mit unbekanntem Insektizidgehalt			
	Gehalt an Insektizid bezogen auf Blumenkohl											
	ppm											
Minuten	20	10	5	2	1	0,5	0,1		372	373	374	375
60	55	25	22	25	15	15	5	12	7	0	10	15
120	100	70	47	45	35	20	22	12	20	17	20	30
300	100	100	95	85	75	55	45	35	28	42	60	75
420	100	100	100	100	95	87	80	70	52	82	78	97
Σ % Mittel	89	74	66	63	55	45	38	32	27	35	42	54

Dieses Beispiel zeigt, dass auch bei relativ hoher Eigentoxizität des Kontrolleextraktes eine Auswertung gut möglich ist.

Nr. 372 ist insektizidfrei. Nr. 373 enthält höchstens Mengen unter 0,1 ppm; Nr. 374 enthält 0,2 ppm; Nr. 375 enthält 1 ppm 0,0-Diäthyl-äthyl-mercaptoäthyl-thiophosphorsäureester.

d) *Nachweis von Parathion in Kirschen*

Eine Anzahl Kirschbäume der Sorte Rosmarie wurde mit einer Parathion-Emulsion behandelt; die Kirschen wurden in verschiedenen Stadien der Reife verarbeitet und extrahiert. Der *Daphnia*-Test wurde bei 15° C durchgeführt.

TABELLE 4

Kontroll- zeiten	Verdünnungsreihe aus Vergleichsextrakt plus Kontrollextrakt							Kontroll- extrakt	Extrakte mit unbekanntem Parathiongehalt		
	Gehalt an Parathion bezogen auf Kirschen								Nummer		
	ppm								343	345	349
Minuten	10	5	2	1	0,5	0,1	0,05				
60	55	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120	100	95	40	20	10	0	0	0	25	0	0
240	100	100	100	100	100	17	10	5	100	12	2
480	100	100	100	100	100	85	75	50	100	62	12
Σ % Mittel	89	80	60	55	52	25	21	14	56	19	3

Die graphische Auswertung ergibt: Nr. 343 enthält 1 ppm Parathion; Nr. 345 enthält weniger als 0,1 ppm Parathion; Nr. 349 ist insektizidfrei.

e) *Nachweis von Dichlordiphenyltrichloräthan*

Aus zahlreichen Versuchen geht hervor, dass dieses Insektizid erst in relativ hohen Konzentrationen und bei längerer Einwirkungsdauer bei *Daphnia pulex* sichtbare Reaktionen auslöst. Dasselbe gilt für Chlordan, Dieldrin, Aldrin und Hexachlorcyclohexan. Zur Illustration diene folgendes Beispiel: Insektizidfreie reife Kirschen wurden mit einer Lösung von Dichlordiphenyltrichloräthan in Aceton behandelt, so dass sie 250 ppm des Insektizids enthielten, und — nachdem der Belag eingetrocknet war — wie üblich verarbeitet und extrahiert. Aus diesem Extrakt wurde durch Zusatz eines Kontrollextraktes wie üblich eine Verdünnungsreihe hergestellt und mit *Daphnia pulex* bei 17° C getestet.

Aus den Zahlen der Tabelle geht deutlich hervor, dass *Daphnia pulex* gegenüber Dichlordiphenyltrichloräthan bedeutend weniger empfindlich ist als gegen die weiter oben angeführten Insektizide. Auf Grund dieser Tatsache lässt sich — wie aus folgendem Beispiel (f) ersichtlich ist — Parathion neben Dichlordiphenyltrichloräthan bestimmen.

TABELLE 5

Kontrollzeiten	Verdünnungsreihe aus Vergleichsextrakt plus Kontrolleextrakt				Kontrolleextrakt
	Gehalt an Dichlordiphenyltrichloräthan bezogen auf Kirschen				
	ppm				
Minuten	100	50	20	2	
30	90	0	0	0	0
60	100	75	0	0	0
180	100	100	90	0	0
300	100	100	100	45	0
Σ % Mittel	98	69	48	11	0

f) *Nachweis von Parathion in Gegenwart von Dichlordiphenyltrichloräthan in Kirschen*

Unter Verwendung von reifen insektizidfreien Kirschen der Sorte Rosmarie wurden nach den bereits beschriebenen Methoden folgende Extrakte hergestellt :

1. Nr. 258 : Die Kirschen wurden vor der Verarbeitung und Extraktion mit 50 ppm Parathion behandelt.
2. Nr. 259 : Den Kirschen wurden in der gleichen Weise 50 ppm Parathion und 250 ppm Dichlordiphenyltrichloräthan zugesetzt, worauf sie verarbeitet und extrahiert wurden.
3. Kontrolleextrakt durch Verarbeitung und Extraktion insektizidfreier Kirschen.

