

**Kombinationswirkung der beiden Pflanzenschutzmittel  
Karate<sup>®</sup> Zeon und Callisto<sup>®</sup> in  
aquatischen Modellökosystemen**

Inauguraldissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften im  
Fachbereich Geowissenschaften der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

**Rabea Christmann**

Dekan: Prof. Dr. Hans Kerp

Erster Gutachter: Prof. Dr. Klaus Peter Ebke

Zweiter Gutachter Prof. Dr. Dr. Wilfried Huber

Dritter Gutachter Prof. Dr. Hermann Mattes

Tag der mündlichen Prüfung: 05. Februar 2014

Tag der Promotion: \_\_\_\_\_

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Zusammenfassung</b> .....	III
<b>Abstract</b> .....	V
<b>1 Einleitung</b> .....	1
1.1 Pflanzenschutzmittel-Zulassung.....	2
1.2 Problematik Mischungstoxizität.....	4
1.3 Testsubstanzen.....	7
1.3.1 Insektizid – Karate® Zeon.....	7
1.3.2 Herbizid – Callisto®.....	10
1.4 Zielsetzung.....	12
<b>2 Material und Methoden</b> .....	14
2.1 Versuchsdesign.....	14
2.1.1 Testsysteme.....	14
2.1.2 Applikation der Testsubstanzen.....	17
2.2 Analytik.....	20
2.3 Erhebung der ökologischen Daten.....	21
2.3.1 Probennahme.....	21
2.3.2 Entnahme der Wassersäulen.....	23
2.3.3 Physikalische Parameter.....	24
2.3.4 Chemische Parameter.....	24
2.3.5 Biologische Parameter.....	25
2.4 Aufbereitung der Daten.....	28
2.5 Statistische Auswertung.....	28
2.5.1 Mittelwerte.....	28
2.5.2 Datentransformation.....	28
2.5.3 Univariate Statistik.....	29
2.5.4 Multivariate Statistik.....	32
2.5.5 Effektbeurteilung.....	35
2.5.6 Ableitung einer Regulatory Acceptable Concentration (RAC).....	36
<b>3 Ergebnisse</b> .....	38
3.1 Mesokosmos I – Einzelbelastung Karate® Zeon.....	38
3.1.1 Wasserqualität (physikalische und chemische Parameter) (I).....	38
3.1.2 Makroinvertebraten (I).....	38
3.1.3 Zooplankton (I).....	53

3.2	Mesokosmos II – Kombinationsbelastung bei zeitgleicher Applikation.....	69
3.2.1	Analytik (II).....	69
3.2.2	Physikalische Parameter (II) .....	70
3.2.3	Chemische Parameter (II).....	77
3.2.4	Makroinvertebraten (II).....	80
3.2.5	Zooplankton (II) .....	97
3.2.6	Makrophyten (II) .....	110
3.2.7	Phytoplankton (II) .....	111
3.3	Mesokosmos III – Kombinationsbelastung bei versetzter Applikation.....	122
3.3.1	Physikalische Parameter (III) .....	122
3.3.2	Chemische Parameter (III) .....	130
3.3.3	Makroinvertebraten (III) .....	135
3.3.4	Zooplankton (III).....	150
3.4	Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse .....	171
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	174
4.1	Mesokosmos I – Einzelbelastung Karate <sup>®</sup> Zeon .....	174
4.1.1	Bewertung der Ergebnisse (I).....	174
4.1.2	Risikomanagement (I) .....	180
4.2	Mesokosmos II – Kombinationsbelastung bei zeitgleicher Applikation.....	181
4.2.1	Bewertung der Ergebnisse (II) .....	181
4.2.2	Risikomanagement (II).....	189
4.3	Mesokosmos III – Kombinationsbelastung bei versetzter Applikation.....	190
4.3.1	Bewertung der Ergebnisse (III) .....	190
4.3.2	Risikomanagement (III) .....	194
4.4	Extrapolation der Effekte der Einzelsubstanzen auf Kombinationseffekte .....	196
4.5	zeitgleiche vs. versetzte Kombinationsbelastung.....	198
<b>5</b>	<b>Fazit</b> .....	200
	Danksagung.....	202
	Quellen .....	203

## ZUSAMMENFASSUNG

Bis heute liegt das Augenmerk der aquatischen Risikobewertung von Pflanzenschutzmitteln (PSM) auf der Evaluierung und Regulierung einzelner aktiver Substanzen (*VAN DEN BRINK ET AL. 2009, KUNZ ET AL. 2011, BACKHAUS & FAUST 2012*). Verbindliche Richtlinien für die Regulatorik von PSM fehlen bislang, obgleich Organismen betroffener aquatischer Ökosysteme gegenüber einer Vielzahl unterschiedlicher, potentiell toxischer Stoffe exponiert sind. Dieser Diskrepanz widmet sich die vorliegende Studie. Insbesondere soll die experimentelle Arbeit klären, inwieweit sich aus der Kenntnis der Toxizität einzelner PSM Aussagen über die Kombinationswirkung der Substanzen einer PSM-Mischung treffen lassen. Ein weiterer Aspekt der Arbeit zur Kombinationswirkung von PSM liegt im Vergleich einer zeitgleichen gegenüber einer zeitlich versetzten Applikation einer binären PSM-Mischung.

Im Fokus der Studie stehen das Pyrethroidinsektizid Karate® Zeon (Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin) und das Bleichherbizid Callisto® (Wirkstoff Mesotrione). Beide Produkte finden ihre Anwendung unter anderem im Bereich des Maisanbaus, so dass sie sowohl zeitgleich auf benachbarten Feldern als auch zeitversetzt auf gleichen Ackerflächen in der Umwelt ausgebracht werden.

Um das Risikopotential der Mischung dieser PSM auf ein aquatisches Ökosystem abschätzen zu können, wurden drei Freilandmesokosmenstudien durchgeführt:

Die Einzeltoxizität des Insektizids wurde zunächst zwischen 1 ng active ingredient (a.i.)/L – 1000 ng a.i./L Karate® Zeon getestet (Mesokosmos I).

Die Kombinationswirkung beider PSM erfolgte in zwei Anwendungsszenarien: in Form einer zeitgleichen Applikation beider Mittel einerseits (Mesokosmos II) und einer zeitlich versetzten Applikation des Herbizids Callisto® 21 Tage nach Applikation des Insektizids (Mesokosmos III) andererseits. Die Applikation des Insektizids Karate® Zeon erfolgte in 10, 50, 75 (nur Mesokosmos III), 100 und 250 ng a.i./L. In diese belasteten Kompartimente wurde jeweils zusätzlich eine Herbizid-Konzentration von 50 µg a.i./L Callisto® appliziert. Sowohl abiotische (physikalisch-chemische Parameter) als auch biologische (Makroinvertebraten, Zooplankton, Makrophyten, Phytoplankton) Parameter wurden innerhalb der Mesokosmenstudien erfasst.

Die Ergebnisse der Studien zeigen, dass die Übertragung der Einzeltoxizität der beiden PSM auf die Toxizität der PSM-Mischung nur bedingt möglich ist. Während sich die

Auswirkungen auf die sensitivsten Organismen und Gesellschaftsgruppen sehr gut und die darauf folgenden indirekten Effekte weitestgehend vorhersagen lassen, ist eine Aussage über Effektstärken und Erholungspotential betroffener Taxa nur unzureichend möglich. Insbesondere das Ausmaß der Effekte der beiden Applikationsszenarien zur Kombinationswirkung unterscheidet sich für den empfindlichsten Organismus *Chaoborus crystallinus* erheblich. Während bei zeitlich versetzter Applikation der beiden PSM bis zu einer Konzentrationsmischung von 100 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto® spätestens nach 56 Tagen eine vollständige Erholung eingetreten ist, lässt sich bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM nur in den Kompartimenten der niedrigsten Belastungsstufe mit 10 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto® ab Tag 85 eine Erholung der Chaoborus-Population verzeichnen. In der zukünftigen Forschung sollte diesem Umstand eine größere Bedeutung beigemessen werden. Das aktuelle Risikomanagement zur Einschätzung des Gefährdungspotentials einzelner PSM zeigt sich für eine Mischung der beiden PSM Karate® Zeon und Callisto® bei zeitlich versetzter Applikation in Bezug auf die Insektizidkomponente als ausreichend (Regulatory Acceptable Concentration,  $RAC_{\text{Insektizid}} = 50 \text{ ng a.i./L Karate}^{\circledR} \text{ Zeon}$ ). Bei einer zeitgleichen Ausbringung der beiden PSM muss hingegen mit erheblichen Einschränkungen von Struktur und Funktion der betroffenen aquatischen Ökosysteme gerechnet werden (No Observed Effect Concentration,  $NOEC \leq 10 \text{ ng a.i./L Karate}^{\circledR} \text{ Zeon} + 50 \text{ µg a.i./L Callisto}^{\circledR}$ ). Die Applikationsmenge von 50 µg a.i./L Callisto® verursacht sowohl in Einzeltoxizitätsstudien (CEDERGREEN & STREIBIG 2005, PETERS IN PREP.) als auch innerhalb beider Kombinationsstudien (Mesokosmos II und III) langanhaltende Effekte auf die Makrophytengesellschaft, so dass eine aus regulatorischer Sicht akzeptable Konzentration (RAC) aus den vorliegenden Mesokosmenstudien nicht abzuleiten ist.

## ABSTRACT

To date, the aquatic risk assessment of plant protection products (PPPs) focuses on the evaluation and regulation of individual active substances (VAN DEN BRINK ET AL. 2009, KUNZ ET AL. 2011, BACKHAUS & FAUST 2012). Guidelines for the regulation of pesticide-mixtures are still lacking, despite the fact that organisms in aquatic ecosystems are affected by several potentially toxic substances. This study is dedicated to this discrepancy. In particular, the aim of the experimental work is to clarify in which cases it is possible to transfer the knowledge of the toxicity of individual PPPs to the toxicity of pesticide mixtures. Another aspect of the study on pesticide mixtures is to compare a simultaneous application against a time-shifted application of two different PPPs.

The study focuses on the pyrethroid insecticide Karate® Zeon (active ingredient Lambda-Cyhalothrin) and the bleaching herbicide Callisto® (active ingredient Mesotrione). Both products are used in the production of maize, thus they are spread in nearby fields at the same time or can become available on arable land in the same environment.

To estimate the potential risk of the binary mixture of these PPPs on an aquatic ecosystem, three outdoor mesocosm studies were performed. The individual toxicity of the insecticide was initially tested between 1 ng a.i./L – 1000 ng a.i./L Karate® Zeon (mesocosm I). The combined effect of both PPPs was examined in two application scenarios: a simultaneous application of both substances (mesocosm II) on the one hand and a time-shifted application of the herbicide Callisto® 21 days after the application of the insecticide (mesocosm III) on the other. The insecticide Karate® Zeon was applied in 10, 50, 75 (only mesocosm III), 100 and 250 ng a.i./L doses. The herbicide Callisto® was additionally applied in a 50 µg a.i./L dose. Both, abiotic (physical-chemical parameters) and biological (macro-invertebrates, zooplankton, macrophytes, phytoplankton) parameters were assessed in the studies.

The results indicated that the derivation from the individual toxicity of the PPPs to the toxicity of the PPP-mixture was limited. While the most direct and indirect effects could be determined well, the prediction of the effect degrees and the recovery potential of affected species is not sufficient. In particular, effects on the most sensitive species *Chaoborus crystallinus* differed extremely in the two mixture toxicity application scenarios (mesocosm II and III). Recovery could be observed after 56 days in the time-shifted application scenario (mesocosm III) up to a concentration mixture from 100 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L

Callisto<sup>®</sup>, whereas recovery of the Chaoborus-population could only be observed in the lowest exposure level of 10 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon + 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup> from day 85 in the simultaneous application study (mesocosm II). Due to that fact, greater impact should be attached in future research to the differences between application scenarios. The current risk assessment for individual PPPs comprises of an application of Karate<sup>®</sup> Zeon and Callisto<sup>®</sup> at the same time (Regulatory Acceptable Concentration, RAC = 50 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon). However, a time-shifted application of these pesticides is expected to cause severe impact on the structure and function of affected aquatic ecosystems (No Observed Effect Concentration  $\leq$  10 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon + 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup>). The applied concentration of 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup> caused long-lasting effects on the macrophyte-communities in a single-dose toxicity study (*CEDERGREEN & STREIBIG 2005, PETERS IN PREP.*) as well as in the two combination studies (mesocosm II and III). Thus a regulatory acceptable concentration (RAC) cannot be derived from these mesocosm studies.



**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abb. 1: Stufenweiser Ansatz der aquatischen Risikobewertung von PSM-Wirkstoffen ..... 3

Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der Angriffspunkte der Pflanzenschutzmittel Karate® Zeon und Callisto®. .... 12

Abb. 3: Aufbau eines Mesokosmos..... 15

Abb. 4: Lage der Mesokosmen des Versuchsgutes Grünschwaige..... 17

Abb. 5: Aufbau der eingesetzten Kieskörbe..... 27

Abb. 6: PRC der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon..... 40

Abb. 7: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. .... 43

Abb. 8: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. .... 46

Abb. 9: Entwicklung der Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. .... 48

Abb. 10: Entwicklung der Abundanz der Chaoborus crystallinus-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..... 49

Abb. 11: Entwicklung der Abundanz der Cloeon dipterum-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..... 51

Abb. 12: PRC der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..... 55

Abb. 13: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Zooplanktontaxa in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. .... 58

Abb. 14: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..... 62

Abb. 15: Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. .... 63

Abb. 16: Entwicklung der Abundanz der Cyclopoida-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. .... 64

Abb. 17: Entwicklung der Abundanz der Calanoida-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon..... 65

Abb. 18: Entwicklung der Abundanz der Nauplia-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon..... 66

Abb. 19: Entwicklung der Abundanz der Daphnia longispina -Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..... 67

Abb. 20: Entwicklung der Polyarthra sp. –Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..... 68

Abb. 21: PRC der Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM... 70

Abb. 22: Entwicklung des Sauerstoffgehalts bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.. 73

Abb. 23: Entwicklung des pH-Wertes bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. .... 74

Abb. 24: Entwicklung der Leitfähigkeit bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ..... 75

Abb. 25: PRC der Chemischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM..... 77

Abb. 26: Box-and-Whisker-Plots der wasserchemischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der PSM. .... 79

Abb. 27: PRC der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM..... 82

Abb. 28: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	85
Abb. 29: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. ....	88
Abb. 30: Entwicklung der Gesamtabundanz der Makroinvertebratentaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	90
Abb. 31: Entwicklung der Chaoborus crystallinus-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. ....	91
Abb. 32: Entwicklung der Cloeon dipterum-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	93
Abb. 33: Entwicklung der Zygoptera-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	94
Abb. 34: Entwicklung der Planorbiden-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	96
Abb. 35: Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	98
Abb. 36: PRC der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ....	99
Abb. 37: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Zooplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	101
Abb. 38: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	104
Abb. 39: Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	105
Abb. 40: Entwicklung der Cyclopoida-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	106
Abb. 41: Entwicklung der Nauplia bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	108
Abb. 42: Entwicklung der Alona affinis-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	109
Abb. 43: PRC der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM	113
Abb. 44: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Phytoplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	115
Abb. 45: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. ....	117
Abb. 46: Entwicklung der Gesamtabundanz der Phytoplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	118
Abb. 47: Entwicklung der Cryptophyta-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	119
Abb. 48: Entwicklung der Cyanophyta-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	120
Abb. 49: Entwicklung der Heterokontophyta-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	121
Abb. 50: PRC der Physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM....	122
Abb. 51: Entwicklung des Sauerstoffgehalts bei versetzter Applikation der beiden PSM....	125
Abb. 52: Entwicklung des pH-Wertes bei versetzter Applikation der beiden PSM. ....	127
Abb. 53: Entwicklung der Leitfähigkeit bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	129
Abb. 54: PRC der Chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	130
Abb. 55: Box-and-Whisker-Plots der wasserchemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM. ....	133

Abb. 56: Entwicklung des Chlorophyll-Gehalts bei versetzter Applikation der beiden PSM.	134
Abb. 57: PRC der Makroinvertebratengesellschaft in der Kombinationsstudie bei versetzter Applikation der beiden PSM.	137
Abb. 58: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM.	139
Abb. 59: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM	143
Abb. 60: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM	144
Abb. 61: Entwicklung der Chaoborus crystallinus-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM	146
Abb. 62: Entwicklung der Cloeon dipterum-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM	148
Abb. 63: Entwicklung der Plea leachi-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM	149
Abb. 64: PRC der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.	152
Abb. 65: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Zooplanktontaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM	155
Abb. 66: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM	159
Abb. 67: Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktontaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM	160
Abb. 68: Entwicklung der Cyclopoida-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM	162
Abb. 69: Entwicklung der Calanoida-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM.	163
Abb. 70: Entwicklung der Nauplia bei versetzter Applikation der beiden PSM.	165
Abb. 71: Entwicklung der Daphnia longispina-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM	167
Abb. 72: Entwicklung der Keratella sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM	168
Abb. 73: Entwicklung der Polyarthra sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM.	170
Abb. 74: Darstellung der signifikanten Effekte der Mesokosmenstudien.	197

## TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Technische und Toxikologische Daten Karate® Zeon .....	8
Tab. 2: Technische und Toxikologische Daten Callisto® .....	10
Tab. 3: Technische Daten der Modellökosysteme .....	15
Tab. 4: Belastungsschema der Mesokosmenstudie I – Einzelbelastung .....	18
Tab. 5: Belastungsschema der Mesokosmenstudie II – zeitgleiche Applikation .....	19
Tab. 6: Belastungsschema der Mesokosmenstudie III – versetzte Applikation.....	19
Tab. 7a - c: Probennahmedaten der Mesokosmenstudien I, II und III. ....	22
Tab. 8: Übersicht der erfassten physikalischen, chemischen und biologischen Parameter der Mesokosmenstudien I, II und III. ....	23
Tab. 9: Liste der verwendeten Geräte für die Messung der physikalischen Parameter .....	24
Tab. 10: Verwendete Erfassungsmethoden und Nachweisgrenzen der chemischen Wasserparameter. ....	24
Tab. 11: Dominanzklassen nach Engelmann (1978).....	29
Tab. 12: Liste der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. ....	39
Tab. 13: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ..	41
Tab. 14: Species scores (< - 0,5 und > 0,5) der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. ....	41
Tab. 15: NEC-Analyse für die Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.....	42
Tab. 16: Dominanzverhältnisse innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon .....	44
Tab. 17: Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon. ....	53
Tab. 18: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon .....	56
Tab. 19: Species scores der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon .....	56
Tab. 20: NEC-Analyse für die Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon .....	57
Tab. 21: Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon .....	60
Tab. 22: Ergebnisse der Rückstandsanalytik der beiden PSM-Wirkstoffe. ....	69
Tab. 23: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	71
Tab. 24: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. ....	72
Tab. 25: Species scores der Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	72

Tab. 26: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Sauerstoffgehalt in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	73
Tab. 27: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den pH-Wert in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	74
Tab. 28: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Leitfähigkeit bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	76
Tab. 29: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Chemischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	78
Tab. 30: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Chemischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	78
Tab. 31: Species scores der Chemischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	79
Tab. 32: Liste der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der PSM.....	81
Tab. 33: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	83
Tab. 34: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	83
Tab. 35: Species scores der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. ....	84
Tab. 36: Dominanzverhältnisse innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der PSM.....	86
Tab. 37: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	90
Tab. 38: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Chaoborus crystallinus-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	91
Tab. 39: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Cloeon dipterum-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	93
Tab. 40: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Zygoptera-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	94
Tab. 41: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Planorbiden-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	96
Tab. 42: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	100
Tab. 43: Species scores (< - 0,5 und > 0,5) der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	100
Tab. 44: Dominanzverhältnisse innerhalb der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der PSM.....	102
Tab. 45: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	105
Tab. 46: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Cyclopoida-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	107

Tab. 47: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Nauplia-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	108
Tab. 48: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Alona affinis-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	109
Tab. 49: Liste der vorgefundenen Taxa der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	111
Tab. 50: Species scores der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.....	114
Tab. 51: Dominanzverhältnisse innerhalb der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der PSM.....	116
Tab. 52: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Stamm Cryptophyta bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM .....	119
Tab. 53: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	122
Tab. 54: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	124
Tab. 55: Species scores der Physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	124
Tab. 56: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Sauerstoffgehalt bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	126
Tab. 57: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den pH-Wert bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	128
Tab. 58: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Leitfähigkeit bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	130
Tab. 59: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	131
Tab. 60: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	132
Tab. 61: Species scores der Chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	132
Tab. 62: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Chlorophyll-Gehalt bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	134
Tab. 63: Liste der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	136
Tab. 64: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	137
Tab. 65: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	138
Tab. 66: Species scores der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM. ....	138
Tab. 67: Dominanzverhältnisse innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	140

Tab. 68: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	144
Tab. 69: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag Chaoborus crystallinus bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	146
Tab. 70: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für Cloeon dipterum bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	148
Tab. 71: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für Plea leachi bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	150
Tab. 72: Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM. ....	151
Tab. 73: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	152
Tab. 74: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	153
Tab. 75: Species scores der Zooplanktongesellschaft der Kombinationsstudie bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	154
Tab. 76: Dominanzverhältnisse innerhalb der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.....	157
Tab. 77: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	161
Tab. 78: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Cyclopoida-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	162
Tab. 79: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Calanoida-Population in bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	163
Tab. 80: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Nauplia-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	165
Tab. 81: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Daphnia longispina-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	167
Tab. 82: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Keratella sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	169
Tab. 83: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Polyarthra sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM .....	170
Tab. 84: Endpunkte und Bewertung der Mesokosmenstudie I .....	171
Tab. 85: Endpunkte und Bewertung der Mesokosmenstudie II.....	172
Tab. 86: Endpunkte und Bewertung der Mesokosmenstudie III.....	173





**ABKÜRZUNGEN**

Abb.	Abbildung	Kow	Oktanol-Wasser-Koeffizient
a.i.	active ingredient (Wirksubstanz)	LC <sub>x</sub>	Letal Concentration für x % der Arten
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung	MW	Mittelwert
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz	NEC	No Effect Concentration
bspw.	beispielsweise	NOEAEC	No Observed Environmental Adverse Effect Concentration
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit	NOEC	No Observed Effect Concentration
C	Callisto® (Herbizid)	PCA	Principal Component Analysis
CA	Concentration Addition	PEC	predicted environmental concentration
ca.	circa	PflSchG	Pflanzenschutzgesetz
cdt	erste cannonische Komponente der PRC	Pkt.	Punkt
cf.	confer (vergleiche), Taxa nicht eindeutig bestimmbar	PRC	Principal Response Curves
DT <sub>50</sub>	Halbwertszeit	PSM	Pflanzenschutzmittel
EB	Einzelbelastung	RAC	Regulatory Acceptable Concentration
EC <sub>x</sub>	effect concentration für x % der Arten	RDA	Redundancy Analysis
et al.	et alii/aliae/alia (und andere)	s.	siehe
EU	Europäische Union	spec.	species (ein Vertreter einer Gattung)
Fa.	Firma	spp.	species plures (mehrere Vertreter einer Gattung)
FOCUS	Forum for Coordination of Pesticide Fate Models and the Use	SYNOPS	Synoptischen Bewertung von Pflanzenschutzmitteln
Forts.	Fortsetzung	Tab.	Tabelle
HC <sub>x</sub>	Hazard Concentration für x % der Arten	TUM	Technische Universität München
HPPD	4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase	UBA	Umweltbundesamt
IA	Independent Action	UN	United Nations
i.d.R.	in der Regel	UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
in prep.	In Preperation	VB	versetzte Belastung
JKI	Julius Kühn Institut	vgl.	vergleiche
K	Kontrollen	vs.	versus
KaZ	Karate® Zeon (Insektizid)	ZB	zeitgleiche Belastung
		z. B.	zum Beispiel
		z. T.	zum Teil

- I            Mesokosmos I (Einzelbelastung)
- II           Mesokosmos II (zeitgleiche  
              Kombinationsbelastung)
- III          Mesokosmos III (versetzte  
              Kombinationsbelastung)

# 1 EINLEITUNG

Wasser, als eine der lebensnotwendigen Grundlagen, steht im Vordergrund vieler Bemühungen für einen nachhaltigen Umgang mit natürlichen Ressourcen einerseits, sowie einem ganzheitlichen Ökosystemschutz andererseits.

Für Binnengewässer stellen anthropogene Chemikalieneinträge ein hohes Gefährdungspotential in Form punktueller Einleitungen an Industriestandorten, sowie diffuser Einträge im landwirtschaftlichen Bereich dar. Im letztgenannten Fall handelt es sich vornehmlich um Pflanzenschutzmittel (PSM), welche zum Schutz von Nutzpflanzen und ihren Erzeugnissen vor Schadorganismen in der landwirtschaftlichen Lebensmittelproduktion ihre Anwendung finden. Ein Eintrag dieser in Oberflächengewässer erfolgt im Zuge ihrer großflächigen Anwendung durch Abdrift, Drainage und Run-off Ereignisse. Aufgrund ihrer aktiven Substanzen können sie dort eine Wirkung auf Nicht-Zielorganismen zeigen. Damit einhergehende Auswirkungen auf Struktur und Funktion dieser aquatischen Ökosysteme können nicht ausgeschlossen werden.

Unter dem Aspekt der wachsenden Weltbevölkerung – nach Angaben der *UNITED NATIONS (2009)* wächst die Weltbevölkerung bis 2050 auf 9.150 Millionen Menschen an – ist weiterhin von einem großflächigen Einsatz an chemischen PSM zur Steigerung und Sicherstellung des landwirtschaftlichen Ertrags auszugehen. Die Zahlen des Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (*BVL 2012*) belegen dies: Allein im Jahr 2011 wurden 691 zugelassene Pflanzenschutzmittel, welche aus 258 unterschiedlichen Wirkstoffen bestehen, verzeichnet. Auch der Trend zur Erschließung neuer Agrarflächen für den Anbau von Monokulturen (beispielsweise Mais) zur Speisung von Biogasanlagen lässt den großräumigen Einsatz von PSM, insbesondere von Herbiziden ansteigen. Die jährliche Absatzmenge an PSM verdeutlicht dies: Für das Jahr 2011 betrug sie 111.981 t, darunter unter anderem 53.898 t Herbizide, sowie 5.071 t Insektizide (*BVL 2012*).

Während der Einsatz von PSM auf der einen Seite von wirtschaftlichem und sozialem Nutzen ist, stellt er jedoch ein erhöhtes Risiko für aquatische Lebensgemeinschaften und Wasserqualität dar. Sowohl die steigenden Bevölkerungszahlen als auch der damit einhergehende Nahrungsmittelbedarf erfordern einen erhöhten Wasserkonsum, so dass der nachhaltige Umgang mit der Ressource Wasser auch unter diesem Aspekt von großer Bedeutung ist (*UNESCO 2012*).

Durch das in den letzten Jahren stetig gewachsene Bewusstsein der Verantwortung unserer Umwelt gegenüber, sind sich Gesellschaft und Politik einig, dass nachhaltige negative Auswirkungen auf Gewässersysteme und Trinkwasserressourcen in vielerlei Hinsicht nicht hinzunehmen sind. Nachhaltiges Ressourcenmanagement und die Erhaltung der Artenvielfalt, sowie der Schutz von natürlichen Ökosystemen sind zentrale Bestandteile gesellschaftspolitischer Diskussionen. So ist es ein allgemeines Bestreben die Risiken für unsere Umwelt mit Hilfe von Richtlinien und Verordnungen zur Anwendung von PSM auf ein vertretbares Maß zu reduzieren.

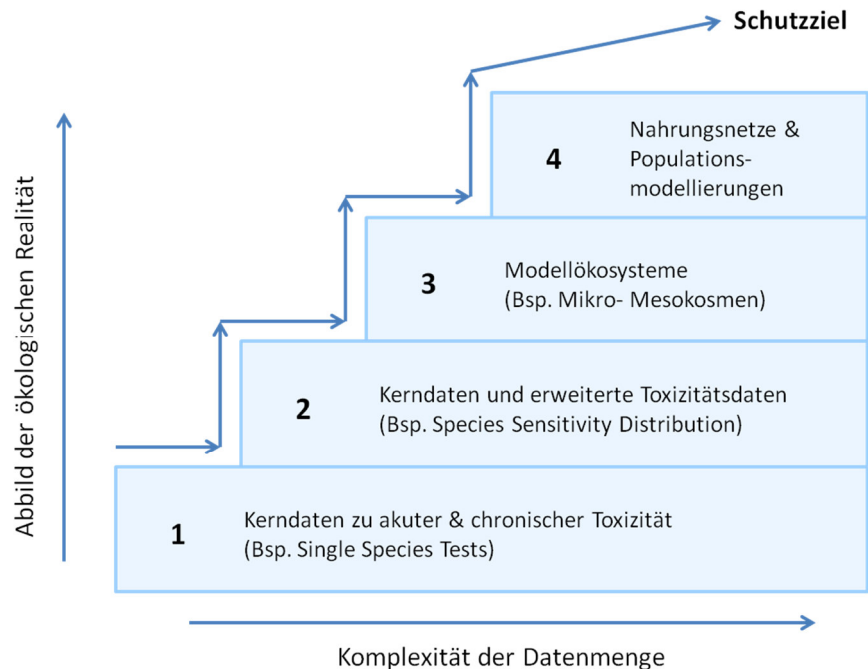
Ein weiterer Schritt in diese Richtung ist die Förderung und der Einsatz des integrativen Pflanzenschutzes, welcher spätestens ab 2014 für alle EU-Mitgliedstaaten verpflichtend sein wird (*BMELV 2011*). Mit Hilfe der Richtlinie 2009/128/EG vom 21.10.2009 über einen Aktionsrahmen der Gemeinschaft für die nachhaltige Verwendung von Pestiziden (PSM und Biozide) soll die bedarfsgerechte Anwendung chemischer sowie nicht-chemischer Pflanzenschutz-Maßnahmen vorangetrieben werden.

## **1.1 PFLANZENSCHUTZMITTEL-ZULASSUNG**

Grundlegende Vorschriften für die Anwendung und Vermarktung von PSM werden über das Pflanzenschutzgesetz (PflSchG) geregelt. Ihm unterliegt sowohl der Schutz von Pflanzenerzeugnissen, als auch der Schutz von Menschen, Tieren und Umwelt vor Gefahren, die aus der Verwendung von PSM resultieren können. Über die Zulassung eines PSM, welche in der Regel eine Gültigkeit von zehn Jahren besitzt, entscheidet innerhalb der Bundesrepublik Deutschland das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). Dieses steht in enger Zusammenarbeit mit dem Julius-Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen (JKI), dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) und dem Umweltbundesamt (UBA). Eine Zulassung für PSM kann nur erfolgen, sofern ihre zugrunde liegenden aktiven Wirkstoffe den Kriterien der Wirkstoffprüfung auf EU-Ebene standhalten und in einer sogenannten Positivliste aufgeführt sind. Diese gemeinschaftliche Wirkstoffprüfung unterliegt seit Juli 2011 der neuen europäischen Pflanzenschutzmittelordnung (Verordnung (EG) 1107/2009 vom 21.10.2009, ersetzt vormalige Richtlinie 91/414/EWG vom 15.07.1991) (*BVL 2013, PETZOLD 2008*).

Die aquatische Risikobewertung der PSM-Wirkstoffe erfolgt je nach Bedarf in mehreren Prüfstufen (Tiered-Approach, Abb. 1). In den ersten Bewertungsstufen (Lower-Tiers) werden

Basisdaten für jede Substanz in Form standardisierter Labortests mit sensitiven Organismen der bedeutsamsten trophischen Stufen (Primärproduzenten, Primär- und Sekundärkonsumenten) aquatischer Ökosysteme gewonnen (EU 2002).



**Abb. 1: Stufenweiser Ansatz der aquatischen Risikobewertung von PSM-Wirkstoffen (Tiered-Approach; 1, 2: Lower-Tier; 3, 4: Higher-Tier).** (verändert nach SOLOMON ET AL. 2008, BROCK ET AL. 2012, EFSA 2013)

Innerhalb dieser Lower-Tier-Studien werden sensitive Organismengruppen aufgedeckt, welchen in weiteren Teststufen (Higher-Tiers) ein besonderes Augenmerk bezüglich ihres Gefährdungspotentials gewidmet werden muss. Die konservativeren Lower-Tier Studien (BOESTEN ET AL. 2007) stellen damit ein probates Mittel dar um weiterführende Untersuchungen gezielt auf diejenigen Chemikalien zu fokussieren, welche in der Umwelt ein erhöhtes Risiko erwarten lassen. Higher-Tier Studien, welche aufgrund ihrer hohen Arbeitsintensität und ihres erheblichen Kostenaufwands für die Routinebewertung ungeeignet sind, kommen auf diese Weise nur zum Einsatz, wenn die vorangegangenen Standardtests eine potentielle Gefährdung anzeigen (EFSA 2010).

Mit Hilfe dieses Konzeptes ist eine grundlegende Beurteilung aller Wirkstoffe gesichert und darüber hinaus gewährleistet, dass alle notwendigen Daten für eine umfassende Umweltverträglichkeitsprüfung erhoben werden. Für das weitere Risikomanagement lassen

sich aus den resultierenden sensitiven Endpunkten der Studien<sup>1</sup> regulatorisch akzeptable Umweltkonzentrationen (RACs, Regulatory Acceptable Concentrations) für die zu schützenden Ökosysteme ableiten. Diese RACs entsprechen je nach Testverfahren direkt den sensitiven Endpunkten oder werden aus diesen durch die Verrechnung mit einem entsprechenden Sicherheitsfaktor ermittelt. Entscheidend für die Wahl eines Sicherheitsfaktors sind die generelle Qualität der Studien, die Präsenz sensibler Arten gegenüber der jeweiligen Testchemikalie, sowie die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Situation im Freiland (UBA 2012). So werden Higher-Tier-Studien, insbesondere Freilandstudien wie Mikro- und Mesokosmen, aufgrund ihrer umfangreichen, realitätsbezogenen Datenlage die höchste Aussagekraft zugesprochen, so dass für ihre resultierenden Endpunkte auf einen Sicherheitsfaktor verzichtet werden kann (siehe BROCK ET AL. 2012).

Im letzten Schritt der Risikobewertung eines PSM-Wirkstoffs erfolgt ein Vergleich der ermittelten RAC mit der zu erwartenden PSM-Konzentration (PEC<sup>2</sup>, Predicted Environmental Concentration). Ausschlaggebend für die Zulassung eines PSM ist der Quotient aus RAC und PEC. Liegt dieser Schwellenwert über 1, muss über die maximalen Aufwandmengen und Anwendungsbestimmungen gewährleistet werden, dass die RAC durch die Ausbringung der PSM in den angrenzenden Gewässern nicht überschritten wird.

## 1.2 PROBLEMATIK MISCHUNGSTOXIZITÄT

Bis heute liegt das Augenmerk der Risikobewertung von Pflanzenschutzmittel auf der Evaluierung und Regulierung einzelner aktiver Substanzen (VAN DEN BRINK ET AL. 2009, KUNZ ET AL. 2011, BACKHAUS & FAUST 2012). Verbindliche Richtlinien für die Regulatorik von Mischungen fehlen bislang, obgleich Organismen in der Realität einer Vielzahl heterogener, potentiell toxischer Stoffe innerhalb ihres Lebensraums ausgeliefert sind (FINIZIO ET AL. 2005, CHÈVRE & ESCHER 2006, BELDEN ET AL. 2007, RELYEA 2009, BANKE NOORGARD & CEDERGREEN 2010). So lassen sich Messungen in Fließgewässern der Vereinigten Staaten und Schweden zufolge in über 90% der untersuchten Fließgewässer  $\geq 2$  unterschiedliche PSM gleichzeitig nachweisen. In 20% der Fälle konnten Chemikalienmischungen mit 10 bis 22 Substanzen zur gleichen Zeit detektiert werden

---

<sup>1</sup> Bspw. EC<sub>x</sub> (effect concentration), LC<sub>x</sub> (lethal concentration) für Single Spezies Tests; HC<sub>x</sub> (hazardous concentration) für Species Sensitivity Distributions, NOECs (no observed concentrations) für Mikro- und Mesokosmenstudien.

<sup>2</sup> Berechnung mit Hilfe mathematischer Simulationsmodelle bspw. SYNOPS (Gutsche & Roßberg (1997)) oder FOCUS (1997).

(KOLPIN ET AL. 2002, GILLIOM 2007). Diese PSM-Cocktails gelangen entweder durch zeitgleiche Ausbringungen in Form von handelsüblichen Mischpräparaten, aufgrund zeitgleicher Anwendung auf benachbarten Flächen oder durch aufeinander folgende Belastung gleicher Flächen in aquatische Ökosysteme. Hier können sie auf vielfältige Weise interagieren. Insbesondere synergistische Wechselwirkungen, welche zu einer Verstärkung der Einzeltoxizität der Substanzen führen, stellen eine erhöhte Gefahr für die Struktur, Funktion und Leistung der betroffenen Ökosysteme dar. Angriffsflächen für synergistische Effekte bieten zum einen die Toxikokinetik der Wirkstoffe und zum anderen dynamische Prozesse auf biologischer Ebene. Werden beispielsweise Abbau, Absorption und Verteilung einer Substanz A durch eine Substanz B verlangsamt oder beeinträchtigt, steigt die Dauer der Bioverfügbarkeit für Substanz A innerhalb des Ökosystems. Toxische Effekte auf Organismengruppen, welche durch Substanz A angegriffen werden, treten auf diese Weise im Gegensatz zu einer einzelnen Belastung verstärkt auf. Typische Beispiele für direkte synergistische Effekte auf biologischer Ebene stellen Wechselwirkungen zwischen Chemikalien dar, deren Wirkstoffe die gleichen biologischen Targets angreifen oder eine ähnliche Wirkungsweise aufweisen (EFSA 2012).

Die angeführte Diskrepanz zwischen der derzeit isolierten Betrachtung der aktiven Substanzen auf der einen Seite und der Realität auf der anderen Seite stellt Behörden, Forschung und Industrie vor eine große Herausforderung (KUNZ ET AL. 2011). Die ökotoxikologische Analyse einzelner Substanzen ist der notwendige erste Schritt zum Verständnis von Kombinationseffekten. Sie ist jedoch bei Weitem nicht ausreichend für eine umfassende Risikoanalyse (BACKHAUS ET AL. 2000). Um die ökotoxikologische Bewertung von Chemikaliencocktails in der PSM-Zulassung zu etablieren, müssen somit Methoden entwickelt werden, welche die Kombinationswirkungen mit Hilfe gewonnener Daten aus den Standardlabortests der beteiligten einzelnen Substanzen abschätzen lassen. (VAN DEN BRINK ET AL. 2009).

Als Vorhersagemodelle für Kombinationswirkungen von Umweltchemikalien haben sich über die Jahre zwei Modelle bewährt: zum einen das Konzept der unabhängigen Wirkung für Substanzgemische mit unterschiedlicher Wirkung (IA, Independent Action, BLISS, 1939) und zum anderen das Konzept der additiven Wirkung (CA, Concentration Addition, LOEWE & MUISCHNEK, 1926) für Substanzgemische, welche eine ähnliche Wirkung aufweisen. Für realistische Gemische, welche weder strikt ähnlich noch strikt unähnlich in ihrer Wirkungsweise sind, wird die Verwendung des Konzeptes zur additiven Wirkung (CA) als

angemessenes „worst-case“-Szenario vorgeschlagen (KUNZ ET AL. 2011). Basierend auf der Dosis-Wirkungs-Beziehung der Einzelstoffe in einer Mischung kann mit Hilfe der entsprechenden Konzepte die erwartete Mischungstoxizität prognostiziert werden (ALTENBURGER ET AL. 2000, WALTER ET AL. 2002, FISCHER ET AL. 2010). Allerdings setzt die Anwendung die Kenntnis spezifischer Wirkmechanismen und eine umfangreiche Datenlage zur Toxizität der Einzelstoffe voraus. Obwohl einige Studien (BACKHAUS ET AL. 2000, FAUST ET AL. 2000 UND 2003, GRÜNWALD 2003, BELDEN ET AL. 2007) belegen, dass diese Modelle unter besagten Voraussetzungen gute Ergebnisse liefern, gilt dies vornehmlich für Chemikalienmischungen, welche ähnliche Wirkmechanismen aufweisen. Die derzeitige Datenlage im Bereich realitätsbezogener Chemikaliengemische, deren Substanzen unterschiedlicher chemischer und funktioneller Klassen entstammen, ist hingegen sehr rar. Ein zusätzlicher Aspekt, welcher bislang innerhalb experimenteller Forschungen weitestgehend keine Berücksichtigung findet, ist die zeitlich aufeinander folgende Exposition von Chemikalienmischungen (KORTENKAMP ET AL. 2009, VERBRUGGEN & VAN DEN BRINK 2010). Auch neueste Berechnungsprogramme, beispielsweise das „Perpest-Modell“ von VAN DEN BRINK ET AL. (2002B) zur Vorhersage des Risikopotentials von Chemikalienmischungen, sind nur auf Pflanzenschutzmittel gleicher funktioneller Substanzklassen (Herbizide, Insektizide, Fungizide) bei zeitgleicher Applikation ausgelegt (KORTENKAMP ET AL. 2009). Die Weiterentwicklung dieser Modelle mit dem Ziel einer zukünftigen Einbeziehung der Mischungsproblematik in das aquatische Risikomanagement von Pflanzenschutzmitteln ist Gegenstand vieler derzeitiger Forschungsbemühungen (BACKHAUS ET AL. 2000, KORTENKAMP ET AL. 2009, EFSA 2012, VERBRUGGEN & VAN DEN BRINK 2010). Weitere empirische Studien, welche sich dieser Problematik widmen, sind somit dringend zur Füllung der Datenlücken angezeigt.

Durch die immense Vielfalt an Pflanzenschutzmitteln auf dem Markt ist es jedoch nicht möglich alle erdenklichen Pestizid-Kombinationen einem ökotoxikologischen Testverfahren zu unterziehen. Aufgrund ihrer Anwendungsgebiete und der daraus resultierenden Eintragsquellen in die Umwelt lässt sich jedoch ein gehäuftes Auftreten bestimmter Pestizidkombinationen vorhersagen. So ist es ratsam, den Fokus der praktischen Forschung auf diese Chemikaliengemische zu richten.

Mit dieser Thematik befasst sich die vorliegende Studie, in der die Auswirkungen einer Mischung zweier im Maisanbau gängiger Pflanzenschutzmittel auf die aquatische Biozönose untersucht werden. Sowohl bei der Auswahl der Testsubstanzen als auch bei der Festlegung



der Testkonzentrationen wurde darauf geachtet, mit realistischen Expositionsbedingungen zu arbeiten, so dass aus der vorliegenden Arbeit Erkenntnisse über das Umweltverhalten der Stoffe in ihrer kombinierten Wirkung gezogen werden können.

### 1.3 TESTSUBSTANZEN

Die Anwendung der reinen Wirkstoffe wird in den meisten Fällen durch deren chemische und physikalische Eigenschaften erschwert. Aufgrund dessen werden den wirkungsaktiven Substanzen (active ingredient (a.i.)) üblicherweise Lösemittel, Träger- bzw. Treibstoffe beigemischt. Auf diese Weise lässt sich die Verfügbarkeit der Wirksubstanzen verbessern, so dass die Kosten und Aufwandmengen der Produkte auf ein praktikables Maß reduziert werden können (*BMELV 2010*). In den ökotoxikologischen Studien der vorliegenden Arbeit wurden die Wirkstoffe mit diesem Hintergrund jeweils in ihrer Formulierung getestet. Zulassungsinhaber und Hersteller der beiden untersuchten Pflanzenschutzmittel Karate® Zeon (Insektizid: Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin) und Callisto® (Herbizid: Wirkstoff Mesotrione) ist die Firma Syngenta Agro GmbH mit Sitz in Maintal. Beide Pflanzenschutzmittel werden für den Schutz der Kulturpflanze Mais verwendet, so dass ein gemeinsames Auftreten sowohl durch die zeitgleiche Ausbringung beider Produkte auf benachbarten Flächen, als auch durch eine aufeinander folgende Verwendung auf gleichen Ackerflächen gegeben ist. Durch das flächendeckende Wachstum der Monokultur Mais aufgrund des Vormarschs regenerativer Energien, beispielsweise in Form von Biogasanlagen (*GRIEDER ET AL. 2011*), ist weiterhin mit einem kombinierten Auftreten der beiden Pflanzenschutzmittel zu rechnen.

Da bei einer Belastung für aquatische Organismen hauptsächlich die in den PSM enthaltenen Wirkstoffe, sowie deren Bioverfügbarkeit in wässrigem Milieu von großer Bedeutung sind, wird insbesondere auf diese für die beiden eingesetzten Mittel im Folgenden eingegangen.

#### 1.3.1 INSEKTIZID – KARATE® ZEON

Das Insektizid Karate® Zeon (KaZ) wird in der landwirtschaftlichen Lebensmittelproduktion gegen beißende und stechende Insekten eingesetzt. Durch sein breites Wirkspektrum und seine gute Verträglichkeit für Blätter und Blüten findet es zum Schutz von Kulturpflanzen eine vielseitige Anwendung. Seine Zulassung legt eine einmalige Anwendung pro Kultur und Jahr, sowie eine maximale Aufwandmenge von 75 mL/ha fest. Der Wirkstoff des Produkts,

Lambda-Cyhalothrin liegt in Form einer Mikrokapsel-Formulierung auf Wasserbasis vor. Aufgrund dieser Technologie wird eine rasche Freigabe des Wirkstoffes bei zusätzlicher Sicherheit für den Anwender gewährleistet (*SICHERHEITSDATENBLATT FÜR KARATE® ZEON 2010*). Zum Schutz von Wasserorganismen wurde eine Abstandsaufgabe von 15m zu Oberflächengewässern festgesetzt. Durch den Einsatz eingetragener verlustmindernder technischer Geräte kann diese Auflage auf 10m (bei 50% Abdriftminderung) bzw. 5 m (bei 75% Abdriftminderung) verringert werden (Gebrauchsanweisung Karate® Zeon). Die technischen und toxikologischen Daten des Produkts können Tab. 1 entnommen werden.

**Tab. 1: Technische und Toxikologische Daten Karate® Zeon (*SICHERHEITSDATENBLATT KARATE® ZEON 2010*).**

<b>TECHNISCHE DATEN</b>	
Produkt	Karate® Zeon
Zulassungsinhaber	Syngenta Agro GmbH, D-63462 Maintal
Produktbeschreibung	Pyrethroidinsektizid
Chemische Charakterisierung	100 g/L Lambda-Cyhalothrin als Mikrokapseln in wässriger Lösung
Summenformel	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$
CAS-Nummer	91465-08-6
Molekulargewicht (g/mol)	449,9
Form	flüssige Mikrokapselsuspension
Farbe	beige-cremefarben
Geruch	leicht aromatisch
Siedepunkt	100 °C
Flammpunkt	> 93 °C
oxidierende Eigenschaften	nicht oxidierend
explosive Eigenschaften	nicht explosiv
Dichte (g/cm <sup>3</sup> bei 20°C)	1,057 g/cm <sup>3</sup> bei 20°C
Mischbarkeit in Wasser	mischbar
pH-Wert	4 – 8 bei 1% w/v bei 25°C
kinematische Viskosität	107 cSt bei 20°C
Oberflächenspannung	54,0 mN/m bei 20°C und 1% w/v
<b>TOXIKOLOGIE</b>	
<b>Akute Toxizität</b>	
LD <sub>50</sub> oral	Ratte ♂: 334 mg/kg; Ratte ♀: 404 mg/kg
LD <sub>50</sub> dermal	Ratte > 2000 mg/kg
Akute Inhalationstoxikologie (LC <sub>50</sub> )	Ratte, 4h: >2,5 mg/L, abgeleitet von vergleichbarer Formulierung
Ökotoxische Wirkung	
<i>Cyprinus carpio</i> LC <sub>50</sub> (96 h)	< 0,1 mg/L
<i>Daphnia magna</i> EC <sub>50</sub> (48 h)	< 0,1 mg/L
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	> 0,1 mg/L (Wirkstoff)

Lambda-Cyhalothrin als Wirkstoff des Insektizids KaZ zählt zur Gruppe der Pyrethroide. Diese synthetischen Insektizidwirkstoffe sind dem natürlichen Pflanzenstoff der

Chrysanthemen – Pyrethrum – nachempfunden (*GLYNNE-JONES 2001*). Eine schnelle neurotoxikologische Wirkung tritt aufgrund des Angriffs auf die Na<sup>+</sup>-Kanäle der Plasmamembranen von Neuronen auf. Eine verzögerte Schließung dieser Kanäle und eine damit einhergehende Dauererregung der Nervenfasern sind die Folge (*FENT 2007*). Auf diese Weise lassen sich Zielorganismen, wie Pflanzenschädlinge effektiv und schnell dezimieren. Lambda-Cyhalothrin ist eine hoch lipophile Substanz (log Kow = 7 bei 20°C) mit einem niedrigen Dampfdruck (0,0002 mPa bei 20°C) (*SICHERHEITSDATENBLATT FÜR KARATE® ZEON 2010*). Aufgrund dieser Eigenschaften emittiert Lambda-Cyhalothrin kaum in die Atmosphäre und ist aus der Wassersäule schon nach geringer Zeit eliminiert – haftet jedoch stark an organischem Material an. Für die Wassersäule eines Wasser-Sediment-Systems konnte eine Halbwertszeit (DT<sub>50</sub>) von 5 – 11h aufgrund biologischen Abbaus aufgezeigt werden. Im Schnitt beträgt die DT<sub>50</sub> der Substanz für das Gewässersystem mit all seinen Komponenten 13 Tage (*EU 2001*).

### 1.3.2 HERBIZID – CALLISTO®

Das Herbizid Callisto® (C) zählt zur Kategorie der Bleichherbizide und findet als überwiegend blattaktives Nachauflaufherbizid seine Anwendung. Zusätzlich erfolgt die Aufnahme des Wirkstoffes über die Wurzelsysteme, so dass dem Produkt aufgrund seiner vielseitigen Angriffspunkte eine hohe Wirksamkeit bescheinigt wird. Mit seinem HPPD (Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase)-hemmenden Wirkstoff Mesotrione wird es großflächig zur Bekämpfung von breitblättrigen Unkräutern, Hühner- und Fingerhirsearten in Maiskulturen angewendet (Gebrauchsanweisung Callisto®). Tabelle 2 führt die technischen und toxikologischen Daten des Produkts auf.

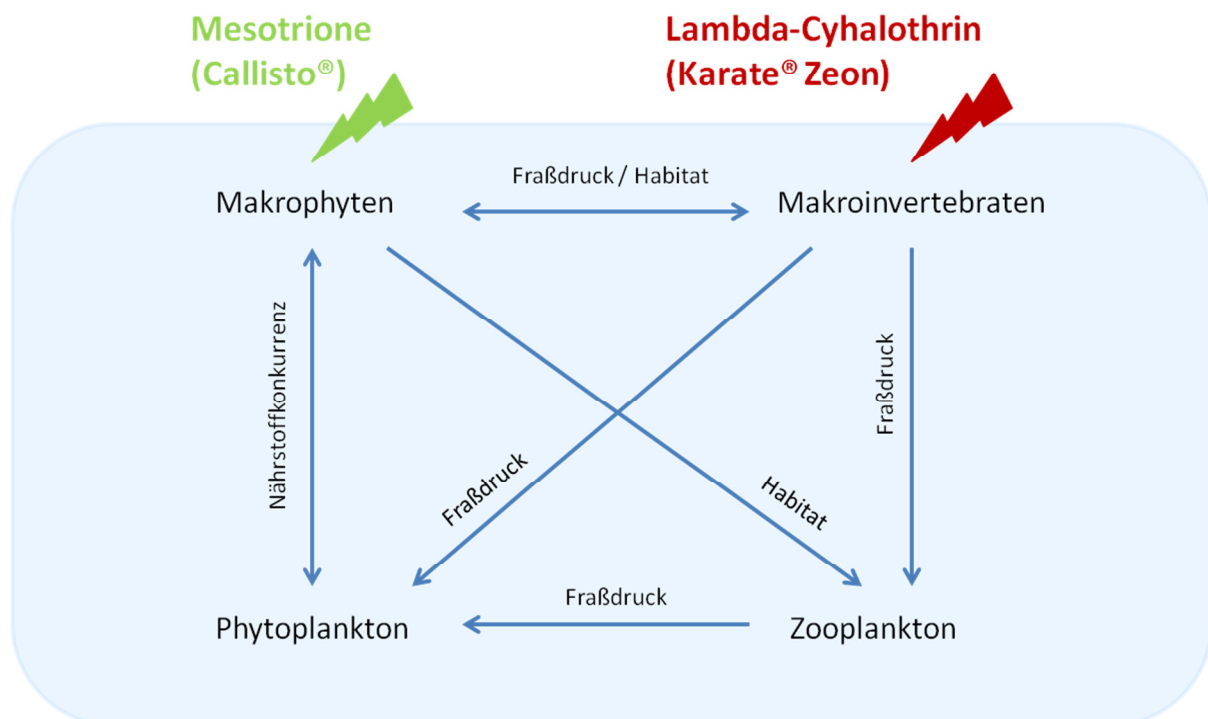
**Tab. 2: Technische und Toxikologische Daten Callisto® (SICHERHEITSDATENBLATT CALLISTO® 2010).**



<b>TECHNISCHE DATEN</b>	
Produkt	Callisto®
Zulassungsinhaber	Syngenta Agro GmbH, D-63462 Maintal
Produktbeschreibung	Bleichherbizid
Chemische Charakterisierung	100 g/L Mesotrione als Suspensionskonzentrat (SC)
Summenformel	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>7</sub> S
CAS-Nummer	104206-82-8
Molekulargewicht (g/mol)	449,9
Form	flüssig
Farbe	bräunlich
Selbstentzündlichkeit	395 °C
Siedepunkt	ca. 100 °C
Flammpunkt	> 100 °C
Schmelzpunkt	< - 5 °C
Dichte (g/cm <sup>3</sup> bei 20°C)	1,1 g/mL bei 20 °C
Mischbarkeit in Wasser	mischbar
pH-Wert	2,2 bei 1 % w/v bei 25 °C
Chemische Stabilität	stabil unter Normalbedingungen
<b>TOXIKOLOGIE</b>	
<b>Akute Toxizität</b>	
LD <sub>50</sub> oral	Ratte > 2000 mg/kg
LD <sub>50</sub> dermal	Ratte > 2000 mg/kg
Akute Inhalationstoxikologie (LC <sub>50</sub> )	Ratte, 4h: > 5 mg/L, abgeleitet von vergleichbarer Formulierung
Ökotoxische Wirkung	
<i>Cyprinus carpio</i> LC <sub>50</sub> (96 h)	71 mg/L
<i>Daphnia magna</i> EC <sub>50</sub> (48 h)	49 mg/L
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	
ErC <sub>50</sub> (72 h)	> 100 mg/L
EbC <sub>50</sub> (72 h)	> 100 mg/L
<i>Lemna gibba</i> EbC <sub>50</sub> (14 d)	0,15 mg/L (abgeleitet von den Wirkstoffeigenschaften)

Die Wirksubstanz Mesotrione findet nicht nur innerhalb des Herbizids C, sondern auch in einer Reihe weiterer Produkte zur Unkrautbekämpfung ihre Anwendung. Mesotrione, chemisch zur Gruppe der Callistemone (Triketon) zählend, hemmt indirekt die Carotinoid-Biosynthese und greift auf diese Weise die Lichtschutzmechanismen pflanzlicher Organismen an. Infolge der photo-oxidativen Zerstörung der grünen Blattpigmente wird ein Ausbleichen und Absterben der Blätter beobachtet (*SICHERHEITSDATENBLATT FÜR CALLISTO® 2010*). Insbesondere hohe Lichtintensitäten begünstigen seine Wirkung. Aufgrund seiner physikalischen und chemischen Eigenschaften (Tab. 2) verbleibt Mesotrione größtenteils bis zu seinem Abbau und damit um ein Vielfaches länger, als das eingesetzte Insektizid in der Wassersäule. Seine Halbwertszeit bei biologischem Abbau beträgt 3,9 – 6,6 Tage (Sommer, 50° nördlicher Breitengrad) in wässrigem Milieu (*EU 2003*).

## 1.4 ZIELSETZUNG

Aufgrund der beschriebenen Wirkmechanismen der aktiven Substanzen der eingesetzten Pflanzenschutzmittel, werden einige Effekte innerhalb der aquatischen Biozönose erwartet. Abbildung 2 zeigt die Wechselwirkungen der Hauptgruppen eines natürlichen fischlosen Stillgewässers auf. Dabei spielen insbesondere interspezifische Konkurrenz, sowie Räuber-Beute-Beziehungen eine übergeordnete Rolle. Unter konstanten Umweltbedingungen befindet sich das Biotop im Gleichgewicht. Verändern sich die Umweltbedingungen, unter anderem durch den Eintrag von PSM, wird dieses Gleichgewicht empfindlich gestört.



**Abb. 2:** Vereinfachte Darstellung der Angriffspunkte der Pflanzenschutzmittel Karate® Zeon  und Callisto®  in Bezug zu den Wechselwirkungen zwischen den Hauptgruppen der aquatischen Biozönose eines fischlosen Stillgewässers.

Die zu erwartenden Effekte bei kombinierter Belastung der Pflanzenschutzmittel KaZ und C zeigen sich bei Betrachtung des aquatischen Ökosystems folgendermaßen:

Aufgrund der zugrunde liegenden aktiven Substanz Lambda-Cyhalothrin kann nach Applikation des Insektizids KaZ von einer direkten toxischen Wirkung auf Organismen der Makroinvertebratengesellschaft ausgegangen werden. Mit steigender Insektizidkonzentration werden des Weiteren primäre Effekte auf Taxa der Zooplanktongesellschaft vermutet. Für letztere wird aufgrund des Wegfalls der Fraßfeinde innerhalb der

Makroinvertebratengesellschaft zunächst eine Wachstumszunahme erwartet. Der Einsatz des Bleichherbizides C sollte eine Wirkung auf die Blattorgane der makroskopischen Wasserpflanzen zeigen. Von einer schädigenden Wirkung auf die Phytoplankton-Gesellschaft wird aufgrund des Wirkmechanismus nicht ausgegangen.

Eine gemeinsame Applikation der beiden PSM lässt aufgrund des auftretenden Nahrungs- und Habitatverlustes durch eine reduzierte Makrophyten-Biomasse eine zusätzliche negative Wirkung auf die tierischen Organismen des Systems vermuten. Ein Anstieg der Phytoplanktongesellschaft, welche durch den Wegfall der Nährstoffkonkurrenten (Makrophyten), sowie durch die Dezimierung ihrer Fraßfeinde (Zooplankton) begünstigt wird, könnte die Folge sein.

Inwieweit der Zeitpunkt der Applikation der einzelnen PSM des Chemikaliengemischs einen Einfluss auf die Wirkung dieser innerhalb der aquatischen Biozönose nimmt, ist weitestgehend unbekannt. In wissenschaftlichen Studien zur Untersuchung der Effekte einer Herbizid-Insektizid-Mischung auf aquatische Ökosysteme wurden die Testsubstanzen ausnahmslos zeitgleich appliziert (*FAIRCHILD ET AL. 1994, GRÜNWALD 2003, HOAGLAND ET AL. 1993, RELYEA 2009, WENDT-RASCH ET AL. 2004, VAN DEN BRINK 2009*).

Ausgehend von den vorangestellten Erwartungen und Erkenntnissen zur Wirkung von PSM-Mischungen lassen sich folgende Fragestellungen für die vorliegende Arbeit ableiten:

- Lässt sich aufgrund der Kenntnis der Einzelwirkung der Substanzen und spezifischer Interaktionen des natürlichen Ökosystems eine Vorhersage über auftretende Kombinationseffekte treffen?
- Kompensieren natürliche aquatische Ökosysteme eine Belastung durch eine Chemikalienmischung bei zeitgleicher bzw. zeitversetzter Applikation der Komponenten in gleicher Weise?
- Ist das aufgrund der Wirkung der Einzelsubstanzen getroffene Risikomanagement für PSM auch protektiv für deren Mischung bei zeitgleichem und/oder zeitversetztem gemeinsamen Vorkommen?





## **2 MATERIAL UND METHODEN**

### **2.1 VERSUCHSDESIGN**

#### **2.1.1 TESTSYSTEME**

Zur Erfassung der ökotoxikologischen Wirkung des Insektizids KaZ einzeln, sowie in Kombination mit dem Herbizid C auf ökosystemarer Ebene wurden drei Mesokosmenstudien durchgeführt. Hierfür standen die aquatischen Freiland-Modellökosysteme der Versuchsanlage Grünschwaige des ehemaligen Fachgebietes für Ökotoxikologie der Technischen Universität München (TUM) zur Verfügung. Das seit 1993 regelmäßig für ökotoxikologische Untersuchungszwecke genutzte Versuchsgut umfasst zehn Teichsysteme, sogenannte Mesokosmen, in Form handelsüblicher Schwimmteiche. Diese lassen sich mit Hilfe von Edelstahlröhren (Enclosures) in mehrere Testkompartimente unterteilen, so dass unterschiedliche Konzentrationsstufen eines Gefahrstoffes im Laufe eines Testverfahrens parallel untersucht werden können.

Die Anlage befindet sich inmitten des Eittinger Moores, ca. 10 km östlich der Stadt Freising. Das Versuchsgut bringt aufgrund seines Standortes zwei entscheidende Vorteile für die ökotoxikologischen Untersuchungen von Pflanzenschutzmitteln auf Gewässersysteme mit sich: Zum einen erfolgt die Bewirtschaftung (durch den Lehrstuhl für Grünlandlehre der TUM) der angrenzenden Agrarflächen unter Verzicht des Einsatzes von Pestiziden, so dass unerwünschte Pestizideinträge in die Mesokosmen ausgeschlossen werden können. Zum anderen grenzt das Versuchsgelände direkt an ein natürliches Gewässer, in Form eines Bachlaufes. Dies spielt eine entscheidende Rolle bei der Betrachtung des Erholungspotentials der Testsysteme nach einer Chemikalienbelastung. Als entscheidender Endpunkt der wissenschaftlichen Studien wird die Wiederbesiedelung (Recovery) der Systeme nach einer Belastungssituation erfasst. Diese kann jedoch nur stattfinden, wenn sich in der näheren Umgebung der Modellökosysteme ausreichend natürliche Gewässersysteme befinden aus denen Individuen unterschiedlichster Arten in die Testsysteme übersiedeln können.

Tab. 3: Technische Daten der Modellökosysteme

	Mesokosmos	Enclosure
<b>Material</b>	Stahlmantel (Stärke 0,8 mm), Polyethylen-Innenfolie (Stärke 1 mm)	rostfreies Stahlblech (Stärke 1 mm)
<b>Maße</b>	H = 1,5 m Ø = 5 m	H = 1,3 m Ø = 0,95 m
<b>Volumen</b>	ca. 29000 L	ca. 920 L
<b>Hersteller</b>	MTW Moderne Wassertechnik, Gilching, Germany.	Schorb Company, Mossburg, Germany.

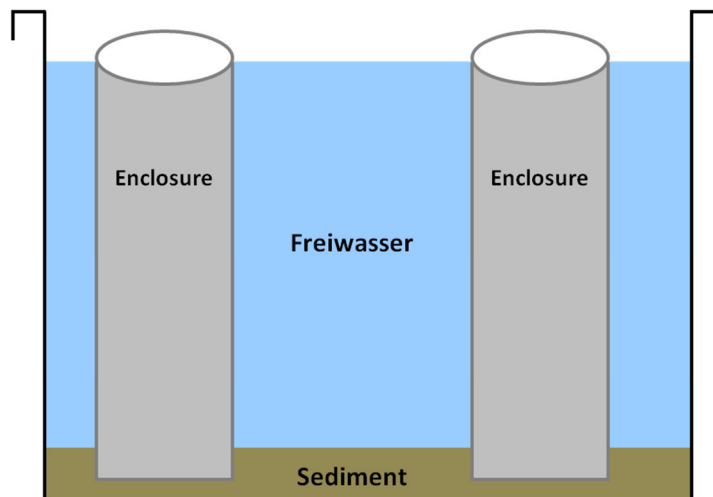


Abb. 3: Aufbau eines Mesokosmos

Die verwendeten Testsysteme, sogenannte Mesokosmen, sind natürlichen Stillgewässern nachempfunden. Als Sedimentgrundlage dient eine Mischung aus natürlichem Sediment des Ammersees zu einem Volumendrittel und gewaschenem Isarkiesel zu zwei Volumendritteln. Die eingesetzten Makrophyten stammen ursprünglich aus der Hydrobaumschule Oldehoff (Achenmühle, Wolfratshausen: *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton natans*), aus einem Teich bei Scheyern (*Potamogeton lucens*), sowie aus den umliegenden unbelasteten Mesokosmen (*Elodea canadensis*). Des Weiteren siedelten sich im Lauf der Jahre zum Teil weitere Makrophytenarten wie *Potamogeton crispus* und *Chara cf. contraria* über das eingebrachte Sediment und Wasser an. Sowohl das eingelassene Wasser, als auch die eingesetzte Fauna der Teichsysteme entstammt für die ersten installierten Systeme ebenfalls aus dem Ammersee (VOLM 1997, SANDMANN 2000). Im Lauf der Jahre hinzugekommene Mesokosmen wurden mit Wasser aus den bereits etablierten, unbelasteten Teichsystemen

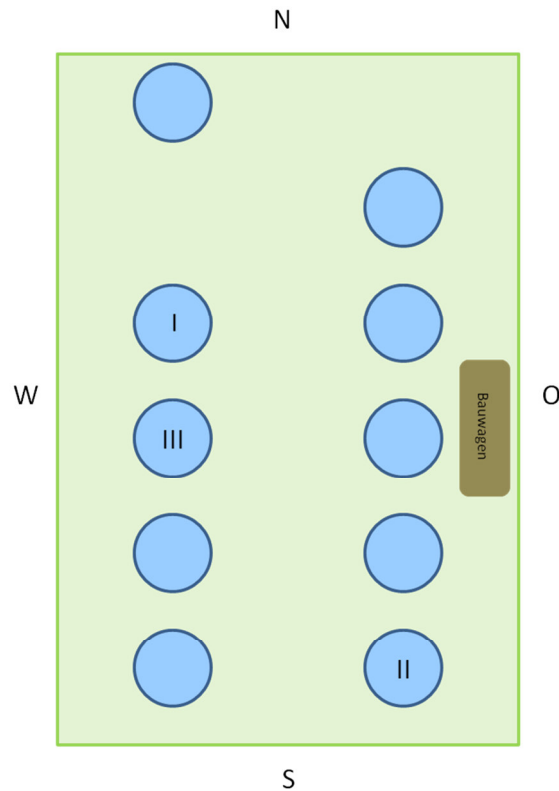
gespeist. Auf diese Weise konnten sich stabile, künstliche aquatische Ökosysteme bilden, welche die Wechselwirkungen und Zusammenhänge in einem natürlichen Stillgewässer widerspiegeln. Damit dienen sie als Grundlage für die Forschung der komplexen Zusammenhänge innerhalb aquatischer Lebensgemeinschaften und deren individuellen Reaktionen beispielsweise auf Pflanzenschutzmitteleinträge. Mit diesem Aufbau (vgl. Tab. 3, Abb. 3) erfüllen die verwendeten Mesokosmen die Vorgaben des HARAP- (CAMPBELL ET AL. 1999) und CLASSIC-Workshops (GIDDINGS ET AL. 2002) für aquatische Higher-Tier-Testsysteme im Bereich der aquatischen Ökotoxikologie (DAWO 2005).

### 2.1.1.1 Vorbereitung der Mesokosmen

Drei der beschriebenen Testsysteme wurden für die vorliegende Arbeit genutzt. Folgende Mesokosmenstudien wurden für die Untersuchung zur Wirkung der beiden Pflanzenschutzmittel KaZ und C durchgeführt:

- **Mesokosmos I (I):** Einzelbelastung KaZ (2008)
- **Mesokosmos II (II):** Zeitgleiche Kombinationsbelastung KaZ & C (2009)
- **Mesokosmos III (III):** Versetzte Kombinationsbelastung KaZ & C (2009)

Für die Mesokosmenstudien wurden diejenigen Teichsysteme ausgewählt, welche über die reichhaltigste Fauna und Flora verfügten. Nach der Auswahl der Testsysteme wurden diese mittels Enclosures in mehrere Kompartimente unterteilt. Die Enclosures wurden dabei tief in die Sedimentschicht eingesetzt, so dass ein direkter Wasseraustausch zwischen den einzelnen Kompartimenten ausgeschlossen werden konnte. Die Codierung der Enclosures erfolgte zufällig. Es wurde jedoch darauf geachtet, dass die Kontrollkompartimente, sowie Kompartimente gleicher Belastungsstufen gleichmäßig über die Pondfläche verteilt wurden. Die ersten Probennahmen erfolgten jeweils nach einer Stabilisierungsphase von zwei Wochen. Die genaue Lage der verwendeten Versuchsteiche der drei Mesokosmenstudien kann Abbildung 4 entnommen werden.



**Abb. 4: Lage der Mesokosmen des Versuchsgutes Grünschwaige**

I = Mesokosmos I, II = Mesokosmos II, III = Mesokosmos II.