TABELLE 6

Kontrollzeiten	Verdünnungsreihe aus Nr. 258 plus Kontrolleextrakt						Verdünnungsreihe aus Nr. 259 plus Kontrolleextrakt						Kontrolleextrakt
	Gehalt an Parathion bezogen auf Kirschen						Gehalt an Parathion neben 5-facher Menge an Dichlordiphenyltrichloräthan bezogen auf Kirschen						
	ppm						ppm						
Min.	25	10	3	1	0,3	0,1	25	10	3	1	0,3	0,1	
15	80	25	0	0	0	0	65	0	0	0	0	0	0
30	100	80	30	0	0	0	100	85	0	0	0	0	0
60	100	100	95	45	10	0	100	100	85	20	0	0	0
120	100	100	100	100	90	45	100	100	100	100	85	50	0
Σ % Mittel	95	76	56	36	25	11	91	71	46	30	21	12	0

Durch Verdünnen der Extrakte 1 und 2 mit dem Kontrolleextrakt wurden zwei Verdünnungsreihen erhalten und mit *Daphnia pulex* bei 19° C getestet. Aus der vorstehenden Tabelle ist ersichtlich, dass Dichlordiphenyltrichloräthan in den geprüften Konzentrationen wegen seiner bedeutend geringeren Wirkungsgeschwindigkeit auf Daphnien keinen Einfluss auf die Bestimmung von Parathion hat.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Bestimmung kleiner Insektizidmengen in Pflanzenmaterial beschrieben. Die wesentlichen Merkmale sind :

1. Das Pflanzenmaterial wird mit wasserfreiem Natriumsulfat zerrieben, wodurch bei der nachfolgenden Extraktion gegenüber dem Lösungsmittel eine grössere Oberfläche entsteht und ein praktisch wasserfreier Extrakt erhalten wird.
2. Es wird ein spezieller Durchfluss-Extraktor verwendet, der es ermöglicht, grössere Mengen Pflanzenmaterial zu verarbeiten.
3. Als Extraktionsmittel wird Diäthyläther verwendet. Nachdem dieser aus dem Extrakt abdestilliert ist, wird der Rückstand im Äthanol aufgenommen.
4. Diese Lösung wird in wässriger Verdünnung mit *Daphnia pulex* DE GEER getestet, wobei der prozentuale Anteil an nicht schwimmfähigen Tieren als Mass für die insektizide Wirkung dient.
5. Durch Vergleich mit Extrakten, die bekannte Mengen des gleichen Insektizids enthalten, wird der Gehalt im zu prüfenden Material ermittelt.
6. Wenn bei zwei Insektiziden in der Wirkung auf *Daphnia pulex* genügend grosse Unterschiede bestehen, lässt sich die aktivere der beiden Verbindungen bestimmen, ohne dass die Zahlenwerte durch die weniger wirksame beeinflusst werden.

LITERATUR

1. FLOREY, E. *Neurohormone und Pharmakologie der Arthropoden*. Pflanzenschutzberichte. Bd. VII, Sept. 1951.
2. JONES, L. R. *Separation of Organic Insecticides from Plant and Animal Tissues*. Anal. Chem., Vol. 24, 569, 1952.
3. KAEMPFE, L. *Ein Daphnientest zur Prüfung der Tiefenwirkung flüssiger Kontaktinsektizide*. Anzeiger für Schädlingskunde, Bd. 24, 179-180, 1951.
4. WASSERBURGER, H. J. *Daphnia magna als Testtier zum Nachweis von Kontaktinsektizid-Spuren*. Die Pharmazie, Heft VII, 1952.