### 2.1.2 APPLIKATION DER TESTSUBSTANZEN

Die Applikation der beiden Testsubstanzen KaZ und C erfolgte jeweils in einem Volumen von 50 mL. Für den Ansatz der Applikationslösungen wurde pro Produkt eine Stocklösung angesetzt aus der die benötigten Volumina für die einzelnen Enclosures in 50 mL Erlenmeyerkolben pipettiert wurden. Diese wurden jeweils auf 50 mL mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Zur Applikation wurden die Lösungen direkt aus den Erlenmeyerkolben gleichmäßig auf der Techoberfläche des jeweiligen Enclosures verteilt. Im Anschluss daran wurden die Kolben jeweils zweimalig mit einer definierten Menge von 50 mL destilliertem Wasser ausgespült und dieses ebenfalls den jeweiligen Enclosures zugeführt.

### 2.1.2.1 Einzelbelastung Karate® Zeon

Die Einzelwirkung des Insektizids KaZ steht im Fokus der Mesokosmenstudie I. Ihr Belastungsschema ist aus Tab. 4 ersichtlich. Unter den acht Insektizidkonzentrationen befindet sich nach der Empfehlung von *CAMPBELL ET AL. (1999)* sowohl eine Teststufe innerhalb der keine ökologisch signifikanten Effekte zu erwarten sind, als auch Stufen in denen mit deutlichen Effekten gerechnet wird. Somit liegt die niedrigste gewählte Konzentrationsstufe von 1 ng a.i./L unterhalb der in *MAUND ET AL.(1998)* beschriebenen NOEC für *Daphnia magna* (2 ng/L Lambda-Cyhalothrin) und der durch *ROESSINK ET AL. (2005)* erfassten NOEC für *Chaoborus* sp. (10 ng/L Lambda-Cyhalothrin).

**Tab. 4: Belastungsschema der Mesokosmenstudie I – Einzelbelastung;**

EB = Einzelbelastung, K = Kontrolle.

Mesokosmos I			
Level	Replikate (Enclosure-Code)	KaZ (ng a.i./L)	C (µg a.i./L)
Kontrolle	4 (K1 – 4 ●)	-	-
Level 1	1 (EB1 ●)	1	-
Level 2	1 (EB2 ●)	10	-
Level 3	1 (EB3 ●)	25	-
Level 4	1 (EB4 ●)	50	-
Level 5	1 (EB5 ●)	100	-
Level 6	1 (EB6 ●)	250	-
Level 7	1 (EB7 ●)	500	-
Level 8	1 (EB8 ●)	1000	-

### 2.1.2.2 Kombinationsbelastung Karate® Zeon und Callisto®

Für eine umfassende Evaluierung der Kombinationswirkung der beiden PSM wurden die Daten der Kombinationsbelastung zum einen bei zeitgleicher Applikation (Mesokosmos II) und zum anderen bei zeitversetzter Applikation (Mesokosmos III) herangezogen. Mesokosmos III wurde im Zuge zweier Diplomarbeiten des ehemaligen Fachgebietes Ökotoxikologie der TUM durchgeführt (VGL. *ESER 2010, RIEDEL-LÖSCHENBRAND 2010*). Das jeweilige Belastungsschema der beiden Kombinationsstudien stellen die Tabellen 5 und 6 detailliert dar.

In beiden Fällen wurde für alle Testkompartimente eine Herbizidkonzentration von 50 µg a.i./L gewählt, während die Belastung des Insektizids in Form einer

Konzentrationsreihe stattfand (siehe Tab. 5 und Tab. 6). Innerhalb der Mesokosmenstudie III zur zeitversetzten Applikation der PSM wurden die Testkompartimente 21 Tage nach der Applikation der einheitlichen Herbizidkonzentration mit der Konzentrationsreihe des Insektizids belastet.

**Tab. 5: Belastungsschema der Mesokosmenstudie II – zeitgleiche Applikation;**

Z = zeitgleiche Belastung, K = Kontrolle.

Mesokosmos II			
Level	Replikate (Enclosure-Code)	KaZ (ng a.i./L)	C (µg a.i./L)
<b>Kontrolle</b>	4 (K1 – 4 ●)	-	-
<b>Level 1</b>	2 (Z1a + Z1b ●)	10	50
<b>Level 2</b>	2 (Z2a + Z2b ●)	50	50
<b>Level 3</b>	2 (Z3a + Z3b ●)	100	50
<b>Level 4</b>	2 (Z4a + Z4b ●)	250	50

**Tab. 6: Belastungsschema der Mesokosmenstudie III – versetzte Applikation;**

V = versetzte Belastung, K = Kontrolle.




Mesokosmos III			
Level	Replikate (Enclosure-Code)	KaZ (ng a.i./L)	C (µg a.i./L)
<b>Kontrolle</b>	5 (K1 – 5 ●)	-	-
<b>Level 1</b>	2 (V1a + V1b ●)	10	50
<b>Level 2</b>	2 (V2a + V2b ●)	50	50
<b>Level 3</b>	2 (V3a + V3b ●)	75	50
<b>Level 4</b>	2 (V3a + V3b ●)	100	50
<b>Level 5</b>	2 (V4a + V4b ●)	250	50

In die Auswahl der einzelnen Testkonzentrationen flossen zusätzlich zu den Ergebnissen der Mesokosmenstudie I und der bereits vorhandenen Datenlage zur Wirkung der aktiven Substanzen (MAUND ET AL 1998, ROESSINK ET AL. 2005, SCHROER ET AL. 2004) die berechneten zu erwartenden Umweltkonzentrationen (Predicted Environmental Concentrations, PECs) des Julius-Kühn-Instituts (JKI Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen) ein. Die PECs wurden mit Hilfe des Programms SYNOPS für den Einsatz der beiden PSM im Maisanbau berechnet.

Die einheitliche C-Konzentration von 50 µg a.i./L entspricht demnach der PEC bei 100 % Spraydrift, ohne Einhaltung der geforderten Abstandsauflagen.

Die Konzentrationsstufen für KaZ decken die PECs bei Einhaltung der gesetzlichen vorgeschriebenen Abstandsauflagen (10 ng a.i./L) ab und gehen bis über die erwartenden Umweltkonzentrationen für ein „worst-case“-Szenario von 100 ng a.i./L bei 100 %-iger Spraydrift, ohne Abstandsauflage hinaus.

Bei den angegebenen Belastungs-Konzentrationen handelt es sich jeweils um nominale Konzentrationen.

Der Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Mesokosmenstudien in Form der grafischen Darstellung wurde durch die farbliche Codierung der Konzentrationsstufen vereinfacht. Alle Konzentrationsstufen der Mesokosmenstudie I, welche in den Kombinationsstudien nicht weiter untersucht wurden erhielten eine einheitliche Farbgebung. Denjenigen Konzentrationsstufen, welche in die Kombinationsstudien mit aufgenommen wurden, wurden jeweils einzelne Farben zugeteilt (vgl. Tab. 4, Tab. 5 und Tab. 6). Vertikale Linien innerhalb der Grafiken sowie farbige Pfeile zeigen jeweils die Applikationszeitpunkte der PSM auf (  = KaZ Applikation,  = C Applikation,  = zeitgleiche Applikation der beiden PSM).

## 2.2 ANALYTIK

Die Teichsysteme II und III wurden zuletzt in den Jahren 2007 (Mesokosmos II) bzw. 2004 (Mesokosmos III) für ökotoxikologische Versuche zur Wirkung des Insektizids Fastac<sup>®</sup> (Hersteller BASF, Ludwigshafen, D; Wirkstoff: Alpha-Cypermethrin) herangezogen. Aufgrund der Eigenschaft des Wirkstoffes Alpha-Cypermethrin ( $DT_{50(\text{Wassersäule})} = 1 \text{ bis } 6 \text{ h}$ , (TAKAHASHI ET AL. 1985, GEBAUER 2007) und der Ruhephase von zwei bis fünf Jahren kann davon ausgegangen werden, dass sich zum Applikationszeitpunkt der PSM KaZ bzw. KaZ + C in Mischung keine nennenswerten Rückstände des Fastac<sup>®</sup>-Wirkstoffes mehr in den Systemen befanden. Um dies sicher zu stellen wurde zudem für das Teichsystem der Mesokosmenstudie II eine Rückstandsanalyse des Sediments durch die Bioanalytik Weihenstephan der TUM durchgeführt. Diese konnte keine Rückstände des Wirkstoffes Alpha-Cypermethrin detektieren (Nachweisgrenze 0,005 mg/kg; Methode § 64 LFGB L00.00-34).

Eine Stunde nach Applikation der Testsubstanzen wurden in der Mesokosmenstudie II den belasteten Enclosures jeweils zwei Wassersäulen (Entnahmemethode siehe Punkt 2.3.2) entnommen und aus dem gewonnenen Wasser ca. 2 x 500 mL in Polyethylenflaschen überführt. Diese wurden anschließend bei -28 °C bis zu ihrer Analyse auf die Wirkstoffe Lambda-Cyhalothrin und Mesotrione tiefgefroren in der Bioanalytik Weihenstephan aufbewahrt.

## **2.3 ERHEBUNG DER ÖKOLOGISCHEN DATEN**

Im Folgenden werden die methodischen Arbeitsschritte zur Beprobung und Auswertung der Mesokosmenstudien dargestellt. Sofern nicht explizit darauf hingewiesen wird, sind diese für alle drei Mesokosmenstudien gültig.

### **2.3.1 PROBENNAHME**

Tabelle 7 können die einzelnen Probennahmetage sowie die Applikationszeitpunkte der PSM der drei Mesokosmenstudien entnommen werden. Die Zeitrechnung orientiert sich jeweils an den Applikationszeitpunkten der Pflanzenschutzmittel. Tag 0 entspricht dem Zeitpunkt der PSM-Applikation. Im Fall der zeitversetzten Applikationsstudie (Mesokosmos III) handelt es sich bei Tag 0 um die Herbizidapplikation, den ersten Schadstoffeintrag in das Testsystem, während Tag 21 dem Zeitpunkt des zusätzlichen Insektizideintrags entspricht.

Innerhalb der Mesokosmenstudien wurden Tageszeitpunkt und Beprobungsreihenfolge möglichst konstant gehalten. So wurde jeweils mit der Messung der physikalischen Parameter begonnen. Im Anschluss wurde die Kescherbeprobung der Makroinvertebratengesellschaft durchgeführt. Nach der darauffolgenden Entnahme der Wassersäulen für die Proben der Zooplankton- und Phytoplanktongesellschaften und die Analyse der chemischen Parameter, erfolgte zuletzt die Entnahme der Kieskorbproben der Makroinvertebratengesellschaft.

Für die Probennahmen standen jeweils zwei Gerätesätze zur Verfügung: ein Satz für die unbelasteten Kontrollkompartimente sowie ein Equipment für die belasteten Enclosures. Entsprechend ihrer Codierung wurden die Enclosures in aufsteigender Konzentrations-Reihenfolge beprobt, so dass eine Kontamination mit belastetem Wasser aus höheren Belastungsstufen in die geringer belasteten Enclosures vermieden wurde.



Tab. 7a - c: Probennahmedaten der Mesokosmenstudien I (Einzelbelastung KaZ), II (zeitgleiche Kombinationsbelastung) und III (versetzte Kombinationsbelastung).

a) Mesokosmos I – Einzelbelastung Karate® Zeon

Datum	23 Jul	30 Jul	31 Jul	04 Aug	06 Aug	13 Aug	20 Aug	26 Aug	03 Sept	10 Sept	16 Sept	24 Sept	30 Sept	08 Okt	15 Okt	22 Okt	30 Okt
Tag	-8	-1	0	4	6	13	20	26	34	41	47	55	61	69	76	83	91

b) Mesokosmos II – zeitgleiche Kombinationsbelastung Karate® Zeon und Callisto®

Datum	04 Mai	11 Mai	18 Mai	19 Mai	20 Mai	27 Mai	03 Jun	10 Jun	17 Jun	25 Jun	01 Jul	08 Jul	15 Jul	23 Jul	29 Jul	12 Aug	26 Aug	09 Sept	23 Sept
Tag	-15	-8	-1	0	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127

c) Mesokosmos III – versetzte Kombinationsbelastung Karate® Zeon und Callisto®

Datum	04 Mai	11 Mai	12 Mai	19 Mai	26 Mai	01 Jun	02 Jun	03 Jun	09 Jun	16 Jun	23 Jun	30 Jun	07 Jul	14 Jul	21 Jul	28 Jul	11 Aug	01 Sept
Tag	-8	-1	0	7	14	20	21	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112

Die jeweils erhobenen physikalischen, chemischen und biologischen Parameter der einzelnen Mesokosmenstudien sind zusammenfassend in Tabelle 8 dargestellt.

**Tab. 8: Übersicht der erfassten physikalischen, chemischen und biologischen Parameter der Mesokosmenstudien I, II und III.** (x = Parameter wurde erfasst).

	Mesokosmos I	Mesokosmos II	Mesokosmos III
<b>Physikalische Parameter</b>			
Temperatur	x	x	x
pH-Wert	x	x	x
Leitfähigkeit	x	x	x
Sauerstoffgehalt	x	x	x
<b>Chemische Parameter</b>			
Wasserhärte	x	x	x
Alkalinität	x	x	
Ammoniumgehalt	x	x	x
Nitratgehalt	x	x	x
Silikatgehalt	x	x	x
Phosphatgehalt	x	x	x
Chlorophyll	x	x	x
<b>Biologische Parameter</b>			
Phytoplankton			x
Makrophyten	x	x	x
Zooplankton	x	x	x
Makroinvertebraten	x	x	x

### 2.3.2 ENTNAHME DER WASSERSÄULEN

Die Entnahme der Wasserproben für die chemischen sowie einige biologische Parameter erfolgte mittels einer Plexiglasröhre (Länge 1,1 m, Ø 7 cm) mit spezieller Schließapparatur nach ZIERIS (1983). Mit Hilfe dieses Entnahmegertes lassen sich möglichst störungsfrei Wassersäulen von der Oberfläche bis zum Sediment der Enclosures entnehmen.

### 2.3.3 PHYSIKALISCHE PARAMETER

Die Aufnahme der physikalischen Parameter umfasste die regelmäßige Kontrolle des Sauerstoffgehaltes, der Temperatur, der Leitfähigkeit und des pH-Wertes. Zur Messung der Parameter wurden Analysegeräte der Firma WTW Weilheim, D verwendet (Tab. 9).

Tab. 9: Liste der verwendeten Geräte für die Messung der physikalischen Parameter

Parameter	Analysegerät	Einheit
Sauerstoffgehalt	OXI 315i, OXI 320	%, mg/L
Temperatur	OXI 315i, OXI 320	°C
Leitfähigkeit	Lf 96	mS/cm
pH	pH 330	-

### 2.3.4 CHEMISCHE PARAMETER

#### 2.3.4.1 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, TP, SRP, Si, °dH, CO<sub>3</sub><sup>-</sup>

Zur Analyse der chemischen Wasserparameter wurde im Zuge der Probennahmen pro Enclosure mit Hilfe des speziellen Entnahmegerätes (vgl. Pkt. 2.3.2) eine Wassersäule entnommen und jeweils ca. 500 mL Wasser in Polyethylen-Flaschen abgefüllt und bei -20° C bis zu ihrer Analyse im Labor gefroren aufbewahrt. Die Proben wurden auf ihren Ammonium-, Nitrat-, Gesamt- und Gelöstphosphat- und Silikatgehalt hin analysiert, sowie die Wasserhärte und Alkalinität bestimmt. Die Erfassungsmethoden und jeweiligen Nachweisgrenzen sind Tab. 10 zu entnehmen.

Tab. 10: Verwendete Erfassungsmethoden und Nachweisgrenzen der chemischen Wasserparameter.

Parameter	Erfassungsmethode	Nachweisgrenze
Ammonium	Kolorimetrisch nach DIN 38406	0,03 mg/L
Nitrat	Bestimmung durch Absorptionsmessung bei 210 nm nach Reduktion zu Nitrit nach DIN 38405	0,05 mg/L
Gesamtphosphat	Kolorimetrisch nach DIN EN ISO 6878	0,001 mg/L
Gelöstphosphat	Kolorimetrisch nach DIN EN ISO 6878	0,001 mg/L
Silikat	Kolorimetrisch, Silicat-Testkit (Fa. Merck, Art. 1.08045)	0,01 mg/L
Wasserhärte	Titration mit Titriplex Lösung B und Indikator-tabletten (Fa. Merck, Art. 108420 , 108430)	0,5°dH
Alkalinität	Titration mit HCl (nach SCHWOERBEL 1980)	

#### 2.3.4.1 Chlorophyll-Gehalt

Für die Untersuchung des Chlorophyll-Anteils wurden pro Enclosure zwei Wassersäulen entnommen und das Wasser über einem handelsüblichen Küchensieb (Maschenweite 0,3 mm) filtriert. Jeweils ca. 1000 mL Probenwasser wurden in Polyethylenflaschen abgefüllt. Die Proben wurden jeweils über Nacht an die Temperaturverhältnisse des Analysegerätes angepasst, so dass die Messung der Proben jeweils 20 h +/- 5 h nach der Probennahme erfolgte.

Die Analyse des Chlorophyll-Gehaltes erfolgte mit Hilfe eines DF (Delayed Fluorescence)-Spektrometers<sup>3</sup>. Dieses ist in der Lage, anhand der verzögerten Fluoreszenz, Chlorophyll-Äquivalente zu erfassen. Während der Messung wird die dunkeladaptierte Algenprobe mit Rotlicht (620 nm) bestrahlt und anschließend in einer Detektorküvette überführt. Durch die Anregung der Photosynthesepigmente lebender Zellen können die emittierten Lichtquanten der Primärproduzenten erfasst werden (BODEMER 2004, VOLM, 1997). Fluoreszierende Fremdfarbstoffe und abgestorbenes Phytoplankton werden nicht registriert, da dieses Verfahren an einen intakten Photosyntheseapparat gekoppelt ist (TÜMPLING & FRIEDRICH 1999). Das Maß für die Anzahl der Elektronen, welche durch die Elektronentransportkette des Photosynthese-Apparates der Algen geschleust wurden, liefert das Integral der resultierenden Abklingkurve der Messung. Der Chlorophyll-Gehalt der Proben wird durch das Produkt des Integrals über der Abklingkurve unter Verwendung eines Kalibrierfaktors berechnet und in µg/L angegeben (VOLM 1997). Der Messbereich des verwendeten DF-Spektrometers liegt zwischen 0,2 – 1000 µg/L Chlorophyll (GERHARDT ET AL. 2005). Eine detaillierte Beschreibung des verwendeten Analyseverfahrens findet sich in GERHARDT & BODEMER (1998, 2000).

#### 2.3.5 BIOLOGISCHE PARAMETER

Alle biologischen Parameter wurden quantitativ und qualitativ erfasst. Für die taxonomische Einteilung der Organismen wurde diverse Bestimmungsliteratur verwendet. Diese kann dem Literaturverzeichnis im Anhang entnommen werden. Die Bestimmung erfolgte jeweils auf das niedrigste Taxonomielevel, sofern möglich bis auf Artniveau.

---

<sup>3</sup> Entwickelt an der Universität Regensburg, Institut II Festkörperphysik, Prof. Dr. W. Gerhardt.

### 2.3.5.1 Phytoplankton

Zusätzlich zu den weiteren biologischen Parametern wurde in der Mesokosmenstudie II mit zeitgleicher Applikation der beiden PSM die Zusammensetzung der Phytoplanktongesellschaft betrachtet. Die Probennahme erfolgte in Form zweier Wassersäulen, welche mit Hilfe des unter Punkt 2.3.2 beschriebenen Entnahmegerätes gewonnen wurden. Für die Analyse wurden jeweils 200 mL Probenwasser benötigt, welche in Polyethylen-Flaschen abgefüllt wurden. Zur Fixierung der Proben wurde diesen jeweils 20 mL essigsäure Lugol'sche Lösung zugegeben. Anschließend wurden die Proben bis zu ihrer Analyse im Labor im Dunkeln aufbewahrt. Die Auswertung der Proben erfolgte an einem Umkehrmikroskop (Diavert, Fa. Leitz) unter 400-facher Vergrößerung nach der in *SCHWOERBEL (1980)* beschriebenen Methode von *UTERMÖHL (1932 & 1958)*. 50 mL des Probenwassers wurden hierfür in einer Verbundkammer (Fa. Hydrobios) für ca. 48 h absedimentiert. Ausgewertet wurde ein Streifen von 100 µm x 26 mm der abgesetzten Algensuspension. Die erhaltenen Werte wurden im Anschluss auf Zellzahl/mL umgerechnet.

### 2.3.5.2 Makrophyten

Zu Beginn der Mesokosmenstudien wurde auf eine ausgeglichene Verteilung der Makrophyten in den einzelnen Kompartimenten geachtet. Gegebenenfalls wurde der Bestand in einigen Enclosures ausgedünnt oder wenn nötig zusätzliche Pflanzensetzlinge eingebracht, so dass die Enclosures weitgehend ähnliche Grundvoraussetzungen in Bezug auf ihre Artzusammensetzung und Dichte des Makrophytenbestandes aufwiesen. Während des Beprobungszeitraumes wurde die Makrophytendichte in regelmäßigen Abständen photographisch für die Mesokosmenstudien I und II festgehalten. Die Beurteilung des Makrophytenzustands innerhalb der Mesokosmenstudie III erfolgte rein visuell.

### 2.3.5.3 Zooplankton

Für die Beprobung der Zooplanktongesellschaft wurden je zwei Wassersäulen pro Enclosure entnommen und das Volumen der beiden Wassersäulen für die spätere Auswertung notiert. Im Anschluss wurde das Wasser über einem Sieb mit einer Maschenweite von 63 µm (DIN 4188) gefiltert und die auf diese Weise gewonnenen Zooplankter in 50 mL Polyethylen-Flaschen überführt. Die Konservierung der Proben erfolgte mit 37 %iger Formaldehydlösung.

Nach einer Färbung mit Bengalrosa (Bengalrosa B, Roth GmbH) im Labor wurde die Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft unter einem Stereomikroskop (Fa. Wild, Hamburg) bestimmt.

#### 2.3.5.4 Makroinvertebraten

Die Aufnahme der Makroinvertebratengesellschaft erfolgte mittels Keschern und Kieskörben. Die Makroinvertebraten des Freiwassers wurden in drei standardisierten Kescherzügen (zwei im Freiwasser, einer entlang des Makrophytenbestandes) mit einem Kescher der Maschenweite 250  $\mu\text{m}$  gefangen. Zur Erfassung der substratgebundenen Makroinvertebraten wurden pro Enclosure je zwei Kieskörbe (Abb. 5) eingesetzt, welche im wöchentlichen Rhythmus abwechselnd beprobt wurden. Um eine Flucht des Fangs zu verhindern wurde bei der Entnahme der Kieskörbe das Planktonnetz (Maschenweite 63  $\mu\text{m}$ ), welches unterhalb des Korbes angebracht ist, mittels Schnüren über den Korb gezogen. Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung der Makroinvertebratengesellschaft wurden die Fänge beider Beprobungsmethoden mit Leitungswasser in eine weiße Fotoschale gespült und darin lebend vor Ort ausgezählt. Größere Räuber, beispielsweise Anisoptera wurden zuerst erfasst und vorzeitig zurückgesetzt um einer Verfälschung der aufgenommenen Daten durch Fraß entgegenzuwirken. Im Anschluss an die Zählung wurden alle Organismen in die jeweiligen Enclosures zurückgeführt, um einer Verarmung entgegenzuwirken.

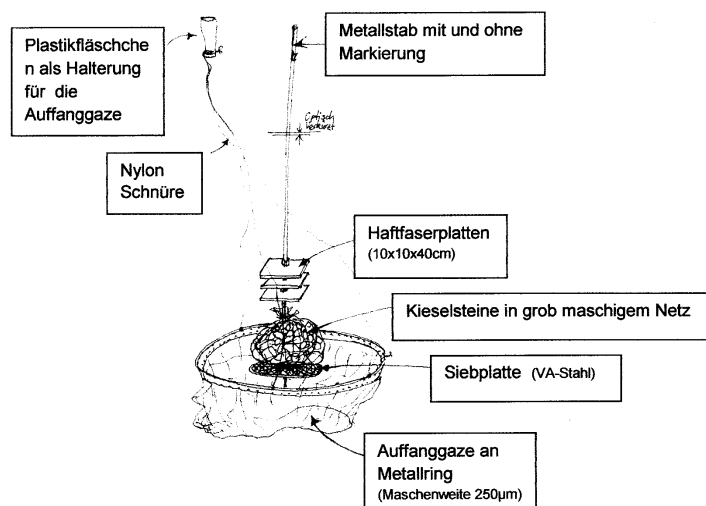


Abb. 5: Aufbau der eingesetzten Kieskörbe (LINDNER 2010).

## 2.4 AUFBEREITUNG DER DATEN

Die im Freiland erhobenen Daten wurden mit Hilfe des Programmes Microsoft Access in Form von Datenbanken für weitere Analysen verwaltet.

Für die statistische Auswertung wurden die Programme „Excel 2007“ (Microsoft), „Toxstat 3.4“, „Canoco 4.5“, „Origin“ und „Stata 10.0“ verwendet.

Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Ausnahme der Dominanzgrafiken, welche in Excel 2007 angefertigt wurden, mittels Stata 10.0. Zur vereinfachten Vergleichbarkeit der Grafiken wird an dieser Stelle nochmals auf die durchgehende farbliche Codierung der einzelnen Konzentrationsstufen hingewiesen (vgl. Tab. 4 – 6).

## 2.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG

### 2.5.1 MITTELWERTE

Die angegebenen Mittelwertberechnungen (MW) entsprechen dem arithmetischen Mittel und wurden wie folgt berechnet:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} * \sum xi$$

(Formel 1)

( $\bar{x}$  = arithmetisches Mittel,  $xi$  = Summe aller Messwerte,  $n$  = Anzahl der Messwerte)

### 2.5.2 DATENTRANSFORMATION

Vor der Analyse der No Observed Effect Concentrations auf Populationsebene (NOEC<sub>Population</sub>, Pkt. 2.5.3.5) sowie für die Methoden der multivariaten Statistik (Principal Response Curves und Principal Component Analysis, vgl. Pkt. 2.5.4) wurden die ökologischen Daten der biologischen Parameter nach der Empfehlung von *TER BRAAK & SCHMILAUER (2002)* folgender LN-Transformation unterzogen:

$$y' = \ln(a * y + 1) \quad \text{(Formel 2)}$$

( $y'$  = transformierte Abundanz,  $y$  = original erfasste Abundanz,  $a$  = Skalierungsfaktor)

Die Transformation der Daten erfolgte um die Datenlage der Anforderung der verwendeten parametrischen Testverfahren auf Normalverteilung anzunähern und Extremwerte zu verringern (VAN DEN BRINK ET AL. 2000). Zu diesem Zweck wurde der Skalierungsfaktor  $a$  jeweils so gewählt, dass für die niedrigste Abundanz gilt:

$$a * \min(y) = 2$$

(Formel 3)

Aufgrund dieser Voraussetzung wurden die Datensätze des Zooplanktons mit einem Skalierungsfaktor von  $a = 8$ , die der Makroinvertebraten und des Phytoplanktons mit  $a = 2$  berechnet.

### 2.5.3 UNIVARIATE STATISTIK

#### 2.5.3.1 Dominanz

Durch die Berechnung der Dominanz kann die relative Häufigkeit einer Art (bzw. eines Taxons) im Vergleich zu den übrigen Arten (Taxa) einer Gesellschaft beschrieben werden:

$$\text{Dominanz} = \frac{\text{Anzahl der Individuen einer Art}}{\text{Gesamtindividuenzahl}} * 100 \%$$

(Formel 4)

Die Einteilung der Zusammensetzung der Arten einer Gesellschaft erfolgte mit Hilfe des Dominanzklassen-Systems nach ENGELMANN (1978) (Tab. 11).

Tab. 11: Dominanzklassen nach ENGELMANN (1978).

Dominanzklasse	relative Häufigkeit der Art (%)	Bezeichnung
eudominant	32 – 100	Hauptarten
subdominant	10 – 31,99	
dominant	3,2 – 9,99	
rezedent	1 – 3,1	Begleitarten
subrezedent	0,32 – 0,99	
sporadisch	0 – 0,31	



### 2.5.3.2 Biodiversität

Die Erfassung der Biodiversität der einzelnen Testkompartimente erfolgte über die Beschreibung der Taxavielfalt. Hierfür wurde die Anzahl der angetroffenen Taxa über den zeitlichen Verlauf hinweg aufgetragen.

### 2.5.3.3 Abundanz

Die Häufigkeit (Abundanz) der einzelnen Taxa wurde für den Versuchszeitraum gegen die Zeit aufgetragen. Sie spiegelt die Individuendichte der Taxa der Phytoplankton-, Zooplankton- und Makroinvertebratengesellschaften in Bezug auf die zeitliche Entwicklung wider. Die Werte der Kontrollkompartimente wurden jeweils als Fläche zwischen der minimalen und maximalen Abundanz dargestellt, so dass sich Abweichungen der belasteten Kompartimente von diesen deutlich abzeichnen.

### 2.5.3.4 No Effect Concentration (NEC)

Zur Ermittlung der No Effect Concentrations (NECs) der Mesokosmenstudie I wurden lineare Regressionen durchgeführt (vgl. *LIBER ET AL. 1992; ESER 2001, PAULSSON ET AL. 2000*).

Im Zuge der Analyse der NECs auf Populationsebene ( $NEC_{Population}$ ) wurde für die erhobenen Datensätze die prozentuale Abweichung der belasteten Kompartimente gegenüber den insektizidfreien, unbelasteten Kontrollen wie folgt berechnet:

$$\% \text{ der Kontrollen} = \frac{\text{Abundanz des belasteten Kompartiments } x * 100}{MW \text{ der Abundanz der Kontrollen}}$$

(Formel 5)

Für die anschließende Regression wurden für die einzelnen Probennahmentage der Belastungsphase die prozentualen Abweichungen zur Kontrolle gegen die logarithmierten nominalen Konzentrationsstufen aufgetragen.

Die Analyse erfolgte unter Verwendung des Statistikprogrammes Stata 10.0 nach folgender Regressionsgleichung:

$$y = a + b (\log x)$$

(Formel 6)

In die Ermittlung flossen nur diejenigen Datenpunkte ein, welche einer eindeutigen Dosis-Wirkungsbeziehung folgen. Zeigen die Datenpunkte einen sigmoidalen Kurvenverlauf wurde nur der lineare Teil der Kurve übernommen (vgl. *ESER 2001*). Nur Ergebnisse mit einem Determinationskoeffizienten  $R^2 > 80\%$  und einem p-Wert  $< 0,05$  wurden in die Bewertung aufgenommen (VGL. *GRÜNWALD 2003*).

Die ermittelten  $NEC_{\text{Population}}$  wurden als Schnittpunkte der Regressionsgeraden mit dem Kontrollniveau ( $x_0$ ) und dessen 95 %-igem Konfidenzintervall ( $x_L$  und  $x_U$ , niedrigeres und höheres Limit) bestimmt.

Für die Ermittlung der NECs auf Gesellschaftsebene ( $NEC_{\text{Community}}$ ) wurden jeweils die cdt-Werte der Principal Response Curves (vgl. Pkt. 2.5.4.1) gegen die logarithmierten nominalen Konzentrationen aufgetragen. Die lineare Regression erfolgte analog zur Beschreibung der  $NEC_{\text{Population}}$ -Ermittlungen. Als Referenzlinie wurde der Mittelwert der cdt-Werte der Vorbelastungsphase (Tag -8 bis 0) aller Kompartimente gewählt. Die vorhersagbaren NEC-Werte  $x_0$ ,  $x_L$  und  $x_U$  entsprechen den Schnittpunkten mit dieser Referenzlinie und deren 95 %-igen Konfidenzintervallen.

Signifikante Abweichungen der Mittelwerte der einzelnen acht Konzentrationsstufen gegenüber den Kontrollkompartimenten wurden mittels eines einseitigen t-Tests statistisch überprüft.

### 2.5.3.5 No Observed Effect Concentration auf Populationsebene (NOEC<sub>Population</sub>)

Für die Mesokosmenstudien II und III wurden No Observed Effect Concentrations auf Populationsebene (NOEC<sub>Population</sub>) ermittelt. Per Definition entspricht die höchste Konzentrationsstufe eines Testdesigns, welche keine signifikanten Abweichungen bezüglich ihrer Abundanz einer Population aufweist der NOEC<sub>Population</sub> (HANSON & SOLOMON 2002). Auf der Grundlage der jeweiligen Abundanzwerte der einzelnen Populationen erfolgte die Berechnung der NOEC<sub>Population</sub> mittels Williamstest (ANOVA, WILLIAMS 1972,  $p < 0,05$ ). Aufgrund seiner Robustheit wird dieser Test insbesondere für ökotoxikologische Fragestellungen herangezogen (SHIRLEY 1977). Für die Berechnung wurde das Programm Toxstat 3.4 verwendet.

Die NOEC<sub>Population</sub> über den gesamten Versuchszeitraum hinweg gesehen stimmt jeweils mit der niedrigsten erfassten NOEC<sub>Population</sub> überein, welche an zwei aufeinander folgenden Probenahmetagen zu verzeichnen war.

### 2.5.3.6 MANN-WHITNEY-U-Test

Für die Mittelwertvergleiche der chemischen Wasserparameter wurde der nichtparametrische U-Test nach MANN & WHITNEY (1947) herangezogen.

## 2.5.4 MULTIVARIATE STATISTIK

### 2.5.4.1 Principal Response Curves (PRCs)

Am Ende von Mesokosmenstudien im Bereich des Risikomanagements stehen erhebliche Datenmengen vor der Auswertung. Mit den herkömmlichen univariaten statistischen Methoden lässt sich allerdings nur eine limitierte Auswahl an Taxa (i.d.R. die häufigsten Vertreter) dieser umfangreichen Datensätze adäquat analysieren. Für eine objektive Bewertung der Effekte aufgrund des chemischen Stress‘ darf jedoch die An- bzw. Abwesenheit weniger abundanter Taxa nicht vernachlässigt werden, da auch sie innerhalb der ökologischen Lebensgemeinschaften wichtige Funktionen übernehmen (VAN DEN BRINK & TER BRAAK (1998, 1999).

Aufgrund dieser Problematik wurde von VAN DEN BRINK & TER BRAAK (1997, 1998, 1999) die PRC, eine Abwandlung der Redundanzanalyse speziell für die Auswertung von

ökoxikologischen Mikro- und Mesokosmenstudien entwickelt. Durch diese zur multivariaten Statistik zählende Methode lassen sich aus den gesammelten Daten Effekte und Reaktionen natürlicher Lebensgemeinschaften auf eine chemische Belastungssituation im Vergleich zu unbelasteten Kontrollbereichen grafisch im 2-dimensionalen Raum über den Probenzeitraum hinweg darstellen (VAN DEN BRINK ET AL. 2002A). Alle Informationen der erfassten Populationen werden im Zuge dessen mit Hilfe einer Dimensionsreduktion der Daten gleichwertig zusammengefasst (VAN DEN BRINK & TER BRAAK (1998, 1999).

Die Nulllinie (x-Achse) der PRC-Grafik entspricht dabei dem Kontrollbereich. Die Antwort der jeweiligen Gesellschaften auf die Belastung wird in Form von cdt-Werten (Funktionswert der PRC, Werte der ersten Hauptkomponente) auf der vertikalen Achse dargestellt und lässt sich anhand des Kurvenverlaufs der belasteten Kompartimente ablesen. Von Bedeutung ist dabei der absolute Abstand der PRCs zur Kontrolllinie. Je größer dieser Abstand desto ausgeprägter sind die auftretenden Effekte aufgrund der Belastungssituation.

Des Weiteren lässt sich über die PRC-Analyse eine Aussage über die Empfindlichkeit der einzelnen Taxa treffen. Die Gewichtung der Taxa in Form der sogenannten species scores entspricht ihrer Sensibilität gegenüber der Pestizidbelastung. Taxa mit einem positiven species scores entwickeln sich entsprechend dem Verlauf der PRC-Kurven, Taxa welche einen negativen species score aufweisen, zeigen eine gegenläufige Entwicklung (TER BRAAK UND SMILAUER 2002, DAWO 2005).

Zur Beurteilung der statistischen Signifikanz wird an die PRC ein Monte-Carlo-Permutationstest angeschlossen. Dieser wurde für jeden Probenahmetag einzeln durchgeführt. Die Nullhypothese des Tests besagt, dass die ökologischen Daten (beispielsweise Abundanzdaten) nicht in Beziehung zu den Belastungsstufen stehen (LEYER & WESCHE 2007). Der Teststatistik liegt dabei ein F-Test zugrunde ( $p \leq 0,05$ ). Um statistisch verwertbare Ergebnisse zu erzielen wurden nach der Empfehlung von TER BRAAK & SMILAUER (2002) welche zu mindestens 199 Permutationen raten, jeweils 499 Permutationen durchgeführt.

#### **2.5.4.2 No Observed Effect Concentration auf Gesellschaftsebene (NOEC<sub>Community</sub>) – Principal Components Analysis (PCA)**

Um die NOECs auf Gesellschaftsebene (NOECs<sub>Community</sub>) berechnen zu können wurde zunächst für die erfassten abiotischen und biotischen Datensätze eine Principal Components Analysis (PCA) durchgeführt. Mit dieser Hauptkomponentenanalyse können die wichtigsten Hauptgradienten der Gesellschaftsdatsätze mittels Dimensionsreduktion extrahiert werden (LEYER & WESCHE 2007). Durch die Reduktion des multivariaten Datensatzes auf eine Variable mittels PCA können im Anschluss mit Hilfe des univariaten Williamstests auch die NOECs<sub>Community</sub> ermittelt werden (VAN DEN BRINK ET AL. 1996, CUPPEN ET AL. 2002, VAN DEN BRINK ET AL. 2002A). Die erforderlichen Werte hierfür resultieren aus den Berechnungen der PCA in Form der sample scores der ersten Hauptachse. Diese werden analog zu den Abundanzwerten der NOEC<sub>Population</sub>-Ermittlung behandelt (vgl. Pkt. 2.5.3.5).

Alle beschriebenen multivariaten statistischen Methoden wurden unter Verwendung des Computerprogramms CANOCO für Windows Version 4.5 durchgeführt.

Im Kapitel Ergebnisse (vgl. Pkt. 3) wurden jeweils diejenigen Parameter und Taxa behandelt, welchen anhand der univariaten und multivariaten Statistik eindeutige (bspw. signifikante) Effekte aufgrund der PSM-Belastung zuzuordnen sind.

### 2.5.5 EFFEKTBEURTEILUNG

Die Klassifizierung der auftretenden Effekte wurde nach der Empfehlung des Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology der *EU (2002)* in Anlehnung an *BROCK ET AL. (2000A, B)* vorgenommen.

#### **Klasse 1: Effekte können nicht detektiert werden**

- Es konnten keine statistisch signifikanten Effekte aufgrund der Belastung erfasst werden.
- Beobachtete Differenzen zwischen den belasteten und unbelasteten Kompartimenten zeigen keinen kausalen Zusammenhang.

#### **Klasse 2: leichter Effekt**

- Es treten leichte, geringe oder kurzzeitige Effekte an einzelnen Probennahmetagen auf.

#### **Klasse 3: deutliche Kurzzeiteffekte**

- Eindeutige Reaktionen empfindlicher Endpunkte. Eine vollständige Erholung tritt jedoch innerhalb 8 Wochen nach der letzten Belastung ein.
- Effekte werden als „kurzzeitige Effekte verschiedener, empfindlicher Arten“, „temporäres Verschwinden empfindlicher Arten“ und „temporäre Effekte auf unempfindlichere Arten“ dokumentiert.
- Effekte treten an aufeinander folgenden Probennahmetagen auf.

#### **Klasse 4: ausgeprägte Effekte in Kurzzeitstudien**

- Eindeutige Effekte, wie ein starker Rückgang der Abundanz empfindlicher Arten werden beobachtet.
- Aufgrund der Kürze der Studiendauer, kann eine Erholung innerhalb von 8 Wochen nach der letzten Applikation nicht untersucht werden.

**Klasse 5: deutliche Effekte in Langzeitstudien**

- Deutliche Reaktionen empfindlicher Endpunkte treten auf.
- Eine Erholung lässt sich 8 Wochen nach der letzten Applikation nicht verzeichnen.
- Effekte werden als „langanhaltende Effekte bei mehreren empfindlichen Arten/Endpunkten“, „Absterben empfindlicher Arten“, „Effekte auf weniger sensitive Arten/Endpunkte“ und ähnlich beschrieben.

Um die langanhaltenden Effekte der Klasse 5 weiter aufschlüsseln zu können, wurde diese zusätzlich in die Klassen 5A (Recovery am Ende der Studie, jedoch > 8 Wochen) und 5B (bis zum Ende der Studie konnte keine Recovery festgestellt werden) unterteilt (*DE JONG ET AL. 2008*).

**2.5.6 ABLEITUNG EINER REGULATORY ACCEPTABLE CONCENTRATION (RAC)**

Entscheidend für eine Einschätzung des Risikopotentials der PSM im Zuge des aquatischen Risikomanagements sind ihre akzeptablen Umweltkonzentrationen (RACs, Regulatory Acceptable Concentrations). Diese wurden für alle drei Mesokosmen nach den aktuellen Vorgaben (vgl. *BROCK ET AL. 2012, EFSA 2013*) ermittelt. Die Festlegung der RAC bedeutet nicht, dass bis zu ihrem Konzentrationslevel keine Effekte auf die aquatische Biozönose erwartet werden. Jedoch darf eine RAC nach *CRANE & GIDDINGS (2004)* nur für Konzentrationslevels angesetzt werden, „deren biologischen Effekte

- mit Effekten natürlicher Stressoren vergleichbar sind
- die Struktur der Algengesellschaft verändern, jedoch nicht die Funktion des Ökosystem beeinträchtigen
- zu einer erheblichen Reduktion der Invertebratenpopulationen führen, sofern diese in der Lage sind sich innerhalb weniger Wochen von der Belastungssituation vollständig zu erholen“

Die Ableitung der RAC erfolgt aus den Ergebnissen der Effektbeurteilungen. Für Mesokosmenstudien resultieren sie aus den jeweiligen No Observed Ecologically Adverse Effect Concentrations (NOEAECs). In diese fließt sowohl das Ausmaß der Effekte auf die sensitivsten Organismen des Ökosystems ein, als auch deren Erholungspotential. Abhängig davon auf welcher Effektklasse (vgl. Punkt 2.5.5) die NOEAEC eines Mesokosmos beruht,

wird diese mit einem Sicherheitsfaktor zwischen 1 und 4 versehen (*EFSA 2013*) oder kann aufgrund der umfangreichen Datenlage und des Realitätsbezugs des Testdesigns direkt als RAC übernommen werden (*BROCK ET AL. 2012*).



### **3 ERGEBNISSE**

#### **3.1 MESOKOSMOS I – EINZELBELASTUNG KARATE® ZEON**

##### **3.1.1 WASSERQUALITÄT (PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE PARAMETER) (I)**

Für die erhobenen physikalischen (pH, LF, T und O<sub>2</sub>) und chemischen (°dH, CO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SRP, TP, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Si und Chlorophyll-Gehalt) Parameter konnten keine signifikanten Unterschiede der belasteten Enclosures gegenüber den Kontrollenclosures ermittelt werden (Monte-Carlo-Permutationstest  $\alpha = 0,05$ : physikalische Parameter: p-Wert = 0,458; chemische Parameter: p-Wert = 0,066).

Auf eine weitere Auswertung dieser Parameter und die Darstellung im Einzelnen wurde aufgrund dessen verzichtet.

##### **3.1.2 MAKROINVERTEBRATEN (I)**

Tabelle 12 liefert eine Übersicht der vorgefundenen Taxa innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft und stellt deren systematische Einteilung dar.

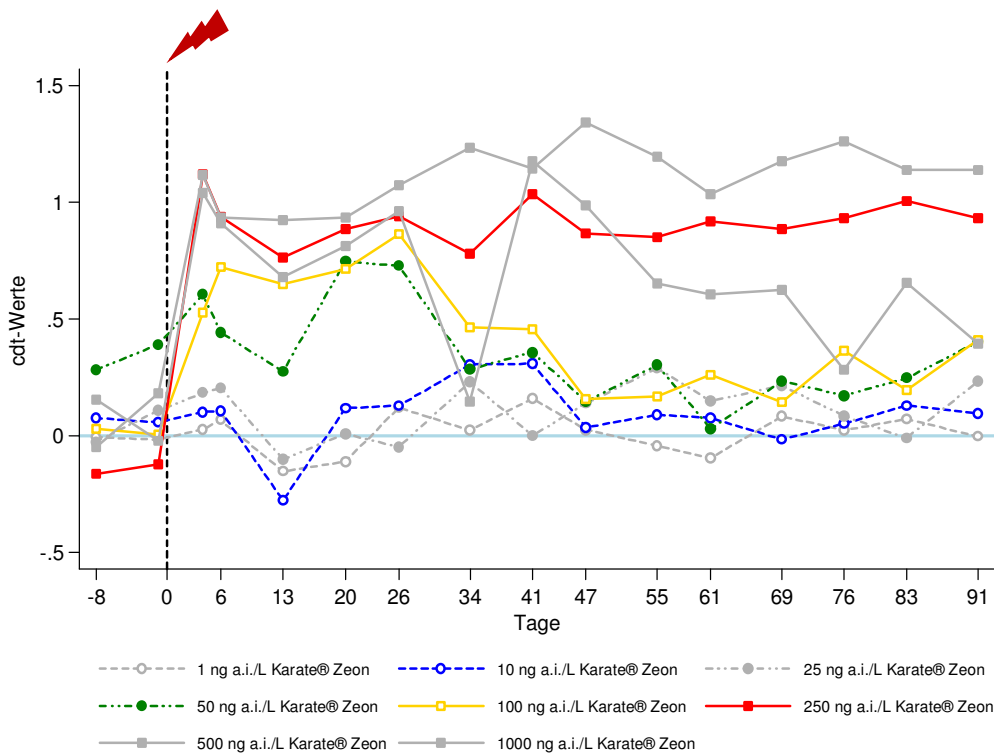
Insgesamt konnten in den Enclosures der Mesokosmenstudie zur Einzelwirkung des Insektizids KaZ 28 unterschiedliche Taxa in der Makroinvertebratengesellschaft erfasst werden. Den größten Anteil mit 19 Taxa stellt die Klasse der Insecta dar, 4 Taxa werden der Klasse der Gastropoda zugeordnet, 3 Taxa der Klasse der Clitellata sowie jeweils ein Taxon den Klassen Bivalvia und Turbellaria.

Tab. 12: Liste der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON		
ANNELIDA	CLITELLATA (Unterklasse: Oligochaeta)	HAPLOTAXIDA	Naididae	Naididae  <i>Tubifex</i> spp.		
	CLITELLATA (Unterklasse: Hirudinea)	RHYNCHOBDELLIDAE	Glossiphonidae	Glossiphonidae		
ARTHROPODA	INSECTA	COLEOPTERA	Curculionidae	<i>Eubrychius velutus</i>		
			Dytiscidae	Dytiscidae <i>Guignotus pusillus</i> <i>Hydroporus</i> sp. <i>Haliplus</i> sp. <i>Helophorus</i> sp.		
			DIPTERA	Baetidae	<i>Cloeon dipterum</i>	
				Chaoboridae	<i>Chaoborus crystallinus</i>	
				Chironomidae	Chironomidae Tanypodinae	
			Culicidae	<i>Anopheles</i> sp. <i>Culex</i> sp.		
		HEMIPTERA	Notonectidae	<i>Notonecta glauca</i> <i>Plea leachi</i>		
			ISOPODA	Asselidae	<i>Asellus aquaticus</i>	
		LEPIDOPTERA	Crambidae	<i>Elophila nymphaeta</i>		
		ODONATA (Unterordnung: Zygoptera)		Anisoptera		
		ODONATA (Unterordnung: Anisoptera)		Zygoptera		
		TRICHOPTERA	Phryganeidae	Phryganeidae		
		MOLLUSCA	GASTROPODA	BASOMATTOPHORA	Lymnaeidae	<i>Lymnea stagnalis</i> <i>Radix</i> sp.
					Physidae	<i>Physa fontinalis</i>
Planorbidae	Planorbidae					
Pisidiidae	<i>Pisidium</i> spp.					
PLATHELMINTHES	TURBELLARIA	TRICLADIDA	Planariidae	<i>Dugesia</i> spp.		

Die Antwort der Makroinvertebratengesellschaft auf die Belastungssituation durch den Eintrag des Insektizids KaZ in die Testsysteme spiegelt sich im zeitlichen Verlauf der PRCs wider (Abb. 6). Aufgetragen wurden die errechneten cdt-Werte der cannonischen Analyse gegen die Zeit.

### 3.1.2.1 Principal Response Curves (PRCs) – Makroinvertebraten (I)



**Abb. 6: PRC der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der Null-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.**

Über den gesamten Versuchszeitraum hinweg zeigen sich für die Makroinvertebratengesellschaft deutliche signifikante Unterschiede im Vergleich zu den unbelasteten Kontrollkompartimenten ( $p = 0,002$ ). 60 % der Abweichungen der belasteten Enclosures gegenüber den Kontrollen lassen sich durch die KaZ-Applikation erklären. 36 % davon können im 2-dimensionalen Raum in Form der PRC grafisch dargestellt werden. Weitere 26 % der auftretenden Varianz sind durch die zeitlichen Unterschiede der Beprobungstage bedingt. Die Validierung der PRC-Ergebnisse für jeden Tag mittels Monte Carlo Permutationstests zeigt ab Tag 4 bis zum Ende der Studie (Tag 91) durchgehend signifikante Effekte ( $p < 0,01$ ), welche auf die Belastung zurückzuführen sind (Tab. 13).

**Tab. 13: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.** -: nicht signifikant, \*\*: p < 0,01.

Tag	-8	-1	4	6	13	20	26	34	41	47	55	61	69	76	83	91
Signifikanz	-	-	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Der Verlauf der einzelnen PRCs für die Makroinvertebratengesellschaft der belasteten Systeme (Abb. 6) spiegelt diese Ergebnisse wider. Für die drei niedrigsten Konzentrationsstufen mit einer KaZ-Applikation von 1, 10 und 25 ng a.i./L treten keine Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollenclosures auf. Deutliche Effekte sind jedoch bereits 24 h nach der Insektizidapplikation ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ zu erkennen (EB 4 – EB 8).

Die Intensität der Reaktionen in diesen fünf höchsten Konzentrationsstufen erfolgt gestaffelt und fällt mit zunehmender Belastung stärker aus. Im Kurvenverlauf zeigen sich für die Konzentrationsstufen EB 4 und EB 5 deutlich erhöhte cdt-Werte an den Tagen 4 bis 26. Während sich die cdt-Werte in diesen Kompartimenten ab Tag 35 wieder dem Kontrollniveau annähern und dieses gegen Ende des Versuches weitestgehend erreichen, kann bis Tag 99 nach Applikation für die drei höchsten Belastungsstufen EB 6 – EB 8 (250, 500 und 1000 ng a.i./L KaZ) keine Erholung festgestellt werden.

Die Empfindlichkeit der einzelnen Taxa gegenüber dem PSM-Eintrag lässt sich unter anderem durch die Betrachtung der species scores (Tab. 14) aufschlüsseln.

Für die Einzelbelastung der Testsysteme mit dem PSM KaZ lässt sich erkennen, dass mit Abstand die Büschelmückenlarve *Chaoborus crystallinus* durch die Belastungssituation betroffen ist.

Während die Entwicklung der Taxa *Chaoborus crystallinus*, *Cloen dipterum*, *Zygoptera*, *Plea leachi*, *Chironomidae* und *Tanypodinae*

**Tab. 14: species scores (< - 0,5 und > 0,5) in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.**

Taxon	species score
<i>Chaoborus crystallinus</i>	- 4,53
<i>Cloen dipterum</i>	- 2,26
<i>Zygoptera</i>	- 1,12
<i>Plea leachi</i>	- 1,02
<i>Chironomidae</i>	- 0,96
<i>Tanypodinae</i>	- 0,55
<i>Planorbidae</i>	0,53

gegenläufig zu den Kurven der PRC ist, folgt die Entwicklung der Planorbiden-Population dem Verlauf der PRCs.

### 3.1.2.2 No Effect Concentrations (NECs) – Makroinvertebraten (I)

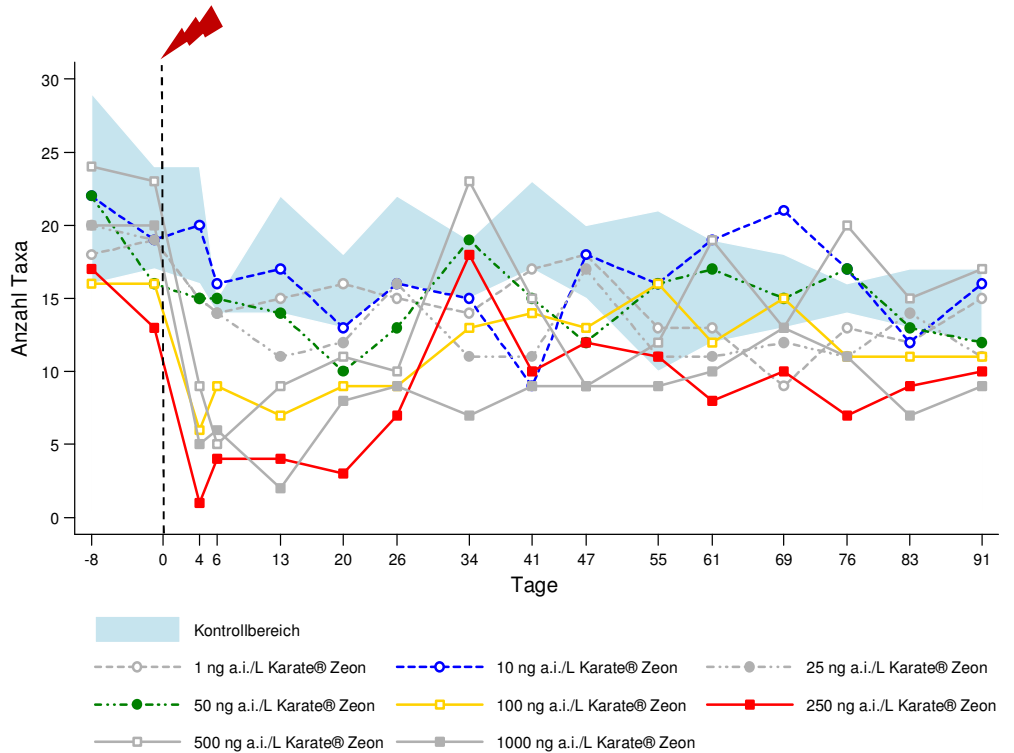
Die No Effect Concentrations für die Makroinvertebratengesellschaft (NECs<sub>Community</sub>) in der Einzelbelastungsstudie mit KaZ liegen zwischen **2,24 ng a.i./L** und **13,81 ng a.i./L**. Im Durchschnitt lassen sich über den gesamten Beprobungszeitraum hinweg NECs von **4,91 ng a.i./L**, **5,36 ng a.i./L** sowie **5,79 ng a.i./L** (untere (X<sub>L</sub>), mittlere (X<sub>O</sub>) und obere (X<sub>U</sub>) Grenze der NEC-Abschätzung) ermitteln (Tab. 15).

**Tab. 15: NEC-Analyse mittels linearer Regression für die Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon; X<sub>L</sub>, X<sub>O</sub>, X<sub>U</sub> = untere, mittlere und obere Grenze der berechneten NEC-Abschätzung, fett und kursiv = Minimal- und Maximalwerte.**

Tag	Lineare Regression Y = a + b * (logX)	R	p-Wert	NEC (ng a.i./L)		
				X <sub>L</sub>	X <sub>O</sub>	X <sub>U</sub>
4	Y = - 0,18 + 0,43 (logX)	0,92	0,001	3,24	3,52	3,08
6	Y = - 0,1 + 0,36 (logX)	0,93	0,001	2,44	2,69	2,97
13	Y = - 0,42 + 0,43 (logX)	0,90	0,003	11,73	12,72	<b>13,81</b>
20	Y = - 0,19 + 0,4 (logX)	0,90	0,002	3,75	4,10	4,47
26	Y = - 0,1 + 0,4 (logX)	0,85	0,007	<b>2,24</b>	2,44	2,66
41	Y = - 0,13 + 0,4 (logX)	0,84	0,009	2,66	2,90	3,17
47	Y = - 0,33 + 0,45 (logX)	0,84	0,008	6,63	7,17	7,75
55	Y = - 0,23 + 0,38 (logX)	0,87	0,005	5,13	5,62	6,17
61	Y = - 0,29 + 0,38 (logX)	0,86	0,006	7,37	8,09	8,87
69	Y = - 0,21 + 0,35 (logX)	0,81	0,015	5,17	5,72	6,32
91	Y = - 0,15 + 0,34 (logX)	0,83	0,011	3,61	4,01	4,44
MW				<b>4,91</b>	<b>5,36</b>	<b>5,79</b>

### 3.1.2.3 Biodiversität – Makroinvertebraten (I)

#### Biologische Vielfalt - Makroinvertebraten (I)



**Abb. 7: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.**

Die Anzahl der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft sinkt insbesondere in den vier höchsten Belastungsstufen EB 5 - EB 8 (100, 250, 500 und 1000 ng a.i./L KaZ) nach der Applikation des PSM rapide ab (Abb. 7). Vor der Insektizidbelastung konnten im Schnitt 19 Taxa/Enclosure verzeichnet werden. An Tag 4 nach der Applikation lassen sich hingegen in den belasteten Kompartimenten nur noch 11 Taxa im Durchschnitt detektieren. Einzig und allein für die Konzentrationsstufe EB 2 mit einer Applikationskonzentration von 10 ng a.i./L KaZ lässt sich kein Einfluss auf die Vielfalt der Taxa durch das Belastungsereignis erkennen. Die Enclosures der Konzentrationsstufen EB 1 – EB 4 folgen in ihrem Verlauf in Bezug auf die Taxavielfalt über die Versuchsdauer hinweg annähernd den Kontrollbereichen. Die Zahlen der vorgefundenen Taxa der restlichen Konzentrationsstufen EB 5 – EB 8 (100 ng a.i./L bis 1000 ng a.i./L KaZ) nähern sich erst wieder ab Tag 55 den Zahlen in den Kontrollen an.

**3.1.2.4 Dominanz – Makroinvertebraten (I)**

Die Verteilung der einzelnen Taxa innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft zeigt sich über die Dominanzverhältnisse. Durch sie wird die Gewichtung der einzelnen Taxa innerhalb der Gesellschaft deutlich (Tab. 16).

**Tab. 16: Dominanzverhältnisse innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon; 10 häufigste Taxa der Kontrollbereiche (MW), sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.**

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse	Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse
<i>Chaoborus crystallinus</i>	42,6	eudominant	<i>Chaoborus crystallinus</i>	32,9	eudominant
<i>Cloeon dipterum</i>	16,1	dominant	Naididae	17,0	dominant
Naididae	13,6	dominant	Zygoptera	13,3	dominant
Zygoptera	7,9	subdominant	<i>Cloeon dipterum</i>	9,5	subdominant
Chironomidae	5,8	subdominant	Chironomidae	7,1	subdominant
<i>Pisidium</i> spp.	3,7	subdominant	Planorbidae	5,0	subdominant
<i>Plea leachi</i>	2,5	rezedent	<i>Pisidium</i> spp.	4,3	subdominant
Planorbidae	2,2	rezedent	<i>Plea leachi</i>	3,0	rezedent
<i>Tubifex</i> spp.	2,0	rezedent	<i>Tubifex</i> spp.	2,5	rezedent
Tanypodinae	1,2	rezedent	Anisoptera	2,0	rezedent

Gemittelt über den Versuchszeitraum dominiert innerhalb der Ordnung der Diptera mit Abstand *Chaoborus crystallinus* die Testsysteme. Sowohl in den Kontrollen mit einem Anteil von 42,6 %, als auch in den belasteten Enclosures mit 32,9 %. Des Weiteren stellen *Cloeon dipterum*, Naididae, Zygoptera, Chironomidae, *Pisidium* spp. und Planorbidae den weiteren Anteil der häufigsten Taxa innerhalb der Testsysteme. Im Vergleich zu diesen Taxa treten die Taxa *Plea leachi*, *Tubifex* spp. sowie Tanypodinae (in den Kontroll-Enclosures) bzw. Anisoptera (in den belasteten Enclosures) in nennenswerter Abundanz über den

Versuchszeitraum hinweg auf, nehmen jedoch mit einer Dominanz  $> 3,1 \%$  nur eine rezedente Rolle innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft ein.

Die strukturellen Veränderungen der Dominanzverhältnisse innerhalb der Gesellschaft für die Ordnungen der Makroinvertebraten werden im zeitlichen Verlauf in den Grafiken in Abb. 8 veranschaulicht.



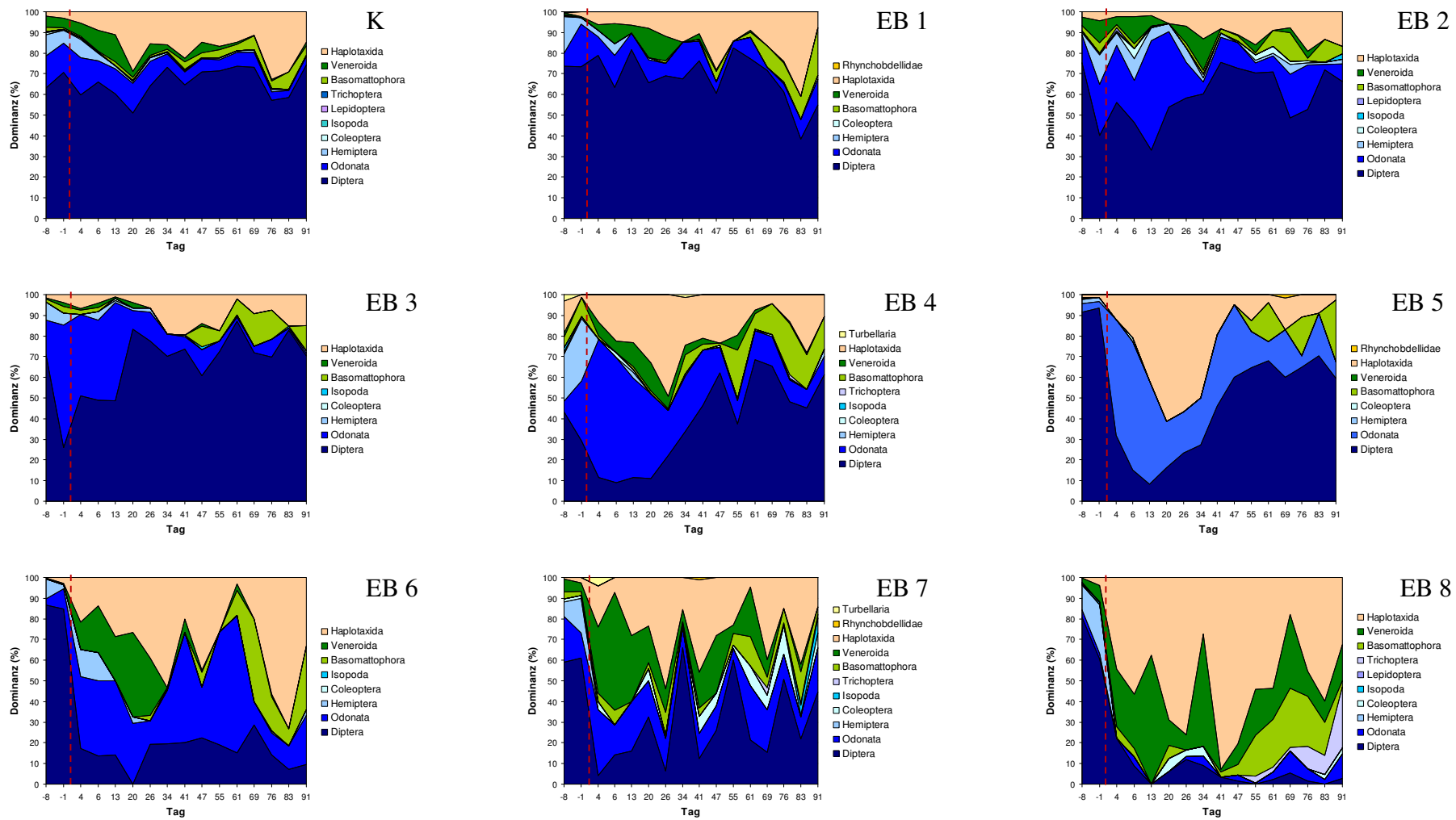


Abb. 8: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

--- = Applikation.

Anhand der Grafiken lässt sich die Zusammensetzung in den einzelnen Versuchskompartimenten (Kontrollen, EB 1 – EB 8) sowohl in der Vorbelastungsphase, als auch nach Applikation des Insektizids, verfolgen.

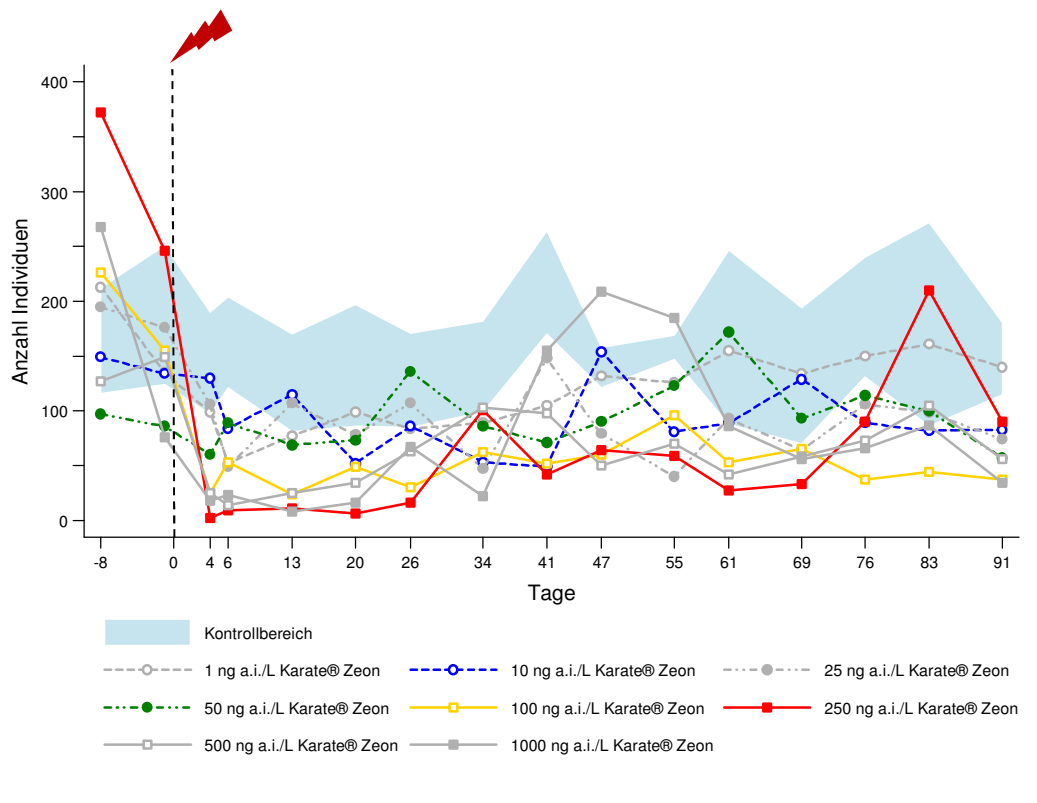
Vor der Applikation des Insektizids zeigt sich mit Ausnahme des Enclosures der späteren Konzentrationsstufe EB 4 ein annähernd identisches Bild. Die Arten der Ordnung Diptera nehmen in diesem Zeitraum den anteilmäßig größten Stellenwert ein. In nennenswerter Zahl finden sich außerdem vor allem Individuen der Ordnungen Odonata, Hemiptera, Basomattophora, Veneroida und Haplotaxida. Für den Enclosure EB 4 lässt sich in der Vorbelastungsphase zwar auch eine Eudominanz der Dipteren feststellen, diese ist jedoch im Vergleich zu den anderen Testkompartimenten weniger ausgeprägt.

Nach der Applikation des Insektizids tritt eine schnelle Veränderung der Artenzusammensetzung in den belasteten Enclosures ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ (EB 4 bis EB 8) ein. Diese ist bereits ab Tag 4 nach dem Eintrag deutlich sichtbar. Insbesondere die Individuen der Ordnung Diptera nehmen in ihrer Abundanz rapide ab und verlieren ihre eudominante Stellung innerhalb dieser belasteten Systeme. In den Kompartimenten mit 50 ng a.i./L KaZ (EB 4) und 100 ng a.i./L KaZ (EB 5) hält der Rückgang der Dipteren-Population über einen Zeitraum von knapp vier Wochen an. Ab Tag 34 lässt sich eine langsame Erholung der Population verzeichnen, so dass sie gegen Ende der Studie in diesen beiden Kompartimenten wieder dominiert. Für die Kompartimente EB 6 (250 ng a.i./L KaZ) und EB 8 (1000 ng a.i./L KaZ) hingegen kann keine Erholung nach der Belastung festgestellt werden. In diesen Enclosures wird die Population der Diptera aufgrund ihrer Einbußen durch den Chemikalieneintrag dauerhaft durch andere Taxa ersetzt. Hauptsächlich profitieren die Ordnungen Haplotaxida, Veneroida und Odonata durch die Störung des Systems und nehmen im Zuge der strukturellen Veränderungen in ihrer Abundanz zu. Des Weiteren kann ein anteilmäßiger Zuwachs der Basomattophora dokumentiert werden. Diese Ordnung gewinnt auch innerhalb der Kontrollkompartimente ab Tag 41 an Dominanz.

Eine Sonderstellung nimmt der Enclosure der Konzentrationsstufe EB 7 ein. In diesem Kompartiment schwanken die Gesellschaftsanteile über den gesamten Versuchszeitraum sehr stark, so dass keine eindeutige Aussage über etwaige Effekte aufgrund der PSM-Applikation getroffen werden kann.

### 3.1.2.5 Abundanz – Makroinvertebraten (I)

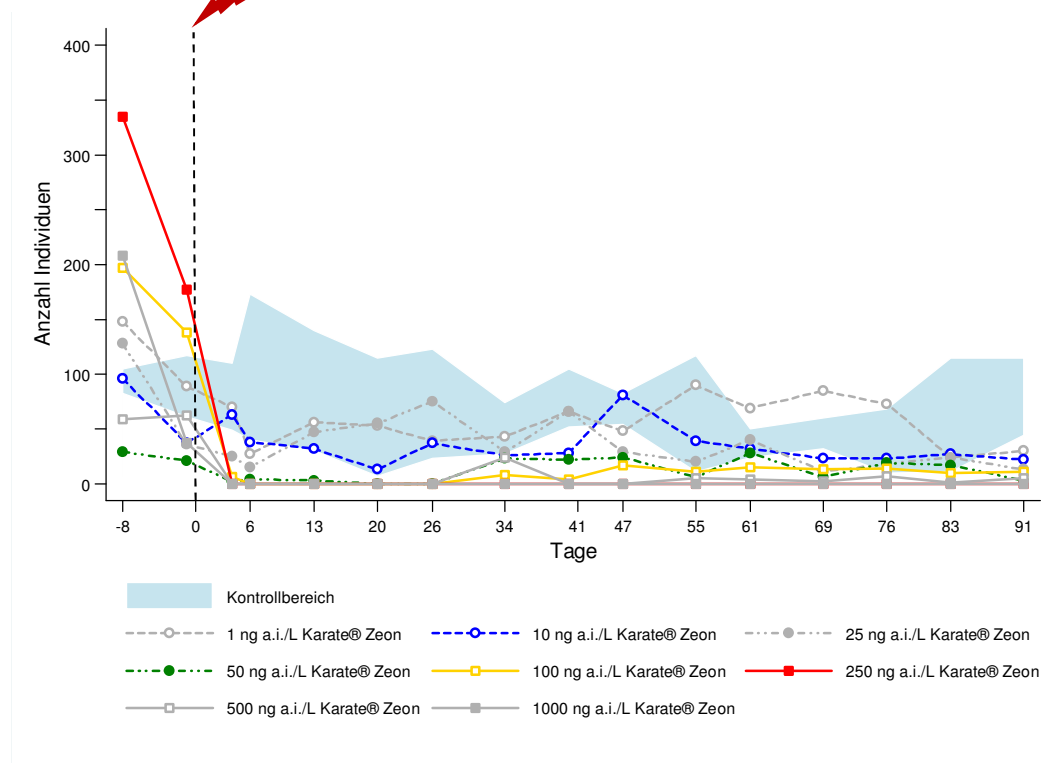
#### Gesamtabundanz – Makroinvertebraten (I)



**Abb. 9:** Entwicklung der Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

In Bezug auf die Gesamtabundanz zeigen sich in den belasteten Enclosures nach der Insektizid-Applikation durchwegs niedrige Werte. Sie liegen größtenteils deutlich unter den Zahlen der unbelasteten Referenzenlosures oder erreichen diese nur in deren Minimalbereich. Direkt nach der Belastung gehen die Individuenzahlen in den Kompartimenten der Belastungsstufen EB 4 – EB 8 (ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ) stark zurück und liegen an Tag 4 bereits deutlich unterhalb der Kontrollen. Bis zum Ende der Studie zur Einzelwirkung von KaZ kann für die Makroinvertebratengesellschaft in Bezug auf die Gesamtindividuenzahlen nur in der geringsten Stufe mit einer KaZ-Applikation von 1 ng a.i./L eine vollständige Erholung (ab Tag 61) festgestellt werden. (Abb. 9)

*Chaoborus crystallinus* (I)



**Abb. 10:** Entwicklung der Abundanz der *Chaoborus crystallinus*-Population (Larvalstadien I-IV) in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

Die Betrachtung des zeitlichen Verlaufs der Abundanz der Büschelmückenlarve *Chaoborus crystallinus* (Abb. 10) zeigt für die Belastungsstufen EB 1 und EB 2 (1 ng a.i./L bzw. 10 ng a.i./L KaZ) keine Auswirkungen.

Ab einer Konzentration von 25 ng a.i./L (EB 3) tritt zunehmend eine toxische Wirkung auf die Organismen dieser Art ein. Der Rückgang der Individuenzahlen fällt in den fünf höchsten Konzentrationsstufen (50, 100, 250, 500 und 1000 ng a.i./L KaZ) besonders stark aus. Ab Tag 4 sinken die Larvenzahlen in diesen Kompartimenten auf unter 10 Individuen/Enclosure. An den beiden darauffolgenden Probennahmetagen lassen sich noch Einzelfunde des unempfindlichsten Larvenstadiums instar IV in dem mit 50 ng a.i./L applizierten Enclosure (EB 4) finden. In allen höheren Belastungsstufen (EB 5 – EB 8) bleiben die Fänge der *Chaoborus*-Larven im Folgenden bis einschließlich Tag 26 gänzlich aus.

Nicht nur der rapide Rückgang der *Chaoborus*-Larven, sondern auch die Wiederbesiedelung der belasteten Kompartimente durch diese Art folgt entlang des Konzentrationsgradienten. Für die Konzentrationsstufe EB 3 mit einer Applikationsmenge von 25 ng a.i./L KaZ können bereits ab Tag 13 Abundanzen verzeichnet werden, welche denen der Kontrollenclosures

entsprechen. In den Stufen EB 4 und EB 5 (50 und 100 ng a.i./L KaZ) zeichnet sich ab Tag 34 eine Wiederbesiedelung durch *Chaoborus crystallinus* ab. Für die drei höchsten Konzentrationsstufen EB 6 bis EB 8 (250, 500 und 1000 ng a.i./L KaZ) kann bis zum Ende der Mesokosmenstudie keine Erholung festgestellt werden. Auffällig ist insbesondere der komplette Wegfall der Art in den Enclosures der Belastungsstufen EB 6 und EB 8 (250 ng a.i./L sowie 1000 ng a.i./L) ab dem Applikationszeitpunkt bis hin zum Ende des Studienverlaufs.

Die ermittelte NEC für *Chaoborus crystallinus* bei einer KaZ-Einzelbelastung beträgt **2,7 ng a.i./L KaZ**.

*Cloeon dipterum* (I)

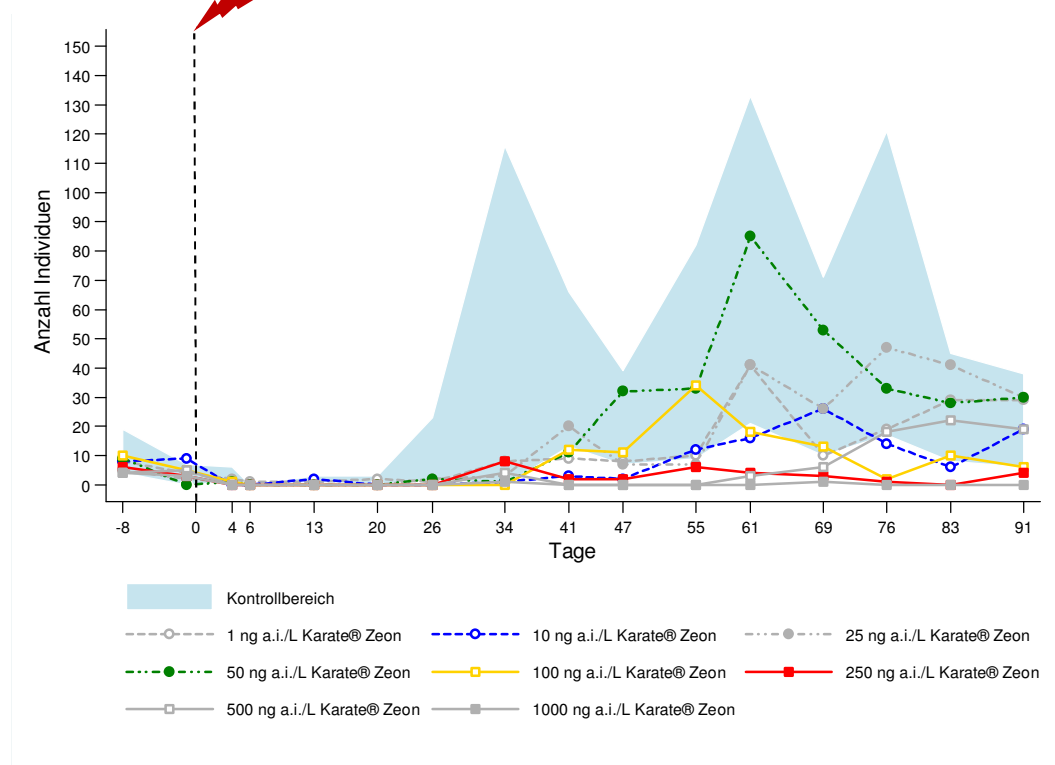


Abb. 11: Entwicklung der Abundanz der *Cloeon dipterum*-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

Aufgrund des Lebenszyklus der Eintagsfliege *Cloeon dipterum* finden sich zum Zeitpunkt der PSM-Applikation kaum Larven in den Testkompartimenten. Dies spiegelt sich in den Abundanzzahlen sowohl in der Vorbelastungsphase als auch in den Kontrollkompartimenten nach Eintrag des PSM wieder.

Anhand des Wiederbesiedelungspotentials durch das Auftreten der zweiten Generation der *Cloeon dipterum*-Larven zeigen sich jedoch unterschiedliche Entwicklungen in den belasteten Enclosures (Abb. 11). So steigen die Individuenzahlen in den vier Kontrollenclosures ab Tag 20 rapide an. In den belasteten Kompartimenten hingegen erfolgt das Auftreten der Sommergeneration verzögert. Erst ab Tag 34 lassen sich Larven von *Cloeon dipterum* in nennenswerten Zahlen in den insektizidbelasteten Enclosures finden. Während die Abundanzen in den Enclosures der Konzentrationsstufen EB 1 bis EB 5 (bis einschließlich 100 ng a.i./L KaZ) ab diesem Zeitpunkt weitestgehend denen der Kontrollenclosures entsprechen, erholt sich die *Cloeon*-Population in der Belastungsstufe EB 7, mit einer Applikationsmenge von 500 ng a.i./L KaZ, erst ab Tag 76. Die Individuenzahlen in den Enclosures mit einer Belastung von 250 ng a.i./L KaZ (EB 6) sowie 1000 ng a.i./L KaZ (EB 8)

weisen hingegen bis zum Ende der Mesokosmenstudie nur Einzelfunde an *Cloeon dipterum* auf.

Für *Cloeon dipterum* liegt die NEC bei **68,9 ng a.i./L KaZ**.

### 3.1.3 ZOOPLANKTON (I)

Die erfasste Zooplanktongesellschaft der Mesokosmenstudie I umfasst die beiden Stämme Arthropoda und Rotifera. Die 12 Taxa der Arthropoda lassen sich in die Klassen Branchiopoda (Ordnung Diplostraca mit 9 Taxa), Maxillopoda (Ordnungen Calanoida und Cyclopoida mit jeweils einem Taxon) und Ostracoda (ein Taxon) unterteilen.

Zum Stamm der Rotifera zählen 23 Taxa, welche alle der Klasse der Eurotatoria zugeordnet werden. Zwei Taxa, welche nicht weiter taxonomisch klassifiziert werden konnten, gehören der Unterklasse Bdelloidea an. Zur Unterklasse der Pseudotrocha (Ordnung Flosculariaceae) lassen sich zwei weitere Taxa einordnen. Die restlichen 21 Taxa werden zur Unterklasse der Monogononta (Ordnung Ploima) gezählt. (Tab. 17)

**Tab. 17: Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.**

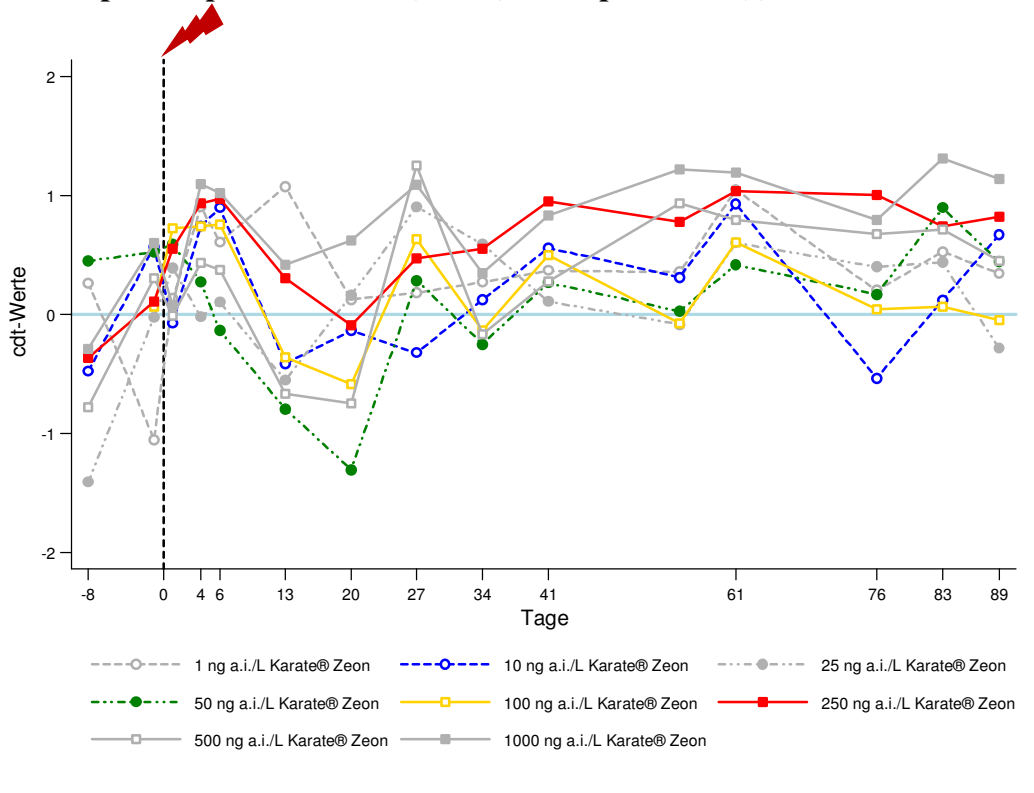
STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON	
ARTHROPODA	BRANCHIOPODA (Unterklasse: Phyllopoda)	DIPLOSTRACA (Unterordnung: Cladocera)	Chydoridae	<i>Acroperus harpae</i>	
				<i>Alona affinis</i>	
				<i>Alonella nana</i>	
				<i>Chydorus sphaericus</i>	
				<i>Graptoleberis testudinaria</i>	
			Daphniidae	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	
				<i>Daphnia longispina</i>	
				<i>Daphnia magna</i>	
				<i>Simocephalus vetulus</i>	
		MAXILLOPODA (Unterklasse: Copoepoda)		Nauplia	
			CALANOIDA	Diaptomidae	<i>Eudiaptomus gracilis</i>
			CYCLOPOIDA	Cyclopidae	Cyclopidae
	OSTRACODA			Ostracoda	



Tab. 17 (Forts.): Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON
ROTIFERA	EUROTATORIA			
	(Unterklasse: Bdelloidea)			<i>Adineta</i> spp.
	(Unterklasse: Pseudotrocha)	FLOSCULARIACEAE	Hexarthridae	<i>Hexarthra mira</i>
	(Unterklasse: Monogononta)	PLOIMA	Testudinellidae	<i>Testudinella patina</i>
			Asplanchnidae	<i>Asplanchna</i> sp.
			Brachionidae	<i>Anuaeropsis fissa</i>
				<i>Keratella cochlearis</i>
				<i>Keratella quadrata</i>
				<i>Keratella</i> sp.
				<i>Platylabus quadricornis</i>
			Euchlanidae	<i>Euchlanis</i> spp.
			Gastropodidae	<i>Ascomorpha</i> spp.
			Lecanidae	<i>Lecane diplostyla</i>
				<i>Lecane monostyla</i>
			Lepadellidae	<i>Lepadella ovalis</i>
				<i>Lepadella patella</i>
			Mytilinidae	<i>Mytilinia mucronata</i>
			Notommatidae	<i>Cephalodella</i> spp.
				<i>Notommata</i> spp.
			Synchaetidae	<i>Polyarthra</i> sp.
			<i>Synchaeta</i> spp.	
		Trichocercidae	<i>Trichocera</i> sp.	
		Trichotriidae	<i>Trichotria pocillum</i>	

### 3.1.3.1 Principal Response Curves (PRCs) – Zooplankton (I)



**Abb. 12: PRC der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon ( $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.**

Die einzelnen Kurven der PRC für die Zooplanktongesellschaft der belasteten Enclosures zeigen bereits vor der Pestizidbelastung eine starke Streuung (Abb. 12). Diese hohe Varianz der cdt-Werte hält über den gesamten Versuchszeitraum hinweg an. Trotz dieses Umstandes ist die PRC insgesamt signifikant ( $p = 0,002$ ). 54% der Gesamtvarianz werden durch die KaZ-Belastung der Testsysteme erklärt. 25% dieser findet sich in der grafischen Darstellung der cdt-Werte wieder. Weitere 32% der Varianz sind durch die unterschiedlichen Beprobungstage bedingt. Tab. 18 kann die Validierung der PRC-Ergebnisse pro Tag entnommen werden. So lassen sich für die belasteten Enclosures der Zooplanktongesellschaft signifikante Unterschiede gegenüber den Referenzenlosures zwischen den Tagen 4 – 27 und 41 – 91 dokumentieren. Eine Dosis-Wirkungsbeziehung ist jedoch nicht erkennbar.

Tab. 18: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon; - : nicht signifikant; \*\*: p < 0,01.

Tag	-8	-1	4	6	13	20	27	34	41	55	61	76	83	91
Signifikanz	-	-	**	**	**	**	**	-	**	**	**	**	**	**

Tab. 19: Species scores (< - 0,5 und > 0,5) der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon.

Taxon	species score	Taxon	species score
<i>Alona affinis</i>	- 2,07	<i>Chydorus sphaericus</i>	- 1,38
<i>Lecane diplostyla</i>	- 2,01	<i>Synchaeta</i> spp.	- 1,30
<i>Polyarthra</i> sp.	- 1,87	Ostracoda	- 1,14
<i>Simocephalus vetulus</i>	- 1,74	<i>Euchlanis</i> spp.	- 1,04
<i>Alona nana</i>	- 1,74	<i>Lecane monostyla</i>	- 0,97
<i>Keratella</i> sp.	- 1,66	<i>Adineta</i> spp.	- 0,73
Cyclopoida	- 1,53	<i>Daphnia longispina</i>	0,86
Nauplia	- 1,42		

Die species scores (Tab. 19) zeigen auf, dass die Populationsdynamik einiger Zooplanktontaxa durch die PSM-Belastung beeinflusst wird. Abgesehen von *Daphnia longispina* erfolgt die Abundanzentwicklung der empfindlichen Taxa invers zum Verlauf der cdt-Werte der PRC.

### 3.1.3.2 No Effect Concentrations (NECs) – Zooplankton (I)

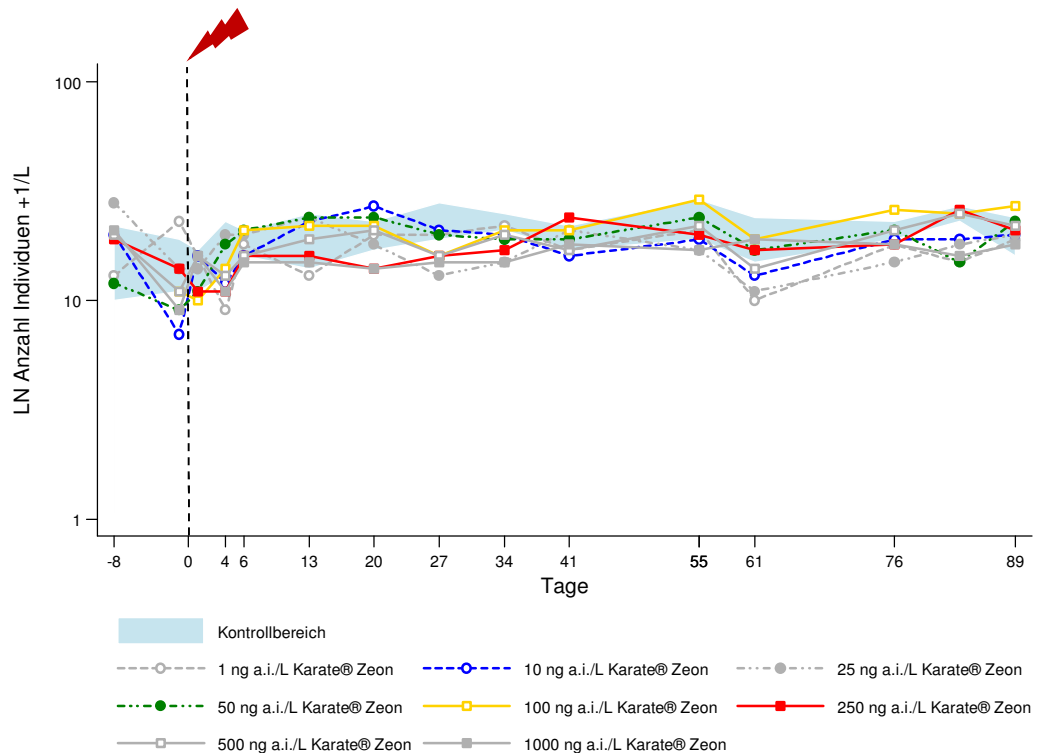
In der Einzelbelastungsstudie mit KaZ ergeben sich für die Zooplanktongesellschaft  $NECs_{Community}$  zwischen **0,27 ng a.i./L** und **579 ng a.i./L** (Tab. 20). Die durchschnittlichen NECs für den Versuchszeitraum betragen **7,21 ng a.i./L**, **61,85 ng a.i./L** und **143,78 ng a.i./L** (untere ( $X_L$ ), mittlere ( $X_O$ ) und obere ( $X_U$ ) Grenze der Abschätzung).

**Tab. 20:** NEC-Analyse mittels Linearer Regression für die Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon;  $X_L$ ,  $X_O$ ,  $X_U$  = untere, mittlere und obere Grenze der berechneten NEC-Abschätzung; fett und kursiv = Minimal- und Maximalwerte.

Tag	Lineare Regression $Y = a + b * (\log X)$	R	p-Wert	NEC (ng a.i./L)		
				$X_L$	$X_O$	$X_U$
20	$Y = - 3,58 + 1,43 (\log X)$	0,99	0,013	5,40	327,49	<b>579</b>
27	$Y = - 1,27 + 0,94 (\log X)$	1,00	0,001	9,83	23,38	55,63
41	$Y = - 0,55 + 0,52 (\log X)$	0,89	0,041	2,57	12,30	58,94
55	$Y = - 1,32 + 0,85 (\log X)$	0,99	0,001	14,33	37,38	97,49
61	$Y = - 0,11 + 0,4 (\log X)$	0,84	0,038	<b>0,27</b>	2,07	15,91
76	$Y = - 0,84 + 0,6 (\log X)$	0,82	0,025	6,89	26,79	104,16
89	$Y = - 1,13 + 0,71 (\log X)$	0,82	0,047	13,08	41,22	129,88
MW				<b>7,21</b>	<b>61,85</b>	<b>143,78</b>

### 3.1.3.3 Biodiversität – Zooplankton (I)

#### Biologische Vielfalt – Zooplankton (I)



**Abb. 13: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Zooplanktontaxa in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.**

In Bezug auf die Vielfalt der Zooplanktontaxa lassen sich kaum Effekte nach der Insektizidbelastung erkennen. Ein leichter Abfall der vorgefundenen Taxa kann jedoch für die vier höchsten Konzentrationsstufen mit 100, 250, 500 und 1000 ng a.i./L KaZ zwischen Tag 20 und Tag 34 verzeichnet werden. Ebenfalls sinkt die Anzahl der Taxa in diesem Zeitraum für den Enclosure der Konzentrationsstufe EB 3 (25 ng a.i./L KaZ). (Abb. 13)

### 3.1.3.4 Dominanz – Zooplankton (I)

Tabelle 21 kann die anteilmäßige Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft innerhalb der Mesokosmenstudie I, sowie die Dominanzklassen der einzelnen Taxa entnommen werden. Die Haupttaxa der Kontrollbereiche stellen die Taxa *Polyarthra* sp. (55,1%), *Nauplia* (29,8 %), *Alona affinis* (4,9%) und *Cyclopoida* (3,2%). Innerhalb der belasteten Kompartimente finden sich hauptsächlich Individuen der *Polyarthra* sp. (50%), *Nauplia* (33%), *Keratella* sp. (3,8%) und *Cyclopoida* (3,5%). Auch die jeweiligen begleitenden Taxa treten in den beiden Gruppen in ähnlicher Gewichtung auf, so dass keine größeren Unterschiede in der strukturellen Zusammensetzung der belasteten Enclosures gegenüber den Kontrollenclosures zu verzeichnen sind. Dies gilt sowohl für die Betrachtung der einzelnen Taxa, als auch für die Großgruppen Rotifera (eudominant), Copepoda (eudominant), Cladocera (subdominant) und Ostracoda (subrezedent (K) bzw. rezedent (EB)).

**Tab. 21: Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon;** 10 häufigste Taxa der Kontrollbereiche (MW) sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Taxa	Dominanz (%)	Dominanzklasse	Taxa	Dominanz (%)	Dominanzklasse
<i>Polyarthra</i> sp.	55,1	eudominant	<i>Polyarthra</i> sp.	50,0	eudominant
Nauplia	29,8	dominant	Nauplia	33,0	eudominant
<i>Alona affinis</i>	4,9	subdominant	<i>Keratella</i> sp.	3,8	subdominant
Cyclopoida	3,2	subdominant	Cyclopoida	3,5	subdominant
<i>Keratella</i> sp.	1,9	rezedent	<i>Alona affinis</i>	3,1	rezedent
<i>Lecane diplostyla</i>	1,6	rezedent	<i>Keratella quadrata</i>	2,4	rezedent
<i>Simocephalus vetulus</i>	0,9	subrezedent	Ostracoda	1,0	rezedent
Ostracoda	0,6	subrezedent	<i>Lecane diplostyla</i>	0,6	subrezedent
<i>Chydorus sphaericus</i>	0,4	subrezedent	<i>Simocephalus vetulus</i>	0,5	subrezedent
<i>Alonella nana</i>	0,4	subrezedent	<i>Chydorus sphaericus</i>	0,4	subrezedent
Rotifera	59,5	eudominant	Rotifera	57,4	eudominant
Copepoda	33,2	eudominant	Copepoda	36,8	eudominant
Cladocera	6,6	subdominant	Cladocera	4,7	subdominant
Ostracoda	0,6	subrezedent	Ostracoda	1,0	rezedent

Abbildung 14 liefert die zeitliche Entwicklung dieser vier Großgruppen innerhalb der Textsysteme. Die Betrachtung zeigt, dass die Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft bereits in der Vorbelastungsphase innerhalb der Testkompartimente deutliche Unterschiede aufweist. Während in den Kompartimenten K, EB 2, EB 3, EB 6 und EB 8 die Gruppe der

Rotifera eindeutig die größte Dominanz aufweist, werden die Kompartimente EB 1, EB 4 und EB 7 durch die Gruppe der Copepoda bestimmt. Für die Konzentrationsstufe EB 5 stellen die Individuen der Rotifera zwar den größten Anteil, jedoch treten hier sowohl die Gruppe der Ostracoda als auch die Gruppe der Copepoda zusätzlich in den Vordergrund.

Trotz dieser Schwankungsbreite lassen sich über den Verlauf der Studie aufgrund der Dominanzentwicklung leichte konzentrationsabhängige Veränderungen nach der Applikation des PSM erkennen. Zu Beginn folgt die Entwicklung der Zooplanktongesellschaft in allen belasteten Kompartimenten weitestgehend der der Kontrollkompartimente. So lässt sich ab Tag 6 in allen Testkompartimenten ein Anstieg der Copepoden-Dominanz zu Lasten der Rotifera-Population verzeichnen. Gegen Ende der Studie sinkt der prozentuale Anteil der Copepoda-Population deutlich innerhalb der Kontrollkompartimente, sowie den belasteten Enclosures EB 1 bis EB 4, so dass an Tag 89 wiederum die Gruppe der Rotifera mit Abstand diese Systeme dominiert. Für die vier höchsten Konzentrationsstufen EB 5 bis EB 8 zeigt sich dieser Rückgang der Copepoden-Population hingegen nicht. Die Gruppe der Rotifera weist in diesen Kompartimenten auch am letzten Probennahmetag (Tag 89) neben der Gruppe der Ostracoda eine sehr geringe Dominanz auf.



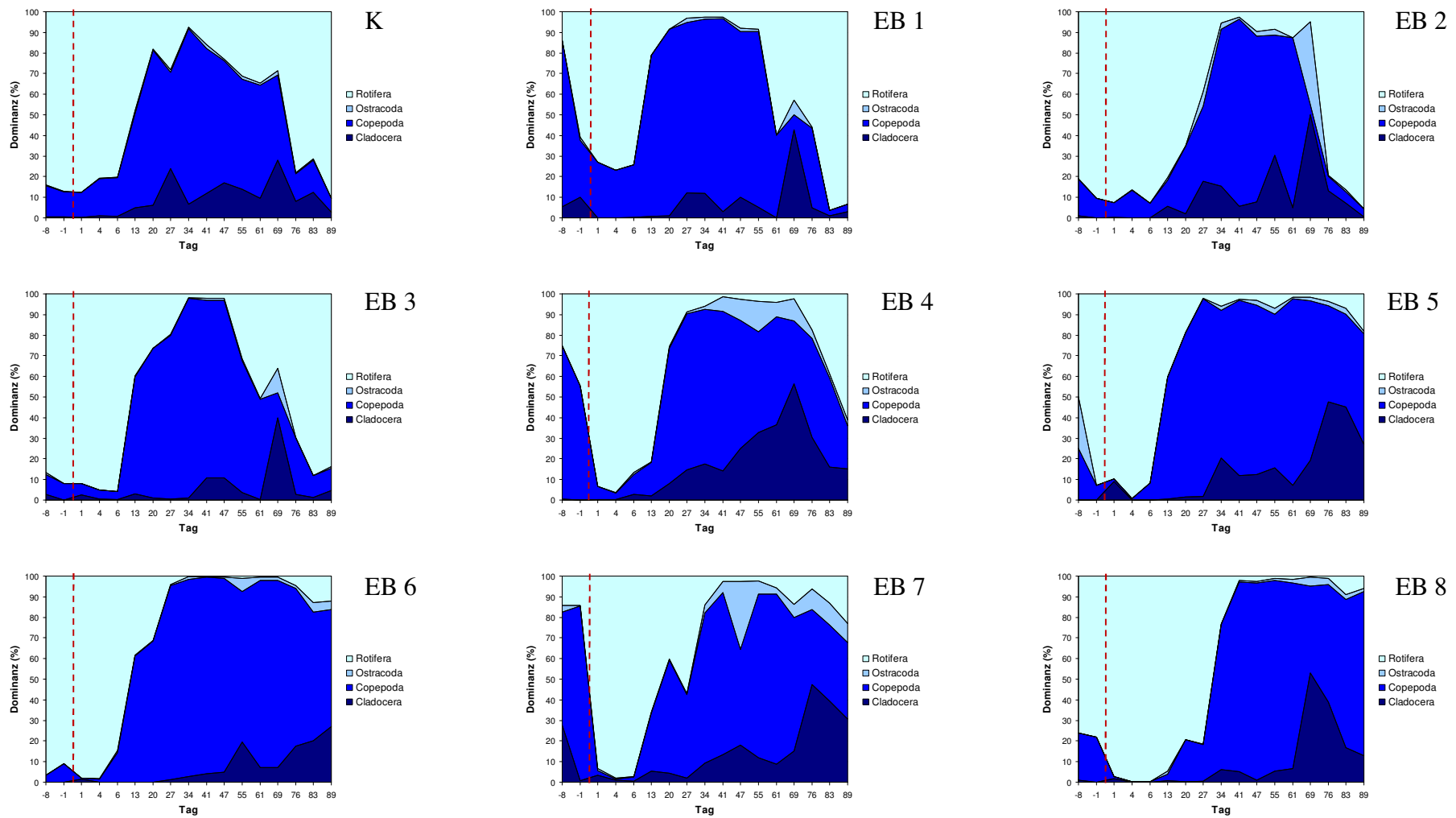
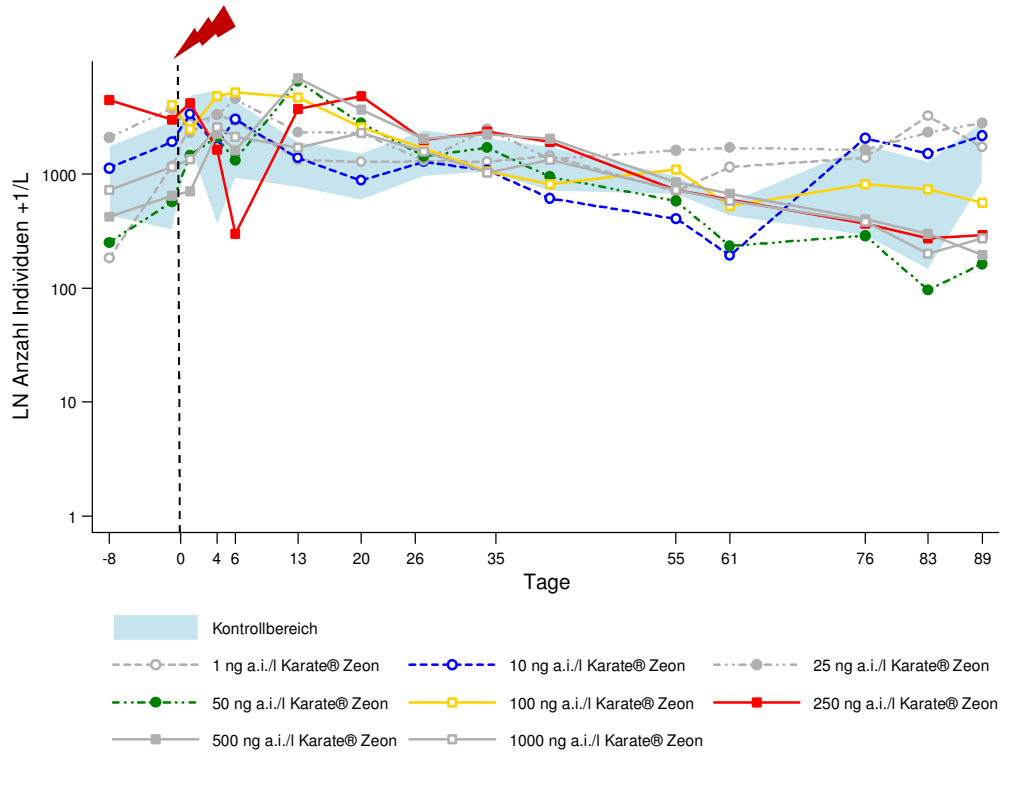


Abb. 14: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

--- = Applikation

### 3.1.3.5 Abundanz – Zooplankton (I)

#### Gesamtabundanz – Zooplankton (I)



**Abb. 15:** Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

Für die Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft lässt sich nur für die Belastungsstufe EB 6 mit 250 ng a.i./L KaZ ein Effekt aufgrund des Insektizideintrags nachweisen. In diesem Enclosure fallen die Gesamtindividuenzahlen ab Tag 4 im Vergleich zu den anderen Enclosures deutlich ab, so dass sie an Tag 6 deutlich unterhalb des Kontrollbereichs liegen. Eine Erholung dieses Systems tritt zwei Wochen nach Applikation ab Tag 13 ein. Alle weiteren belasteten Kompartimente zeigen für die Gesamtabundanz des Zooplanktons keinen Einfluss durch die Applikation. (Abb. 15)

Cyclopoida (I)

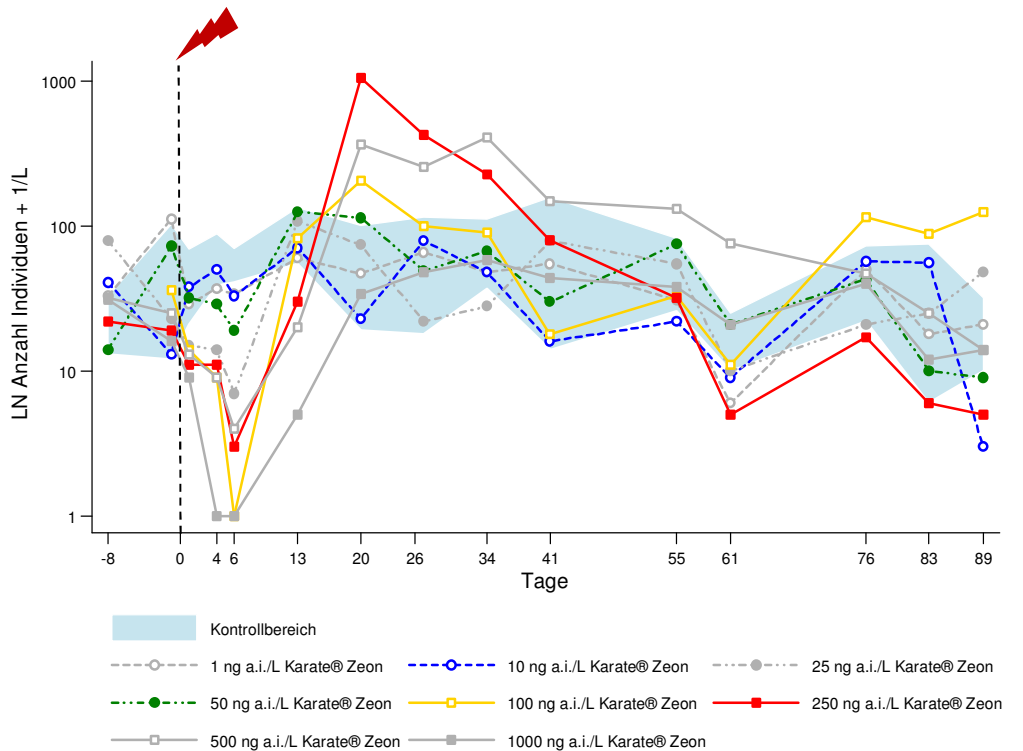
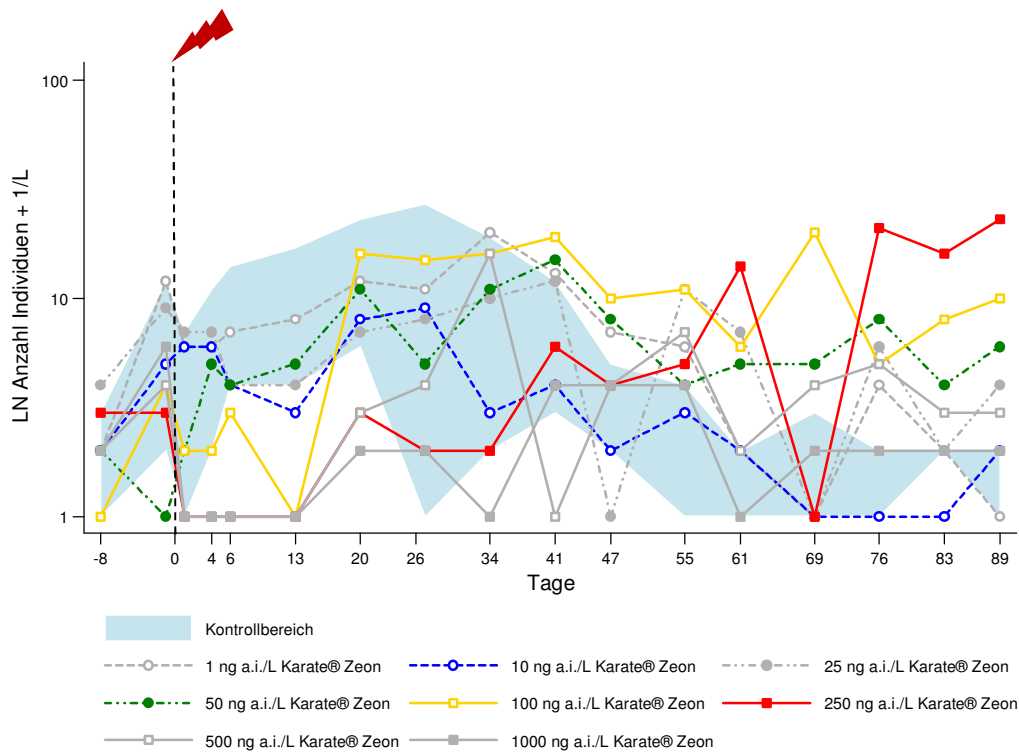


Abb. 16: Entwicklung der Abundanz der Cyclopoida-Population (Adulte + Copepoditstadien) in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

Die Vertreter der Copepoden-Ordnung Cyclopoida nehmen nach der KaZ-Applikation ab einer Konzentrationsstufe von 25 ng a.i./L in ihrer Abundanz ab (Abb. 16). Für die Enclosures mit einer Insektizidbelastung von 100 ng a.i./L bis 1000 ng a.i./L KaZ ist ein starker Rückgang der Cylcopoiden-Zahlen zu erkennen. Eine Erholung tritt für die Konzentrationsstufen EB 3 – EB 5 an Tag 13 sowie an Tag 20 für die Kompartimente EB 6 – EB 8 ein.

Die NEC für die Population der **Cyclopoida** beträgt **10,7 ng a.i./L KaZ**.

**Calanoida (I)**

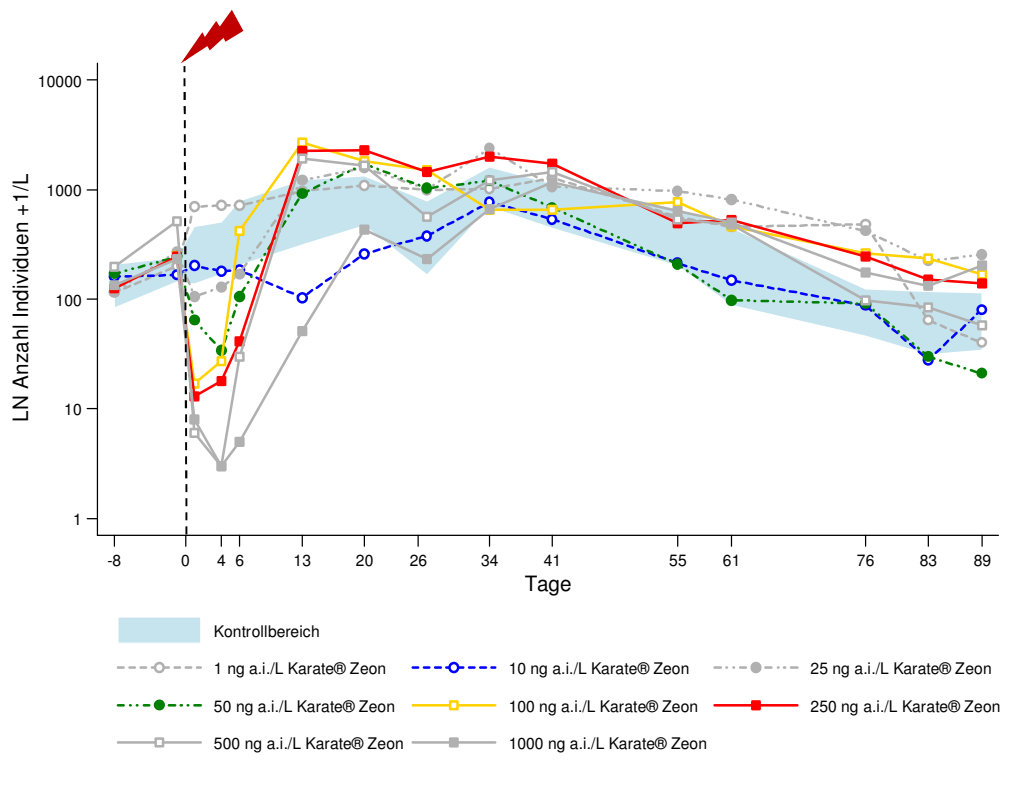


**Abb. 17: Entwicklung der Abundanz der Calanoida-Population (Adulte + Copepoditstadien) in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.**

Auch die Population der Calanoida, ein weiterer Vertreter der Copepoden-Gruppe, zeigt sich empfindlich gegenüber der Insektizidapplikation. Ab einer Konzentration von 100 ng a.i./L KaZ tritt ein starker Rückgang der Abundanzen ein, welcher über drei- bis vier Wochen hinweg anhält. (Abb. 17)

Die **NEC** für die Population der **Calanoida** beträgt **76,1 ng ai./L KaZ**.

**Nauplia (I)**



**Abb. 18: Entwicklung der Abundanz der Nauplia-Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.**

Für die Nauplius-Larven der Copepoda fallen die Effekte aufgrund der PSM-Belastung deutlicher aus. Ab Tag 1 sinken die Abundanzen der Nauplia in den belasteten Kompartimenten EB 3 – EB 8 deutlich unter die Werte des Kontrollbereichs. Während für die Kompartimente EB 3 – EB 7 bereits ab Tag 13 eine vollständige Erholung des Taxons dokumentiert werden kann, benötigt die Erholung der Belastungsstufe EB 8 (1000 ng a.i./L KaZ) eine weitere Woche. Ab diesem Zeitpunkt gleichen die Individuenzahlen aller belasteten Kompartimente bis zum Ende der Studie den Werten der Referenzenclosures.

Die ermittelte NEC der **Nauplia** liegt bei **30,4 ng a.i./L KaZ**.

*Daphnia longispina* (I)

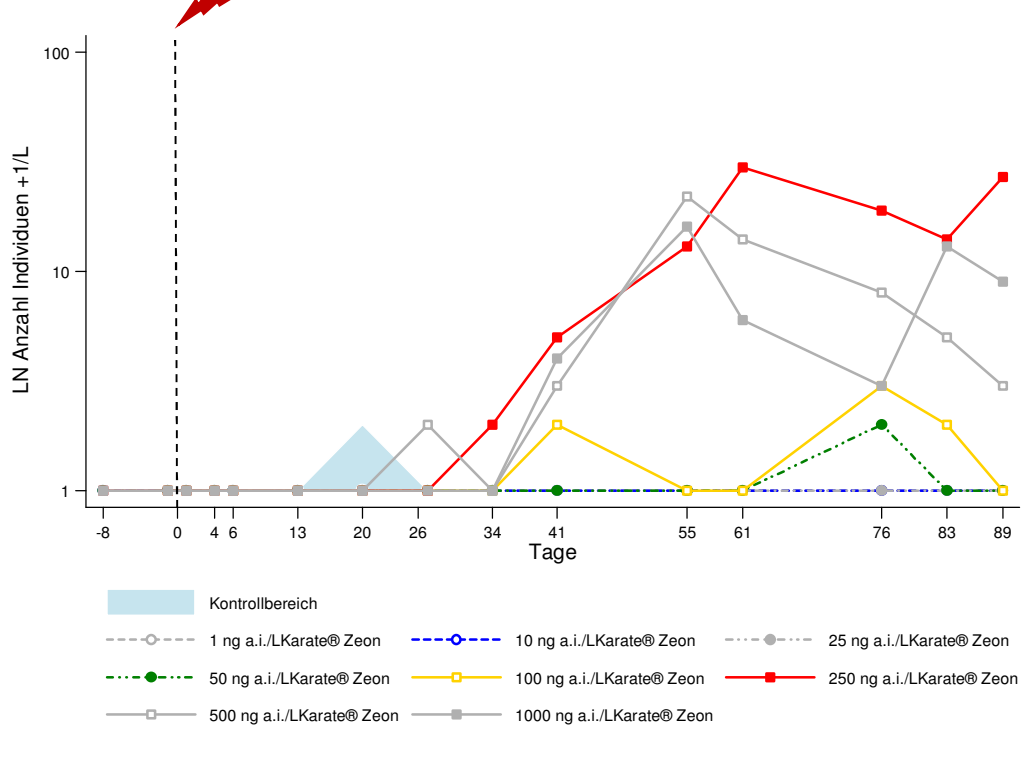
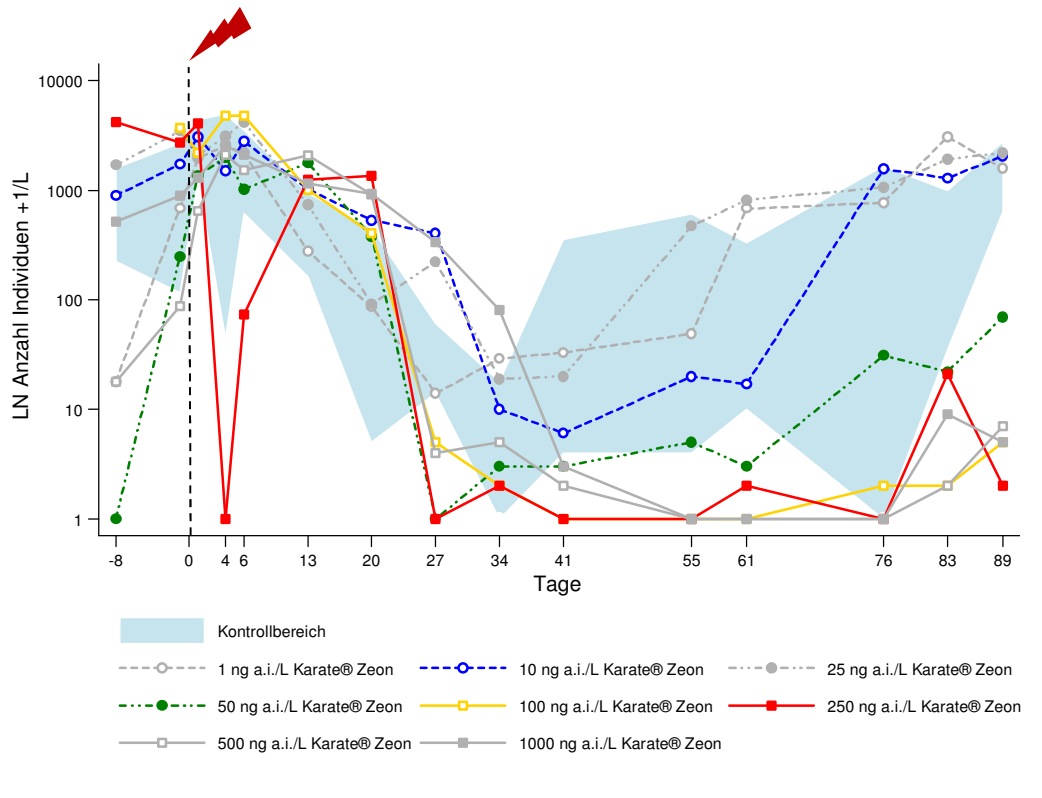


Abb. 19: Entwicklung der Abundanz der *Daphnia longispina* -Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.

Für *Daphnia longispina* treten deutliche Effekte ab einer KaZ-Konzentration von 100 ng a.i./L (EB 5 bis EB 8) auf. Diese sind ab Tag 34 in Form markant steigender Individuenzahlen zu erkennen. (Abb. 19)

Eine NEC konnte aufgrund des nur periodisch auftretenden Vorkommens der Daphnien-Population nicht ermittelt werden.

*Polyarthra* sp. (I)



**Abb. 20: Entwicklung der *Polyarthra* sp. –Population in der Einzelbelastungsstudie mit Karate® Zeon im zeitlichen Verlauf.**

Direkte toxische Effekte sind für die Rotatorie *Polyarthra* sp. nur in der Belastungsstufe EB 6 mit einer Applikationsmenge von 250 ng a.i./l KaZ an Tag 4 (Rückgang auf 0 Individuen/L) nachzuweisen. Jedoch spielen sekundäre Effekte mit ansteigender Pyrethroidkonzentration ab Tag 41 eine Rolle. In den Enclosures der Belastungsstufen EB 5 bis EB 8 treten ab diesem Zeitpunkt bis zum Ende der Studie deutlich erniedrigte (bis zu 0 Individuen/L) Abundanzwerte auf.

Die NEC für *Polyarthra* sp. beträgt **89,1 ng a.i./L KaZ**.





### 3.2 MESOKOSMOS II

#### KOMBINATIONSBELASTUNG BEI ZEITGLEICHER APPLIKATION

##### 3.2.1 ANALYTIK (II)

Eine Stunde nach Applikation der Testsubstanzen konnte anhand der Rückstandsanalytik noch kein direkter Bezug zu den nominal eingebrachten Konzentrationen der beiden Wirkstoffe in den Testsystemen gefunden werden (Tab. 22).

**Tab. 22: Ergebnisse der Rückstandsanalytik der beiden PSM-Wirkstoffe ( $\mu\text{g/L}$ ), eine Stunde nach Applikation.**

Wirkstoffe ( $\mu\text{g/L}$ )	Z1a	Z1b	Z2a	Z2b	Z3a	Z3b	Z4a	Z4b
Lambda- Cyhalothrin	0,04	0,03	0,12	0,14	0,07	0,15	0,42	0,32
Mesotrione	164	131	146	124	40,3	118	128	138

### 3.2.2 PHYSIKALISCHE PARAMETER (II)

#### 3.2.2.1 Principal Response Curves (PRCs) – Physik (II)

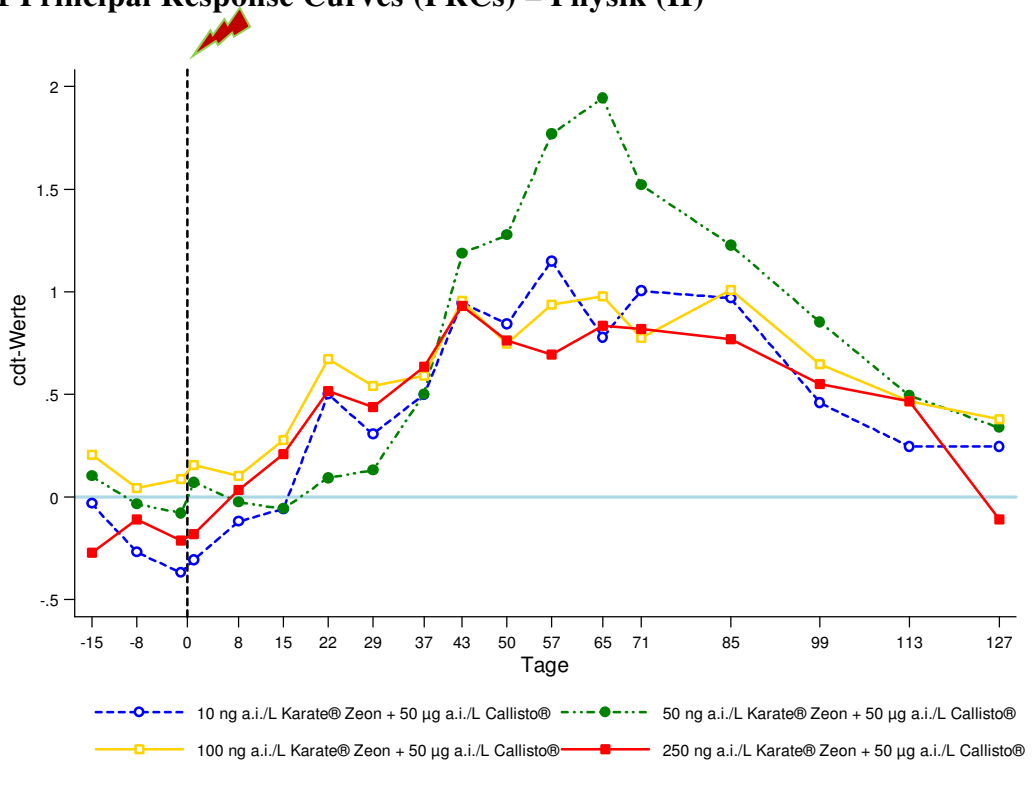


Abb. 21: PRC der Physikalischen Parameter pH, LF ( $\mu\text{S}/\text{cm}^3$ ), T ( $^{\circ}\text{C}$  a. d. Oberfläche,  $\text{O}_2$  ( $\text{mg}/\text{L}$  a. d. Oberfläche, sowie in 1m Tiefe)) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

Im Vergleich zur Einzelbelastung des Insektizids KaZ (vgl. Punkt 3.1.1) tritt bei zusätzlicher Applikation des Herbizids C zum gleichen Zeitpunkt eine Veränderung der physikalischen Parameter aufgrund der Pestizidbelastung auf (Abb. 21). Die PRC ist mit einem p-Wert von 0,002 über den gesamten Versuchszeitraum hinweg signifikant. Tabelle 23 schlüsselt diejenigen Tage an denen sich die belasteten Kompartimente von den unbelasteten Referenzen signifikant unterscheiden einzeln auf. Die Analyse deckt ab Tag 1 bis zum Ende der Studie an Tag 112 durchgängig signifikante Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen auf. 21,5% der Gesamtvarianz können durch die kombinierte Pestizidbehandlung erklärt werden, 59% dieser Varianz spiegeln sich in der PRC-Grafik (Abb. 21) wider. Weitere 59,5% der Gesamtvarianz liegen in den zeitlichen Unterschieden der Probennahmetage begründet.

In die Berechnung der PRC wurden die Physikalischen Parameter pH, LF, T an der Oberfläche, sowie O<sub>2</sub> an der Oberfläche und in 1 m Tiefe eingebunden. Die Betrachtung der Grafik lässt erkennen, dass sich ein greifbarer Effekt auf die Kombinationsbelastung erst einige Tage nach der Applikation der beiden PSM einstellt. Ein Anstieg der cdt-Werte erfolgt in den Kompartimenten Z1, Z3 und Z4 (10, 100 und 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ab Tag 22. Die cdt-Werte dieser drei Belastungsstufen zeigen über den gesamten Versuchsverlauf hinweg einen annähernd identischen Entwicklungsverlauf. Ab Tag 99 nehmen die cdt-Werte kontinuierlich ab, so dass sie gegen Ende der Studie weitestgehend den Ausgangswerten vor der Belastung entsprechen. Der Verlauf der cdt-Werte in der Belastungsstufe Z2 mit einer Applikationsmenge von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C nimmt hingegen eine Sonderstellung ein. Im Vergleich zu den drei anderen Belastungsstufen steigen die cdt-Werte in dieser Stufe bis einschließlich Tag 65 deutlich über die Werte der anderen Kompartimente hinaus an. Ab Tag 71 sinken die cdt-Werte jedoch auch in dieser Belastungsstufe. So ist gegen Ende der Studie auch in den Kompartimenten der Belastungsstufe Z2 eine Erholung des Systems in Bezug auf die physikalischen Parameter zu erkennen.

**Tab. 23: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* : p < 0,05, \*\* : p < 0,01.**

Tag	-15	-8	-1	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
Signifikanz	-	-	-	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	*	*	**

Eine NOEC<sub>Physik</sub> konnte nicht ermittelt werden, da diese unterhalb der getesteten Konzentrationsstufen Z1 – Z4 liegt (Tab. 24).

Tab. 24: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ).

Tag	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
NOEC <sub>Physik</sub>	Z2		<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	Z1+2 sig	<Z1		Z1	<Z1	

Anhand der species scores für die berechnete PRC, zeigt sich ein Einfluss auf die physikalischen Parameter pH, Sauerstoffgehalt und Leitfähigkeit (Tab. 25).

Tab. 25: Species scores der Physikalischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

Parameter	Species score
pH-Wert	-0,82
O <sub>2</sub> (mg/L) an der Oberfläche	-0,64
Leitfähigkeit ( $\mu\text{S}/\text{cm}^3$ )	1,96

Die belasteten Kompartimente weichen über den gesamten Versuchszeitraum in ihren Temperaturamplituden nicht von denen der Kontrollbereiche ab. Auch der zeitliche Verlauf der Sauerstoffsättigung zeigt keine nennenswerte Beeinflussung durch die zeitgleiche Applikation der PSM KaZ und C, so dass für diese Parameter auf eine grafische Darstellung der Ergebnisse verzichtet wurde. Für die Parameter Leitfähigkeit und pH-Wert treten im Verlauf der Mesokosmenstudie II jedoch Effekte zum Vorschein. Die species scores von 1,96 für die elektrische Leitfähigkeit, sowie von - 0,82 für den pH-Wert (Tab. 25) weisen bereits auf eine Korrelation zwischen dem Eintrag der Chemikalienmischung und dem Verlauf der Entwicklung dieser Parameter hin.

### 3.2.2.2 Entwicklung der physikalischen Parameter (II)

#### Sauerstoff (mg/L) (II)

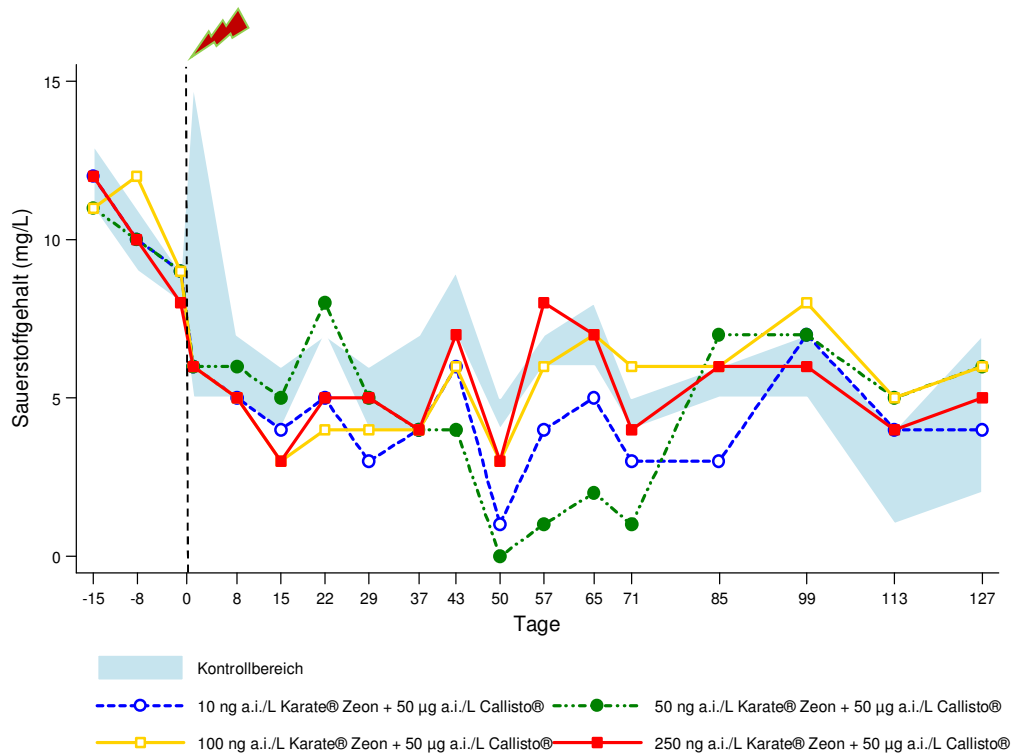


Abb. 22: Entwicklung des Sauerstoffgehalts (mg/L) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

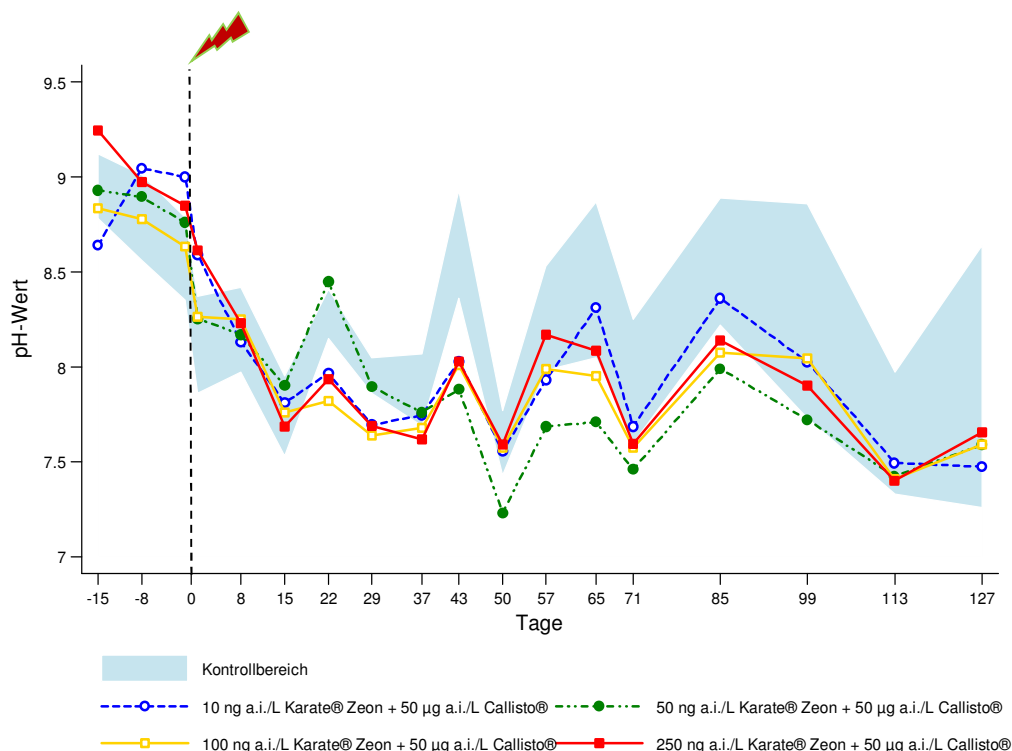
Tab. 26: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Sauerstoffgehalt (mg/L) in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : absinkende Werte; (↑) : steigende Werte.

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
NOEC <sub>O2</sub>				Z2			Z1	<Z1					Z2		Z2
				(↓)			(↓)	(↓)					(↓)		sign.

Bezüglich des Sauerstoffgehalts lassen sich nach Applikation der PSM-Mischung ab Tag 15 niedrigere Werte innerhalb der belasteten Kompartimente verzeichnen. Signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und belasteten Enclosures treten nur sporadisch auf (Tab. 26). Ferner lässt sich für diesen Parameter innerhalb der Studie keine Dosis-Wirkungsbeziehung erkennen (Abb. 22).

Die  $\text{NOEC}_{\text{O}_2}$  entspricht in diesem Fall der ersten Belastungsstufe mit einer Mischungskonzentration von **10 ng a.i./L KaZ + 50  $\mu\text{g}$  a.i./L C**.

**pH-Wert (II)**



**Abb. 23:** Entwicklung des pH-Wertes bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 27:** Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den pH-Wert in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), ( $\downarrow$ ) : absinkende Werte; ( $\uparrow$ ) : steigende Werte.

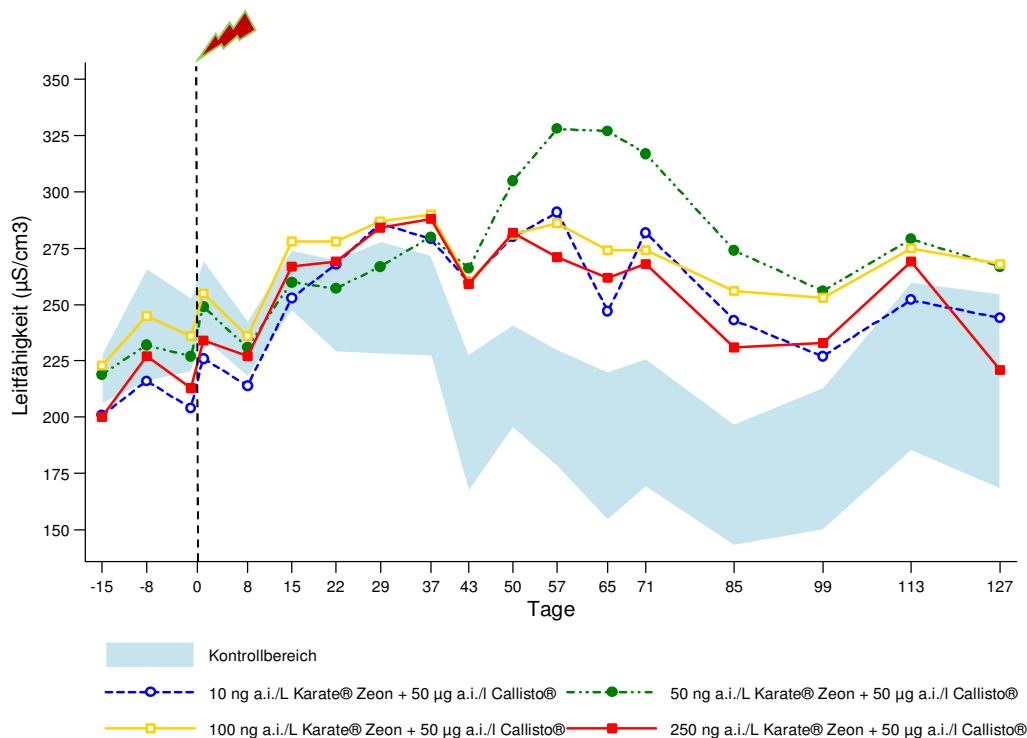
Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
$\text{NOEC}_{\text{pH}}$				Z2		Z2	<Z1		Z1			Z1			
				( $\downarrow$ )		( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )		sig.			( $\downarrow$ )			

Im Hinblick auf den pH-Wert lassen sich ab Tag 22 für die Kompartimente der Belastungsstufen Z1, Z3 und Z4 leichte Effekte in Form einer pH-Wert-Abnahme verzeichnen. Eine Abweichung von den pH-Werten der Kontrollkompartimente zeigt sich in der zweiten Belastungsstufe mit 50 ng a.i./L KaZ + 50  $\mu\text{g}$  a.i./L C erst ab Tag 43. Im

Vergleich dazu nähern sich die Werte der drei anderen Belastungsstufen zu diesem Zeitpunkt wieder dem Kontrollniveau an, so dass die pH-Werte der Kompartimente Z1, Z3 und Z4 ab Tag 50 bis auf wenige Ausnahmen den Kontrollen entsprechen. Die pH-Werte aller vier Belastungsstufen befinden sich an den letzten drei Probennahmetagen ausschließlich wieder im Kontrollbereich. Trotz der Schwankungen des pH-Wertes im Verlauf der Studie bleiben die pH-Werte in allen Enclosures dauerhaft im alkalischen Bereich zwischen pH 7,23 und pH 9,24. (Abb. 23)

Die  $NOEC_{pH}$  entspricht der zweiten Belastungsstufe mit einer PSM-Mischung von **50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.** (Tab. 27)

**Leitfähigkeit (µS/cm)**



**Abb. 24: Entwicklung der Leitfähigkeit bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Auf die Leitfähigkeit werden im Verlauf der Studie zunehmend Effekte deutlich, welche mit einem Anstieg der Werte in allen belasteten Enclosures gegenüber den Kontrollbereichen einhergehen (Abb. 24). Eine Aufwärtstendenz zeigt sich ab Tag 22 nach der Belastung. Ab

Tag 43 bis einschließlich Tag 113 befinden sich alle gemessenen Leitfähigkeitswerte der belasteten Kompartimente weit über den Kontrollwerten. Gegen Ende der Studie nähern sich die Werte wieder dem Kontrollniveau an, so dass sich an den letzten beiden Probennahmetagen die Enclosures der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1 (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) wieder auf Kontrollniveau befinden. Die Werte der Konzentrationsstufen Z2 + Z3 (50 sowie 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) bleiben bis zum Schluss oberhalb der Leitfähigkeitswerte der Kontrollenclosures, während sich der Leitfähigkeitswert der höchsten Konzentrationsstufe Z4 (250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) mit 221 µS/cm<sup>3</sup> am Ende des Versuches wieder auf Kontrollniveau befindet. Die bereits bei der Betrachtung der cdt-Werte der PRC-Grafik (Abb. 21) erwähnte Sonderstellung der Belastungsstufe Z2 zeigt sich deutlich in der zeitlichen Entwicklung der Leitfähigkeit. Nach der Applikation der beiden PSM steigen die Leitfähigkeitswerte in dieser Teststufe weit über die Werte der anderen belasteten Kompartimente hinaus an (Tag 50 – Tag 85).

Eine NOEC für die Leitfähigkeit der Mesokosmenstudie II lässt sich nicht berechnen, da diese unterhalb der getesteten Konzentrationsstufen liegt (Tab. 28).

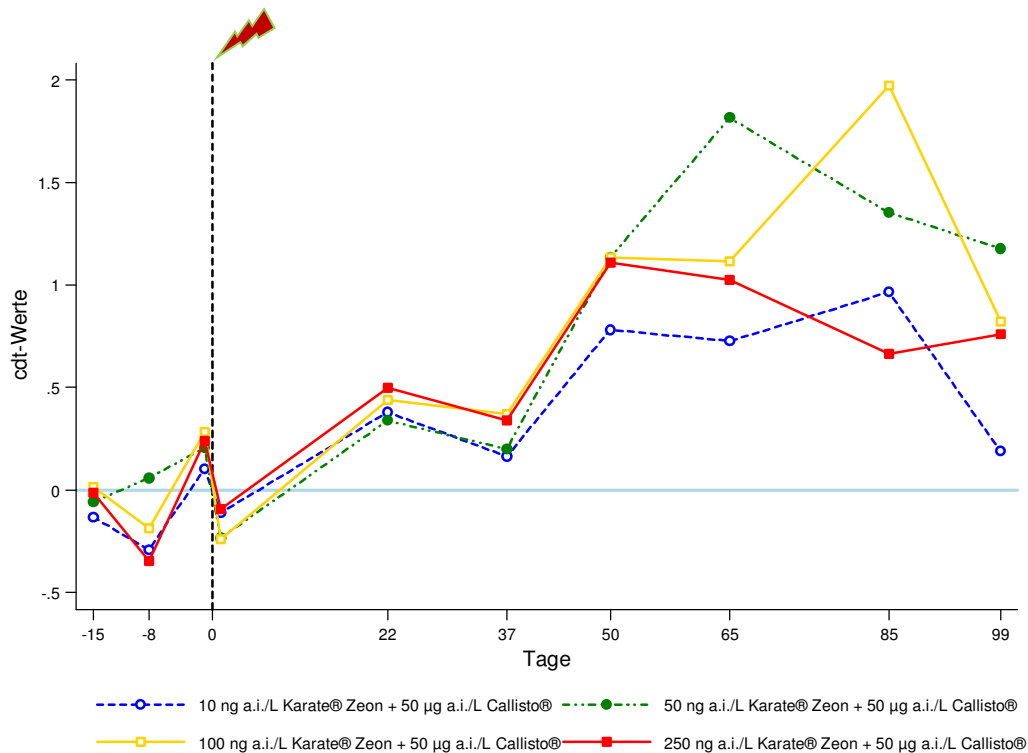
**Tab. 28: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Leitfähigkeit in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (p < 0,05), (↓) : absinkende Werte; (↑) : steigende Werte.**

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
NOEC <sub>LF</sub>						Z2	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	Z1		
						(↑)	(↑)	(↑)	(↑)	(↑)	(↑)	(↑)	(↑)		



### 3.2.3 CHEMISCHE PARAMETER (II)

#### 3.2.3.1 Principal Response Curves (PRCs) – Chemie (II)



**Abb. 25: PRC der Chemischen Parameter Chlorophyll-Gehalt,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $^{\circ}\text{dH}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , SRP und TP bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.**

In die Berechnung der in PRC wurden folgende wasserchemischen Parameter aufgenommen: Chlorophyll-Gehalt, Alkalinität, Wasserhärte, Ammonium- und Nitratgehalt, sowie Gelöst- und Gesamtphosphat (Abb. 25). Mit einem p-Wert von 0,002 der dargestellten PRC, unterscheiden sich die belasteten Enclosures von den Kontrollkompartimenten signifikant. 33,8% der Unterschiede werden durch die Kombinationsbelastung hervorgerufen, während 33,5% der Gesamtvarianz aufgrund der unterschiedlichen Probenalters zustände kommen. Grafisch werden in der PRC 43,8% applikationsabhängigen Varianz dargestellt.

Die beobachteten Effekte, in Form erhöhter cdt-Werte treten zeitlich verzögert ab Tag 22 in allen vier Belastungsstufen auf. Eine beginnende Erholung bezüglich der chemischen Parameter lässt sich erst gegen Ende der Studie an Tag 99 nur für die geringste Konzentrationsstufe mit 10 ng a.i./L des Insektizids erahnen. Auch der Monte Carlo Permutationstest für jeden einzelnen Beprobungstag spiegelt diese Beobachtungen wider

(Tab. 29). So halten die signifikanten Abweichungen der vier Belastungsstufen gegenüber den unbelasteten Referenzkompartimenten ab Tag 1 bis Tag 99 an.

**Tab. 29: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Chemischen Parameter in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \*\* :  $p < 0,01$ .**

Tag	-15	-8	-1	1	22	37	50	65	85	99
Signifikanz	-	-	-	**	**	**	**	**	**	**

Die  $NOEC_{\text{Chemie}}$  kann nicht errechnet werden, da sie unterhalb der Testkonzentrationen liegt (Tab. 30).

**Tab. 30: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Chemischen Parameter in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↑) : Zunahme.**

Tag	1	22	37	50	65	85	99
$NOEC_{\text{Chemie}}$	<Z1 (↑)	<Z1 (↑)	<Z1 (↑)		Z1 (↑)	Z1 (↑)	Z2 sig.

Für den Nitrat-Gehalt lässt sich über die species-scores der PRC kein Einfluss durch die Belastungssituation erkennen. Alle weiteren chemischen Parameter weisen positive species scores  $> 0,5$  auf (Tab. 31), so dass sie eine Affinität zum Verlauf der PRC-Kurven zeigen.

Tab. 31: Species scores der Chemischen Parameter bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

Parameter	species score
CO <sub>3</sub> -	1,41
°dH	1,18
Chlorophyll-a	1,10
TP	1,01
SRP	0,92
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,55

### 3.2.3.2 Entwicklung der chemischen Parameter

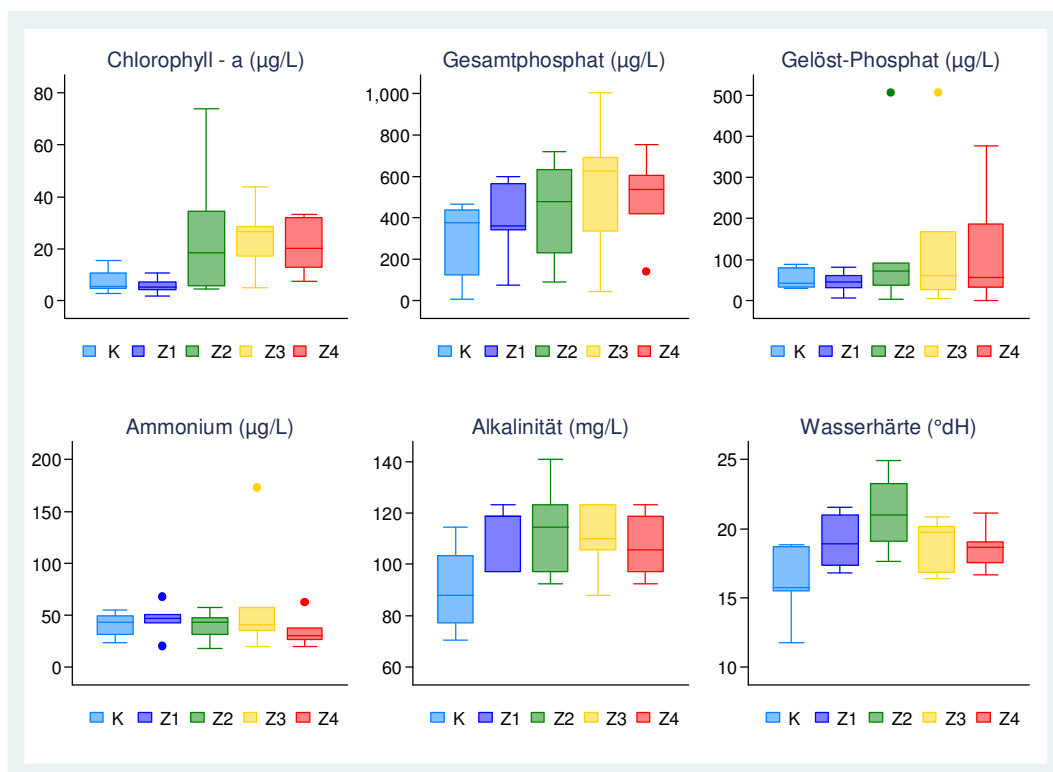


Abb. 26: Box-and-Whisker-Plots der wasserchemischen Parameter zwischen Tag 1 und Tag 99 (n = 7) bei zeitgleicher Applikation der PSM. (K = Kontrolle, Z1 = 10 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon + 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup>, Z2 = 50 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon + 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup>, Z3 = 100 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon + 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup>, Z4 = 250 ng a.i./L Karate<sup>®</sup> Zeon + 50 µg a.i./L Callisto<sup>®</sup>).

Ein unterschiedlich starker Einfluss auf die chemischen Parameter Chlorophyll-Gehalt, Gesamt- sowie Gelöstphosphat, Ammonium, Alkalinität und Wasserhärte lässt sich mittels Box-and-Whisker-Plots erkennen (Abb. 26). Sowohl die Streubreite als auch die Mittelwerte der aufgenommenen Werte steigen mit zunehmender Insektizidkomponente für alle Parameter, außer Ammonium an. Eine Überprüfung auf signifikante Unterschiede der

belasteten Kompartimente gegenüber den Kontrollen mittels Mann-Whitney-U-Test ( $\alpha = 0,05$ ) lieferte, dessen ungeachtet, keine signifikanten Abweichungen.

#### **3.2.4 MAKROINVERTEBRATEN (II)**

Die Liste der vorgefundenen Makroinvertebratentaxa des zweiten Mesokosmos zur zeitgleichen Kombinationswirkung der beiden PSM (Tab. 32) gleicht weitestgehend der Zusammensetzung der Lebensgemeinschaft des ersten Mesokosmos (vgl. Pkt. 3.1.2, Tab. 12). Im Verlauf der Studie wurden insgesamt 26 verschiedene Taxa erfasst. Sie setzen sich aus den Klassen Insecta (Stamm Arthropoda) mit 17 Taxa, Clitellata (Stamm Annelida) mit 3 Taxa, Gastropoda (Stamm Mollusca) mit 4 Taxa sowie Bivalvia (ebenfalls Stamm der Mollusca) mit einem Taxon und Turbellaria (Stamm Plathelminthes) mit einem Taxon zusammen.

Tab. 32: Liste der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON		
ANNELIDA	CLITELLATA (Unterklasse: Oligochaeta)	HAPLOTAXIDA	Naididae	Naididae  <i>Tubifex</i> spp.		
	CLITELLATA (Unterklasse: Hirudinea)	RHYNCHOBDELLIDAE	Glossiphonidae	Glossiphonidae		
ARTHROPODA	INSECTA	COLEOPTERA	Dytiscidae	<i>Agabus undulatus</i>		
				Dytiscidae		
				<i>Guignotus pusillus</i>		
		DIPTERA		Baetidae	<i>Cloeon dipterum</i>	
				Chaoboridae	<i>Chaoborus crystallinus</i>	
				Chironomidae	<i>Chironomus</i> spp.	
					Tanypodinae	
				Culicidae	<i>Anopheles</i> sp.	
					<i>Culex</i> sp.	
				HEMIPTERA	Notonectidae	<i>Notonecta glauca</i>
						<i>Plea leachi</i>
ISOPODA	Asselidae	<i>Asellus aquaticus</i>				
LEPIDOPTERA	Crambidae	<i>Elophila nymphaeta</i>				
ODONATA (Unterordnung: Zygoptera)		Anisoptera				
ODONATA (Unterordnung: Anisoptera)		Zygoptera				
TRICHOPTERA	Phryganeidae	Phryganeidae				
MOLLUSCA	GASTROPODA	BASOMATTOPHORA	Lymnaeidae	<i>Lymnea stagnalis</i>		
				<i>Radix</i> sp.		
			Physidae	<i>Physa fontinalis</i>		
		Planorbidae	Planorbidae			
BIVALVIA	VENEROIDA	Pisidiidae	<i>Pisidium</i> spp.			
PLATHELMINTHES	TURBELLARIA	TRICLADIDA	Planariidae	<i>Dugesia</i> spp.		

### 3.2.4.1 Principal Response Curves (PRCs) – Makroinvertebraten (II)

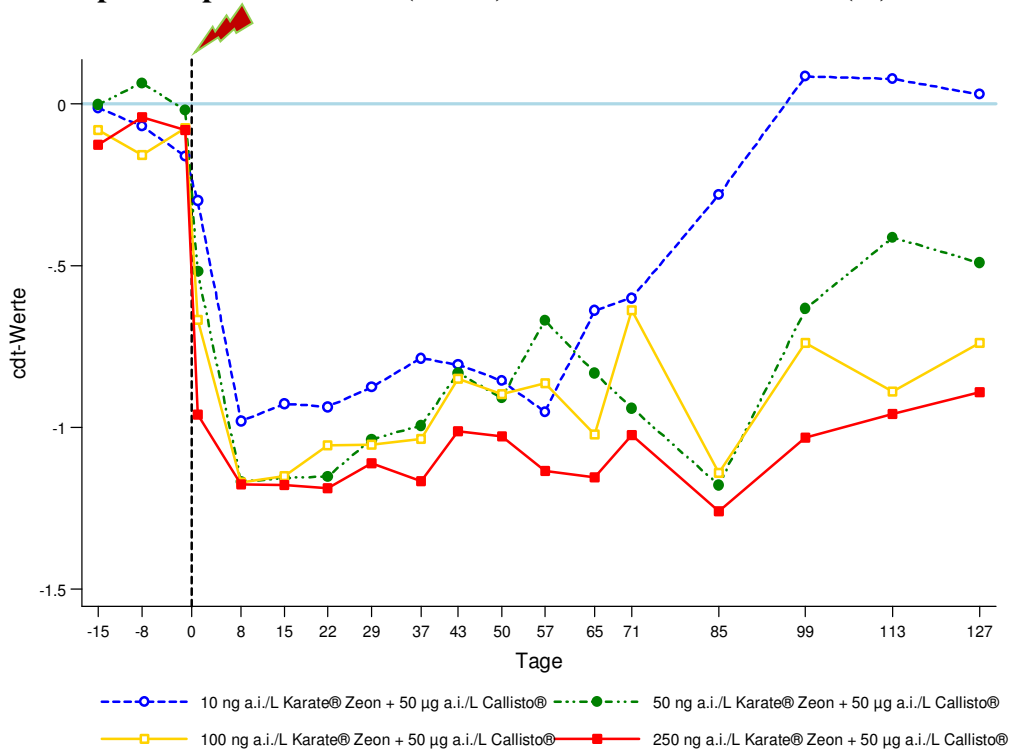


Abb. 27: PRC der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

In der Makroinvertebraten-Gesellschaft zeigen sich nach der zeitgleichen Applikation der beiden PSM KaZ und C eindeutige Langzeiteffekte. Mit steigender Insektizidkonzentration fallen die Reaktionen deutlich stärker aus. Die Effekte treten sofort nach der Applikation der PSM ein und lassen sich bereits 24h später verzeichnen. Die dargestellte PRC für diese Studie ist mit einem p-Wert von 0,002 signifikant. 42% der im Verlauf der cdt-Werte beschriebenen Effekte beruhen auf der PSM-Belastung. Weitere 31,3% der Varianz zwischen den belasteten Enclosures und den Kontrollenclosures sind in den Unterschieden der einzelnen Beprobungstage begründet. Insgesamt können durch die Grafiken 55,5% der gesamten Varianz dargestellt werden. (Abb. 27)

**Tab. 33: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ .**

Tag	-15	-8	-1	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
Signifikanz	-	-	.	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	*	*	**

Der Monte Carlo Permutationstest für jeden Probennahmetag deckt auf, dass die PRC der Makroinvertebratengesellschaft für die zeitgleiche Kombinationsbelastung ab Tag 1 durchgehend bis zum Ende der Studie an Tag 127 signifikant ist (Tab. 33). Die beobachteten starken Effekte, welche zu diesen auftretenden signifikanten Unterschieden zwischen den Referenz- und den belasteten Enclosures führen, halten über mehrere Wochen hinweg an. Entlang des Konzentrationsgradienten erholen sich die Systeme von der Belastungssituation unterschiedlich. Für die Enclosures der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1 tritt eine vollständige Erholung ab Tag 85 ein. Die Konzentrationsstufen Z2 – Z4 (ab 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) weichen jedoch bis zum Ende der Studie signifikant von den Kontrollen ab, so dass für sie keine Erholung zu verzeichnen ist.

Die  $NOEC_{Community}$  für die Makroinvertebratengesellschaft lässt sich nicht errechnen, da diese unterhalb der getesteten Konzentrationsstufen liegt (Tab 34.).

**Tab. 34: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ).**

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
$NOEC_{Community}$	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	Z1	Z1	Z1	Z1

Durch die Betrachtung der species scores der PRC für die Makroinvertebratengesellschaft (Tab. 35) wird deutlich, dass auch in der Kombinationsstudie vor allem die Büschelmückenlarve *Chaoborus crystallinus* von der Belastung betroffen ist. Des Weiteren zeigen sich Effekte auf die Population der *Naididae* spp. ein.

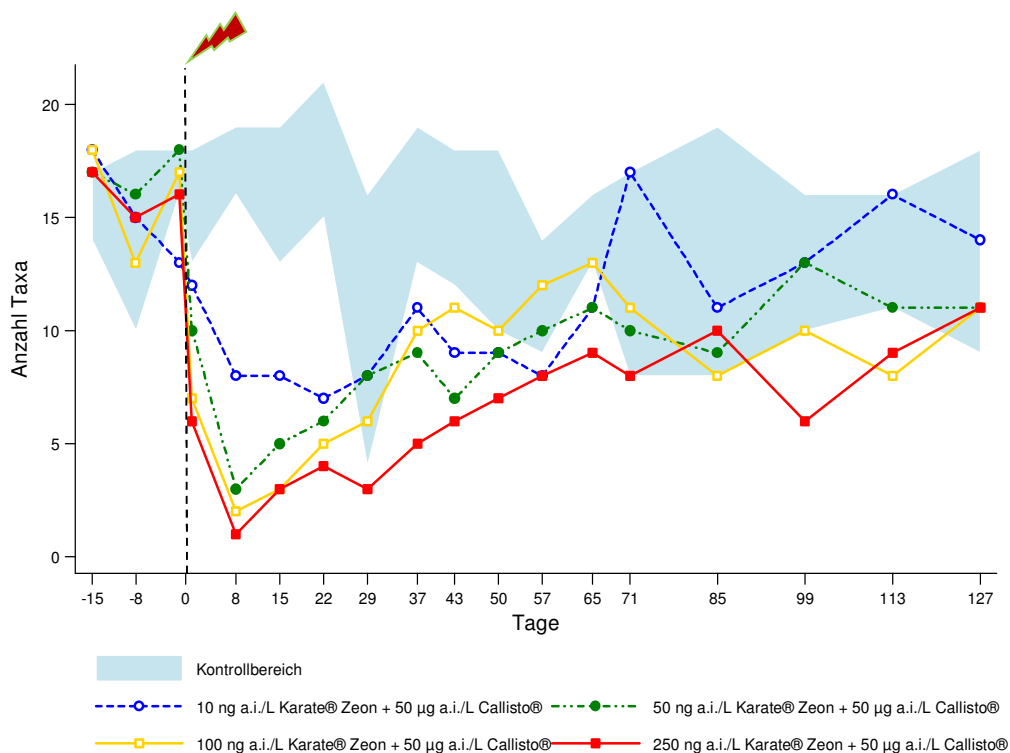
**Tab. 35: Species scores (< - 0,5 und > 0,5) der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.**

<b>Taxon</b>	<b>species score</b>
<i>Chaoborus crystallinus</i>	4,66
Zygoptera	1,15
<i>Cloeon dipterum</i>	0,82
<i>Tanypodinae spp.</i>	0,80
<i>Naididae spp.</i>	0,71
<i>Chironomidae spp.</i>	0,65
Planorbidae	- 1,15



### 3.2.4.2 Biodiversität – Makroinvertebraten (II)

#### Biologische Vielfalt – Makroinvertebraten (II)



**Abb. 28: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Eine deutliche Wirkung auf die Vielfalt der Taxa durch die zeitgleiche Applikation der beiden PSM lässt sich bei Betrachtung der Entwicklung der Taxazahlen belegen (Abb. 28). Des Weiteren zeigt sich in der Reaktion der aquatischen Biozönose eine eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehung. Mit ansteigender Insektizidkonzentration fallen die beobachteten Effekte stärker aus. Insbesondere die Taxazahlen in den drei höchsten Konzentrationsstufen (50, 100 und 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) sinken nach der Applikation. Bereits an Tag 8 können in diesen Kompartimenten nur noch ein bis drei verschiedene Taxa vorgefunden werden. Die Wiederbesiedelung der belasteten Enclosures deutet sich ab Tag 15 an. Eine vollständige Erholung von der Belastungssituation kann nur in den beiden niedrigsten Konzentrationsstufen (10 und 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ab Tag 71 registriert werden.

**3.2.4.3 Dominanz – Makroinvertebraten (II)**

Tabelle 36 stellt die prozentuale Zusammensetzung der Makroinvertebratengesellschaft für die beiden Testgruppen „Kontrollen“ sowie „belastete Enclosures“ gemittelt über den Versuchszeitraum dar.

**Tab. 36: Dominanzverhältnisse innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der PSM; 10 häufigsten Taxa der Kontrollbereiche (MW) sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.**

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse	Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse
<i>Chaoborus crystallinus</i>	68,0	eudominant	<i>Chaoborus crystallinus</i>	31,7	dominant
Zygoptera	12,0	dominant	Zygoptera	21,0	dominant
Naididae	5,0	subdominant	Naididae	7,9	subdominant
<i>Cloeon dipterum</i>	4,5	subdominant	<i>Cloeon dipterum</i>	6,4	subdominant
Chironomidae	3,4	subdominant	<i>Lymnea stagnalis</i>	6,4	subdominant
<i>Lymnea stagnalis</i>	1,9	rezedent	Chironomidae	5,5	subdominant
Tanypodinae	1,5	rezedent	Planorbidae	4,0	subdominant
<i>Tubifex spp.</i>	1,3	rezedent	<i>Tubifex spp.</i>	2,4	rezedent
Anisoptera	1,1	rezedent	Anisoptera	2,4	rezedent
Planorbidae	0,4	subrezedent	Tanypodinae	1,6	rezedent

Die zehn häufigsten Taxa sind in beiden Gruppen identisch. Ihre Gewichtung innerhalb der Gesellschaft zeigt jedoch Unterschiede. In den Kontrollenclosures nimmt *Chaoborus crystallinus* mit 68% den größten Anteil und damit eine eudominante Stellung innerhalb der Gesellschaft ein. Zu den weiteren Haupttaxa der unbelasteten Enclosures zählen Zygoptera (12%), Naididae (5%), *Cloeon dipterum* (4,5%) und Chironomidae (3,4%), während die Taxa

*Lymnea stagnalis*, Tanypodinae, *Tubifex* spp., Anisoptera und Planorbidae nur rezident – subrezident auftreten.

Im Gegensatz dazu kann *Chaoborus crystallinus* in den belasteten Enclosures seine eudominante Stellung nicht beibehalten. Mit einem Anteil von 31,7% dominiert *Chaoborus crystallinus* zusammen mit dem Taxon Zygoptera die PSM-belasteten Testsysteme Z1 – Z4. Eine Verschiebung der strukturellen Verhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft zeigt sich insbesondere durch die Betrachtung der weiteren Haupttaxa innerhalb dieser Kompartimente.

So lässt sich sowohl für die Art *Lymnea stagnalis* als auch für die Familie der Planorbidae, welche innerhalb der Kontrollenclosures nur vereinzelt anzutreffen waren, ein deutlicher Anstieg des prozentualen Anteils auf 6,4% bzw. 4% feststellen.

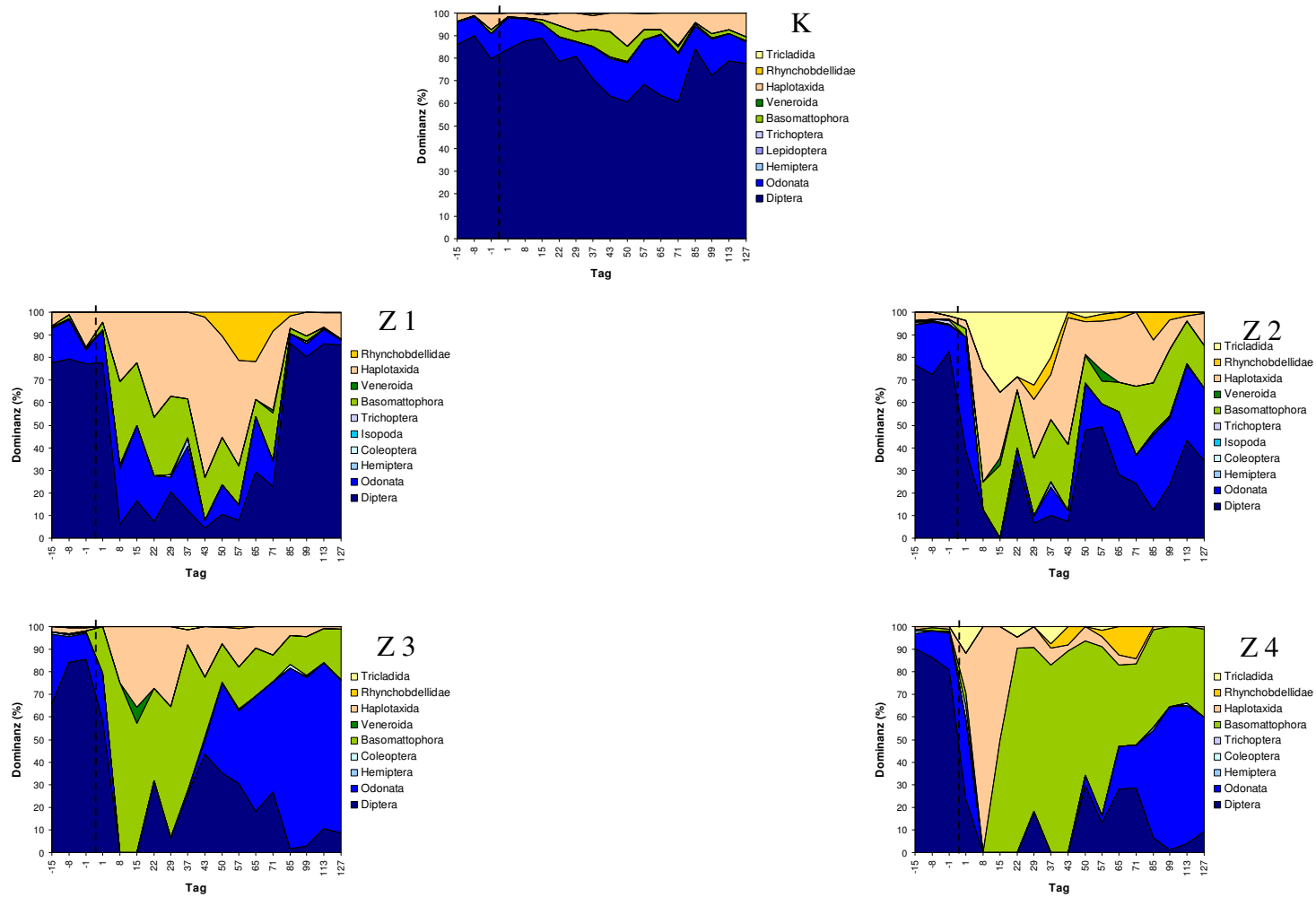


Abb. 29: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.  
 ---- = Applikationszeitpunkt beider PSM.

Die Betrachtung der zeitlichen Entwicklung der Dominanzverhältnisse in Abb. 29 zeigt diese beobachteten strukturellen Unterschiede der Makroinvertebratengesellschaft auf der Ebene der Ordnungen deutlich. Bereits auf dieser Ebene lassen sich Veränderungen der Taxa-Zusammensetzung aufgrund der PSM-Belastung verdeutlichen. Die Kontrollbereiche (Abb. 29 – K) werden durch die Mächtigkeit der Ordnung Diptera über den gesamten Versuchszeitraum hinweg bestimmt. Des Weiteren treten in erwähnenswerter Häufigkeit Taxa der Ordnungen Odonata, Haplotaxida, sowie Basomattophora auf.

In den belasteten Kompartimente Z1 – Z4 lässt sich für die Vorbelastungsphase eine vergleichbare Zusammensetzung der Makroinvertebratengesellschaft vorfinden.

Im Anschluss an die zeitgleiche Applikation der beiden PSM weicht die Zusammensetzung der belasteten Kompartimente mehr und mehr von den unbelasteten Referenzen ab. Die Ordnung der Diptera wird durch den PSM-Eintrag direkt geschädigt. Das Ausmaß der Effekte steigt mit ansteigender Insektizidkonzentration deutlich, so dass diese Ordnung innerhalb von 8 Tagen ihre eudominante Stellung innerhalb der Gesellschaft verliert und nur noch vereinzelt in den belasteten Kompartimenten zu detektieren ist. An ihre Stelle treten insbesondere Individuen der Ordnungen Basomattophora sowie Haplotaxida. Für die Makroinvertebratengesellschaft der Konzentrationsstufe Z3 (100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) kann zudem ein starker Anstieg der Dominanz der Ordnung Tricladida zwischen Tag 8 und Tag 43 festgestellt werden. Zum Ende der Studie, 14 Wochen nach Applikation der PSM kann nur für die niedrigste Konzentrationsstufe Z1 (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) eine vollständige Erholung der strukturellen Zusammensetzung verzeichnet werden.

3.2.4.4 Abundanz – Makroinvertebraten (II)

Gesamtabundanz – Makroinvertebraten (II)

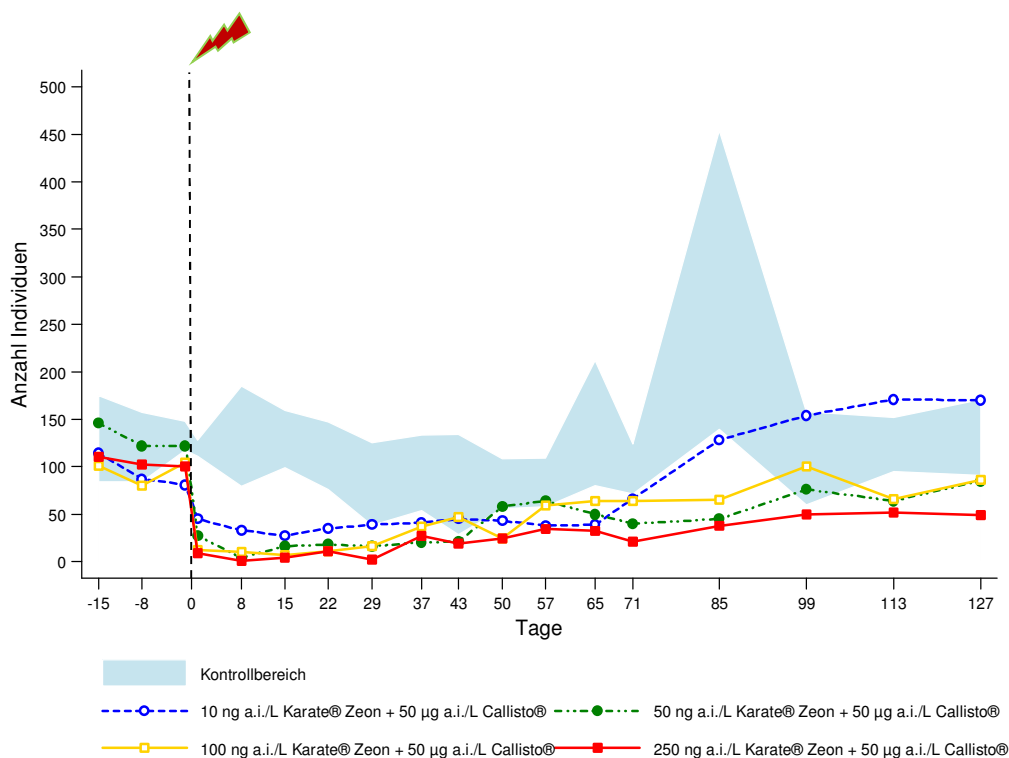


Abb. 30: Entwicklung der Gesamtabundanz der Makroinvertebraten bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 37: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), ( $\downarrow$ ) : Abundanz-Abnahme.

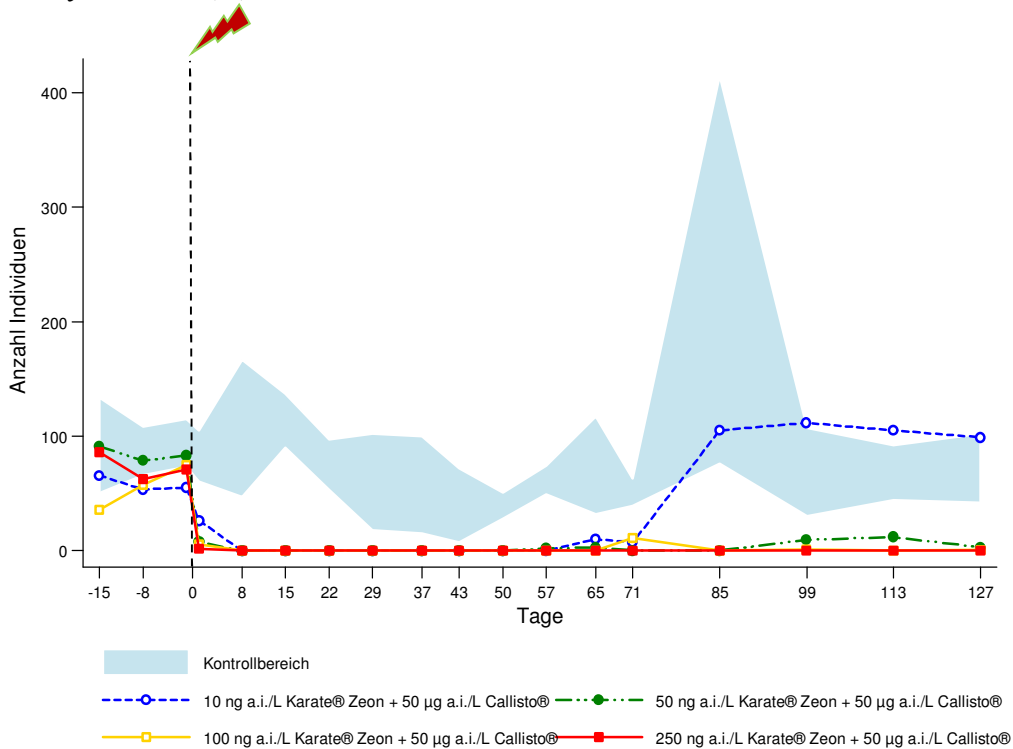
Tage	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
NOEC <sub>Gesamtabundanz</sub>	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	Z1	<Z1		Z2	Z3	<Z1	Z3				Z1
	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )		( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )	( $\downarrow$ )				( $\downarrow$ )

Mit steigender KaZ-Konzentration fällt der Verlust der Individuen stärker aus, so dass die auftretenden Effekte einer Dosis-Wirkungs-Beziehung folgen. Die Anzahl der Individuen in den mit 50, 100 und 250 ng a.i./l KaZ + 50 µg C belasteten Enclousures liegt über den gesamten Versuchszeitraum hinweg deutlich unterhalb derer in den Kontrollkompartimenten. In Bezug auf

die Gesamtabundanz lässt sich nur in der geringsten Konzentrationsstufe mit 10 ng a.i./l KaZ + 50 µg C gegen Ende der Studie (ab Tag 99) eine eindeutige Erholung des Systems feststellen. (Abb. 30)

Aufgrund der deutlichen Effekte in allen Testkompartimenten, lässt sich für die Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft keine NOEC errechnen, da diese unterhalb der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1 liegt. (Tab. 37)

**Chaoborus crystallinus (II)**



**Abb. 31: Entwicklung der *Chaoborus crystallinus*-Population (Larvalstadien I-IV) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 38: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die *Chaoborus crystallinus*-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme.**

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
NOEC <sub>C.crystallinus</sub>	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	<Z1	Z1	Z1	Z1	Z1
	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)

Die Larvalstadien der Büschelmücke *Chaoborus crystallinus* zeigen eine hohe Empfindlichkeit auf die zeitgleiche Kombinationsbelastung. Innerhalb von 24h nehmen die Individuenzahlen der Larven in den belasteten Enclosures rapide ab. Im Zeitraum vor der Applikation wurden im Durchschnitt ca. 80 Individuen pro Enclosure aller Larvalstadien (instar I-II, III und IV) erfasst. Nach der Belastung sinkt die Anzahl der Tiere an Tag 1 auf unter 10 Individuen in den Kompartimenten mit 50, 100 und 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C bzw. 27 Individuen in der niedrigsten Konzentrationsstufe (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ab. Bereits an Tag 8 lassen sich in allen belasteten Kompartimenten keine Individuen dieser Art mehr detektieren. Der vollständige Verlust der Chaoboruslarven hält bis Tag 50 in allen belasteten Enclosures an. Erst 57 Tage nach der Applikation der PSM gelingt es *Chaoborus crystallinus* wieder die belasteten Kompartimente des Testsystems zu besiedeln, so dass vereinzelte Funde (< 10 Individuen/Enclosure) zu verzeichnen sind (Z1). Die signifikanten Abweichungen von den Kontrollbereichen für die Kompartimente Z2 bis Z4 halten bis zum Ende der Studie an. 18 Wochen nach der PSM-Applikation lässt sich nur in der geringsten Mischung mit 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C eine eindeutige Erholung der Population feststellen. (Abb. 31)

Eine NOEC lässt sich für diese sensitive Art nicht ermitteln, da diese unterhalb der niedrigsten Testkonzentration Z1 liegt (Tab. 38).



*Cloeon dipterum* (II)

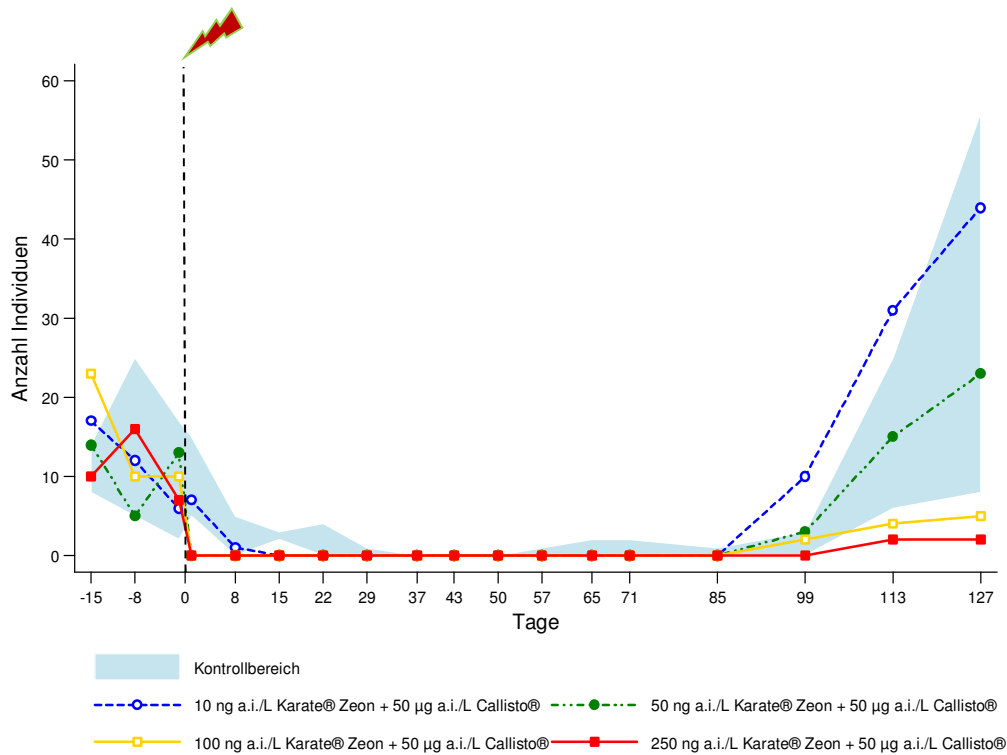


Abb. 32: Entwicklung der *Cloeon dipterum*-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 39: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die *Cloeon dipterum*-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme.

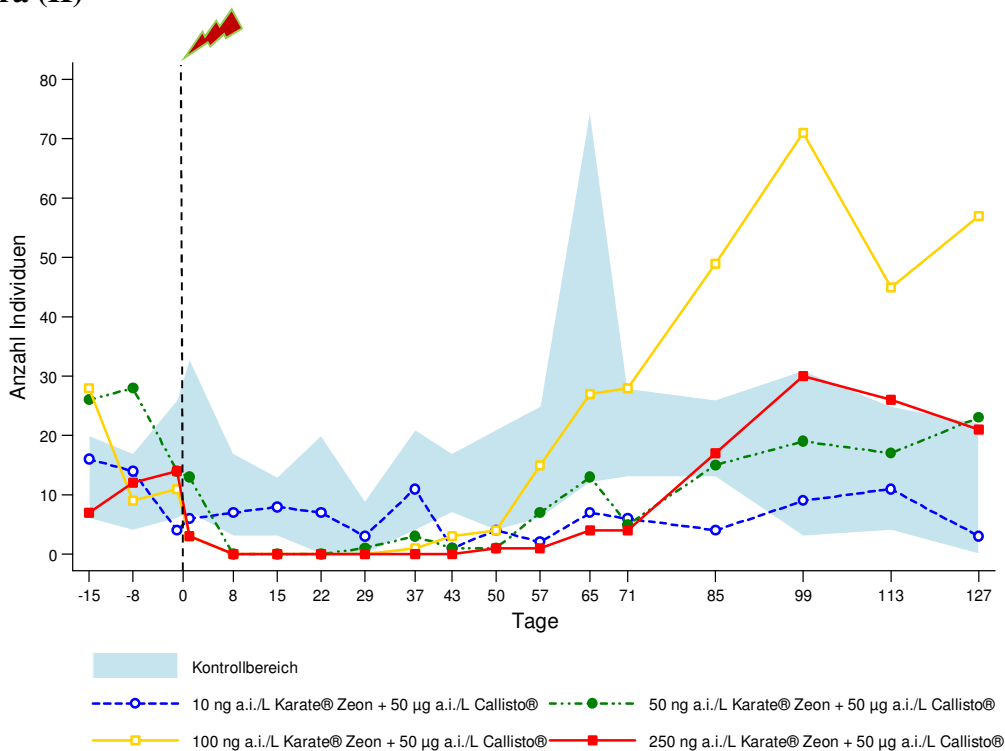
Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
	Z1	Z1	<Z1											Z3	Z3
NOEC <sub>C.dipterum</sub>	(↓)	(↓)	(↓)											(↓)	(↓)

Der Verlauf der Individuenzahlen der Eintagsfliegenlarven von *Cloeon dipterum* sind hauptsächlich vom Entwicklungszyklus dieser Art geprägt. Dennoch lassen sich an Tag 1 nach Applikation der PSM-Mischung direkte Effekte in den drei höchsten Konzentrationsstufen (Z2 - Z4) erkennen. Ab Tag 8 nimmt die Anzahl der Larven sowohl in den belasteten Enclosures, als auch in den Kontrollenclosures kontinuierlich ab und steigt erst wieder gegen Ende der Studie ab Tag 85 an. Die Wiederbesiedlung der Kompartimente der *Cloeon dipterum*-Larven erfolgt gestaffelt und zeigt damit eine Dosis-Wirkungs-Beziehung. 18 Wochen nach der Kombinationsbelastung, am Ende der Studie, hat sich *Cloeon dipterum* nur in den Enclosures der

beiden niedrigsten Belastungsstufen (Z1 + Z2) von dem Eingriff in das künstliche Ökosystem erholt. Die Larven in den Kompartimenten der Belastungsstufen Z3 + Z4 zeigen dagegen bis zum Ende des Versuches kein Erholungspotential und weisen Individuenzahlen auf, welche sich deutlich unter denen der Kontrollenclosures befinden. (Abb. 32)

Die  $NOEC_{Cloeon\ dipterum}$  entspricht der geringsten Applikationsstufe Z1 mit einer Mischungskonzentration von **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.** (Tab. 39)

**Zygotera (II)**



**Abb. 33: Entwicklung der Zygotera-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 40: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Zygotera-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (p < 0,05), (↓) : Abundanz-Abnahme.**

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
$NOEC_{Zygotera}$	Z1	Z1	<Z1											Z3	Z3
	(↓)	(↓)	(↓)											(↑)	(↑)

Nach der zeitgleichen Applikation des Pyrethroids und des Triketons zeigen sich ab Tag 8 in den drei höchsten Konzentrationsstufen (Z2 - Z4) toxische Effekte auf die Gesellschaft der Zygoptera. Bis Tag 29 sind in diesen Kompartimenten keine Zygopteralarven zu detektieren. Ab diesem Zeitpunkt findet in den belasteten Enclosures nach und nach eine Wiederbesiedelung statt, so dass gegen Ende der Studie eine vollständige Erholung der Population in allen belasteten Enclosures festzustellen ist. (Abb. 33)

Die  $NOEC_{Zygoptera}$  liegt bei **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C** (Z1). (Tab. 40)

Planorbidae (II)

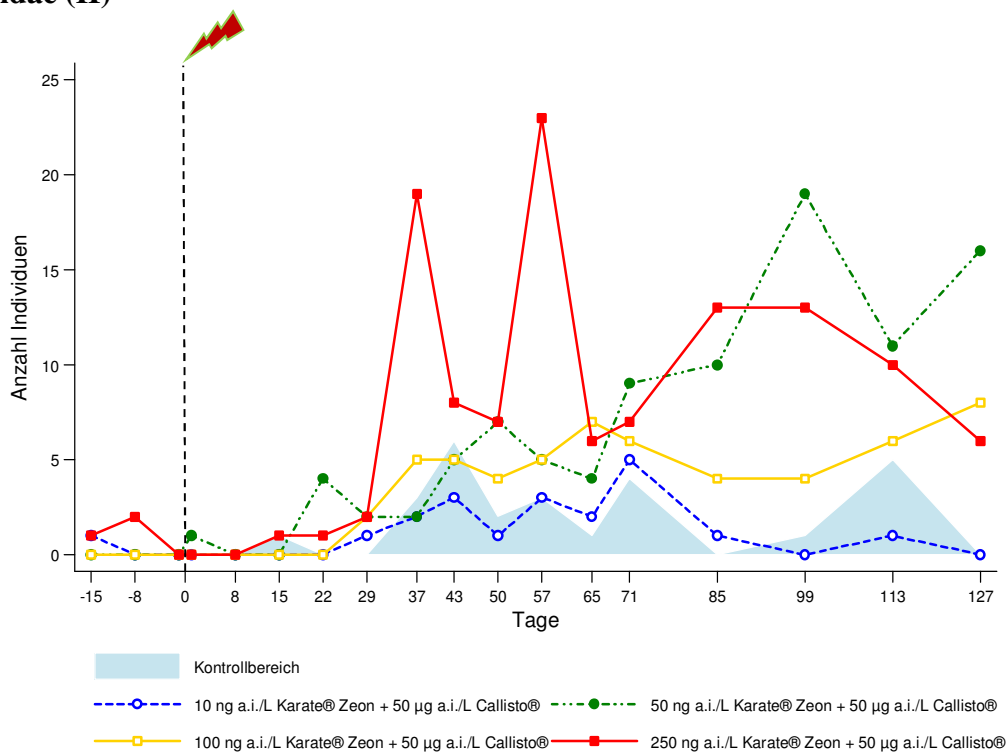


Abb. 34: Entwicklung der Planorbiden-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 41: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Planorbiden-Population in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme.

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	85	99	113	127
NOEC <sub>Planorbidae</sub>						Z2		Z1	Z3	<Z1	<Z1				
						(↑)		(↑)	(↑)	(↑)	(↑)				

Unter der Gattung Planorbidae wurden einige Arten zusammengefasst, wobei die Posthornschncke *Planorbarius corneus*, den Hauptanteil der erfassten Individuen darstellt. Die Population der Planorbidae reagiert zeitverzögert ab Tag 29 auf die zeitgleiche Applikation mit einem Anstieg der Individuenzahlen. Obwohl in allen Kompartimenten – inklusive der Kontrollenclosures – vermehrt Individuen der Gattung Planorbidae erfasst werden, zeigt sich eine deutliche positive Dosis-Wirkungs-Beziehung. Mit ansteigender Konzentration der PSM-Mischung steigen die erfassten Individuenzahlen. Es lassen sich in den belasteten Kompartimenten mit 50, 100 und 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C bis zum Ende der Mesokosmenstudie durchgehend bedeutend mehr Planorbidae erfassen als in den

Kontrollbereichen. Einzig die Enclosures mit einer Belastung von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C zeigen über die gesamte Versuchsdauer hinweg Individuenzahlen, welche sich im Bereich der Kontrollen befinden. (Abb. 34)

Die  $NOEC_{Planorbidae}$  liegt unterhalb der Testkonzentrationen Z1 - Z4. Aufgrund dessen konnte sie nicht ermittelt werden. (Tab. 41)

### **3.2.5 ZOOPLANKTON (II)**

Die Zooplanktongesellschaft der Mesokosmenstudie II umfasst insgesamt 37 verschiedene Taxa (Abb. 35). 13 dieser Taxa gehören zum Stamm der Arthropoda und setzen sich aus den Klassen der Branchiopoda (Ordnung Diplostraca mit 8 Taxa), Maxillopoda (3 Taxa, Ordnungen Calanoida und Cyclopoida) und Ostracoda (1 Taxon) zusammen. 24 weitere Taxa zählen zum Stamm der Rotifera. Dieser umfasst die Klasse der Eurotatoria mit den Unterklassen Bdelloidea (2 Taxa), Pseudotrocha (Ordnung Flosculariaceae mit 3 Taxa) und Monogononta (Ordnung Ploima mit 19 Taxa).

Abb. 35: Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON		
ARTHROPODA	BRANCHIOPODA (Unterklasse: Phyllopoda)	DIPLOSTRACA (Unterordnung: Cladocera)	Chydoridae	<i>Acroperus harpae</i>		
				<i>Alona affinis</i>		
					<i>Alonella nana</i>	
					<i>Chydorus sphaericus</i>	
					<i>Graptoleberis testudinaria</i>	
			Daphniidae		<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	
					<i>Daphnia longispina</i>	
					<i>Daphnia magna</i>	
					<i>Simocephalus vetulus</i>	
	MAXILLOPODA (Unterklasse: Copoepoda)	CALANOIDA CYCLOPOIDA	Diaptomidae		Nauplia	
				<i>Eudiaptomus gracilis</i>		
Cyclopidae				Cyclopidae		
				Ostracoda		
ROTIFERA	EUROTATORIA (Unterklasse: Bdelloidea)	FLOSCULARIACEAE		<i>Adineta</i> sp. 1		
				<i>Adineta</i> sp. 2		
	Hexarthridae		<i>Hexarthra mira</i>			
	Testudinellidae		<i>Testudinella patina</i>			
	Trochosphaeridae		<i>Filinia longiseta</i>			
	Asplanchnidae		<i>Asplanchna</i> sp.			
	PLOIMA (Unterklasse: Monogononta)		Brachionidae		<i>Anuaeropsis fissa</i>	
					<i>Keratella cochlearis</i>	
					<i>Keratella quadrata</i>	
						<i>Keratella</i> sp.
				Euchlanidae		<i>Euchlanis</i> spp.
				Gastropodidae		<i>Ascomorpha</i> spp.
				Lecanidae		<i>Lecane diplostyla</i>
						<i>Lecane monostyla</i>
				Lepadellidae		<i>Lepadella ovalis</i>
						<i>Lepadella patella</i>
				Mytilinidae		<i>Mytilinia mucronata</i>
						<i>Mytilinia ventralis</i>
			<i>Mytilinia videns</i>			
	Notommatidae		<i>Notommata</i> spp.			
	Synchaetidae		<i>Polyarthra</i> sp.			
			<i>Synchaeta</i> spp.			
	Trichocercidae		<i>Trichocera</i> sp.			
	Trichotriidae		<i>Trichotria pocillum</i>			

### 3.2.5.1 Principal Response Curves (PRCs) – Zooplankton (II)

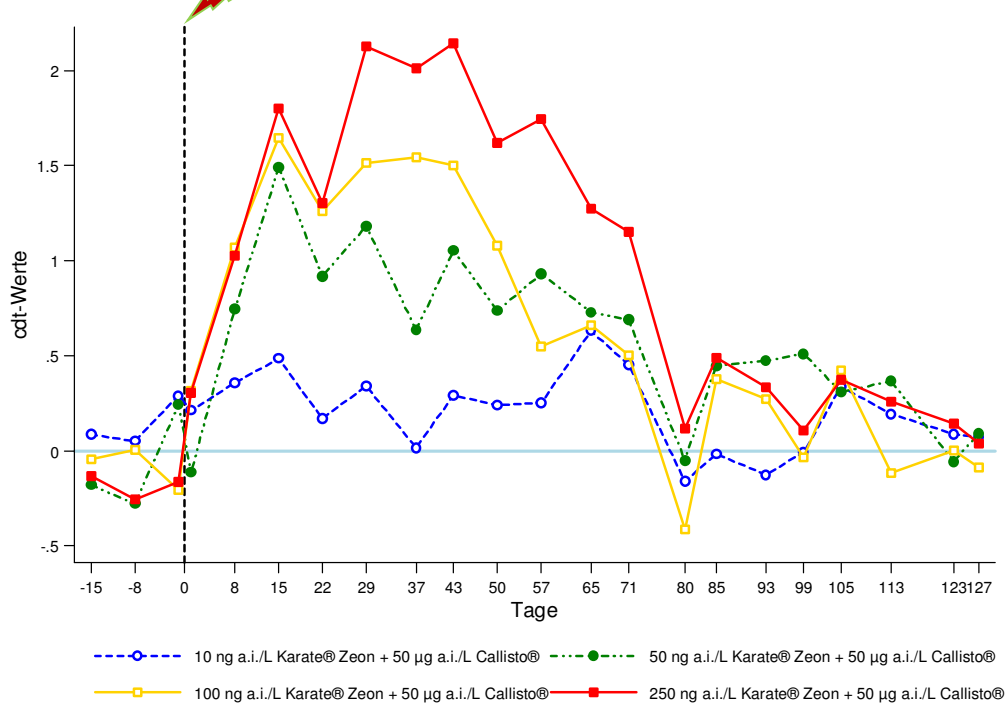


Abb. 36: PRC der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

In der Studie zur zeitgleichen Kombinationsbelastung zeigen sich auch innerhalb der Zooplankton-Gesellschaft deutliche Effekte durch den Eintrag der beiden PSM. Diese sind bereits 24h nach Applikation sichtbar. Über die PRC lassen sich in der geringsten Konzentrationsstufe (10 ng a.i./l KaZ + 50 µg a.i./l C) nur geringe Effekte auf die Zooplankton-Gesellschaft erkennen. Die drei weiteren Belastungsstufen (Z2 - Z4) zeigen sich in der Intensität der auftretenden Effekte mit ansteigender Mischungskonzentration gestaffelt. Eine Recovery lässt sich ab Tag 85 in allen belasteten Enclosures feststellen (Abb. 36). Mit Ausnahme von Tag 71 ist die PRC der Zooplanktongesellschaft zwischen Tag 8 bis Tag 123 der Studie hinweg signifikant (Tab. 42).

Die species scores der Gesellschaft sind Tabelle 43 zu entnehmen.

Tab. 42: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ .

Tag	-15	-8	-1	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	80	85	93	99	105	113	123	127
Sig.	-	-	.	.	**	**	**	**	**	**	**	**	*	.	*	**	*	**	**	*	*	.

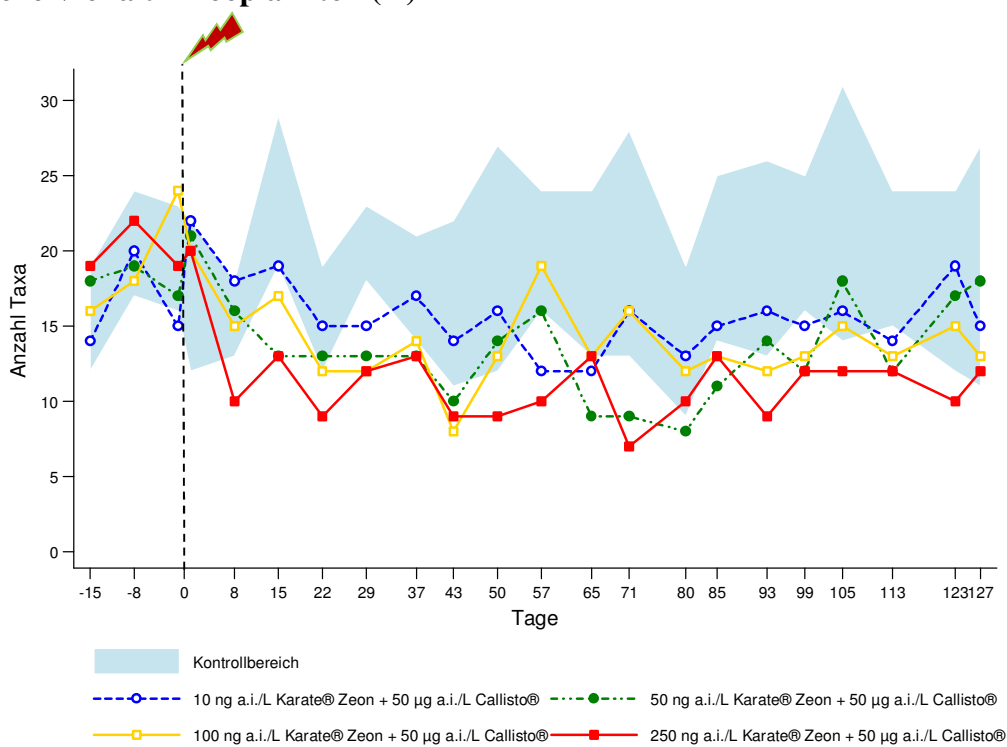
Tab. 43: Species scores (< - 0,5 und > 0,5) der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

Taxon	species score	Taxon	species score
Nauplia	- 3,31	<i>Graptoleberis testudinaria</i>	-1,45
Cyclopoida	- 2,86	Ostracoda	-0,84
<i>Alonella affinis</i>	-2,49	<i>Keratella sp.</i>	-0,73
<i>Chydorus sphaericus</i>	-1,87	<i>Mytilinia mucronata</i>	-0,52
<i>Simocephalus vetulus</i>	-1,85	<i>Adineta sp.</i>	0,58
Calanoida	-1,67	<i>Ascomorpha spp.</i>	1,19
<i>Alona nana</i>	-1,45	<i>Polyarthra sp.</i>	1,24



### 3.2.5.2 Biodiversität – Zooplankton (II)

#### Biologische Vielfalt – Zooplankton (II)



**Abb. 37: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Zooplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Die Anzahl der gefundenen Taxa zeigt an Tag 1 nach Applikation der PSM noch keinen Unterschied der belasteten Kompartimente gegenüber den Zahlen der Kontrollen. Ab Tag 8 (Z4) bzw. Tag 15 (Z2 + Z3) zeigt sich hingegen ein Rückgang der Taxavielfalt in den drei höchsten Belastungsstufen. Die Anzahl der erfassten Taxa bleibt über mehrere Wochen in diesen Kompartimenten unterhalb der des Kontrollbereiches. Erst an den letzten beiden Beprobungstagen weisen die Enclosures der zweiten und dritten Belastungsstufe (50 und 100 ng a.i./l KaZ + 50 µg a.i./l C) wieder mit den Kontrollbereichen vergleichbare Taxazahlen auf. An Tag 127, dem letzten Probennahmetag dieser Studie, befinden sich auch die Enclosures der höchsten Belastungsstufe erstmals wieder im Bereich der Kontrollen. (Abb. 37)

3.2.5.3 Dominanz – Zooplankton (II)

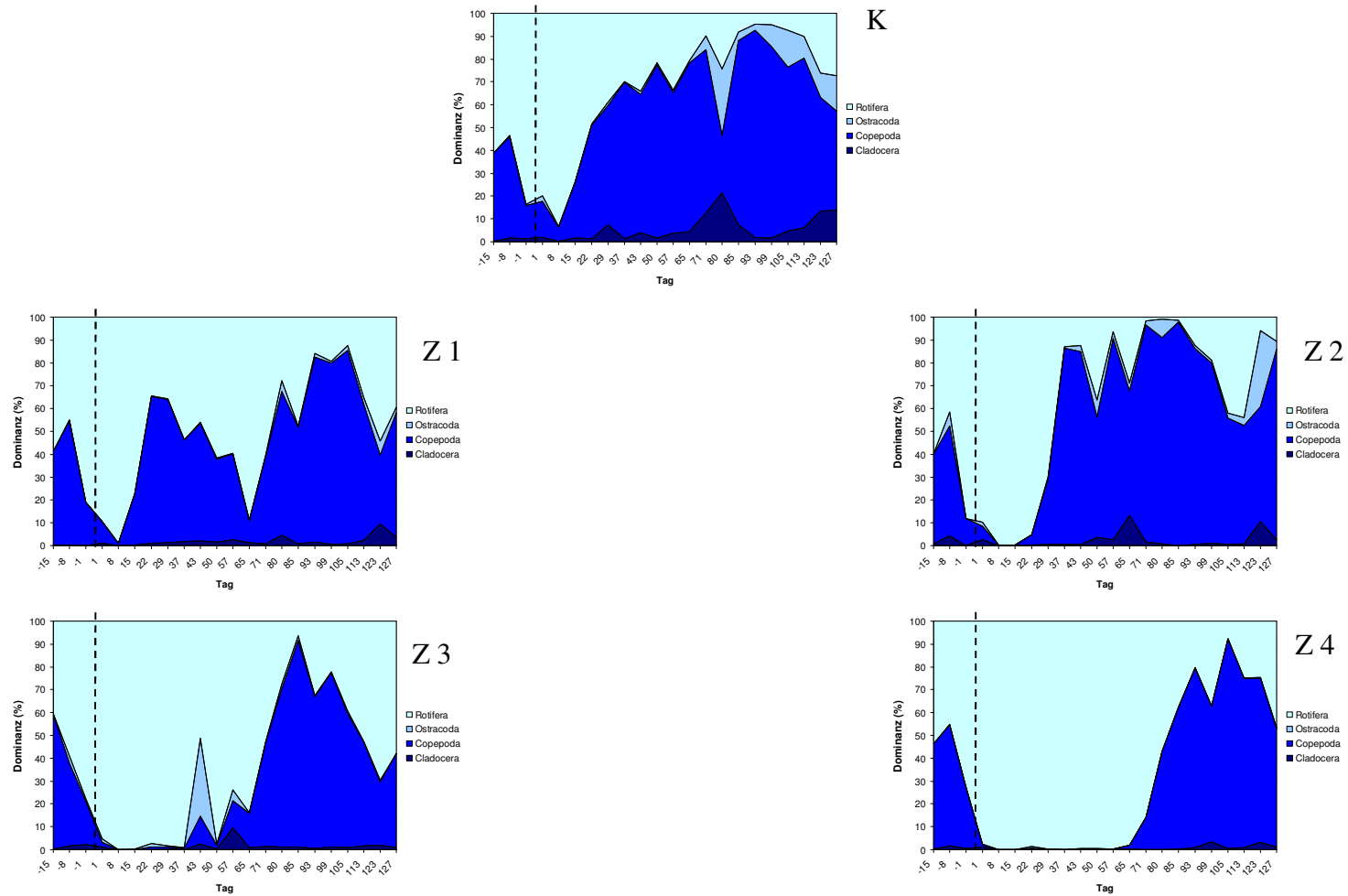
Tab. 44: Dominanzverhältnisse innerhalb der Zooplanktongesellschaft in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der PSM; 10 häufigste Taxa der Kontrollbereiche (MW) sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse	Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse
Nauplia	45,7	eudominant	<i>Keratella</i> sp.	31,9	eudominant
<i>Keratella</i> sp.	25,3	dominant	<i>Polyarthra</i> sp.	29,2	eudominant
<i>Polyarthra</i> sp.	8,7	subdominant	Nauplia	29,1	eudominant
Cyclopoida	7,4	subdominant	Cyclopoida	3,5	subdominant
Ostracoda	5,1	subdominant	<i>Lecane diplostyla</i>	2,8	rezedent
<i>Alona affinis</i>	1,4	rezedent	<i>Hexarthra mira</i>	1,0	rezedent
<i>Chydorus sphaericus</i>	1,1	rezedent	Ostracoda	0,7	subrezedent
<i>Alonella nana</i>	1,1	rezedent	<i>Simocephalus vetulus</i>	0,4	subrezedent
<i>Simocephalus vetulus</i>	0,7	subrezedent	<i>Alona affinis</i>	0,3	subrezedent
Calanoida	0,4	subrezedent	<i>Ascomorpha</i> spp.	0,3	subrezedent
Rotifera	36,2	eudominant	Rotifera	56,5	eudominant
Copepoda	53,5	eudominant	Copepoda	40,1	eudominant
Cladocera	5,2	subdominant	Cladocera	1,5	rezedent
Ostracoda	5,1	subdominant	Ostracoda	1,9	rezedent

Über den gesamten Versuchszeitraum hinweg dominieren insbesondere die Zooplankton-Gruppen Rotifera mit 36,2% (K) bzw. 56,5% (Z) und Copepoda mit 53,5% (K) bzw. 40,1% (Z) (Tab. 44). Sie sind sowohl in den unbelasteten Testkompartimenten, als auch in den belasteten Kompartimenten Z1 – Z4 eudominant. Die beiden Testgruppen K und Z unterscheiden sich bezüglich ihrer Taxazusammensetzung innerhalb der Gruppen. Während innerhalb der

Kontrollkompartimente vermehrt Taxa der Gruppen Copepoda und Cladocera verzeichnet werden, lassen sich in den belasteten Kompartimenten häufiger Taxa der Rotifera detektieren.

Die auftretenden Effekte innerhalb der Gesellschaftszusammensetzung können insbesondere durch den zeitlichen Verlauf der Dominanz aufgeschlüsselt werden (Abb. 38). Dargestellt ist dieser jeweils für die Großgruppen Rotifera, Copepoda, Cladocera und Ostracoda. Der Vergleich zwischen den beiden Testgruppen „Kontrollen“ und „belastete Enclosures“ lässt nach Applikation der Chemikalienmischung einen deutlichen Abfall der Copepoda und Cladocera an Tag 8 erkennen. Die Erholung der Taxa dieser Gruppen folgt der Dosis-Wirkungs-Beziehung. Während sich die Populationen der Copepoda und Cladocera der Kompartimente Z1 und Z2 (10 bzw. 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) nach kurzer Zeit wieder auf dem Dominanzniveau der Kontrollen befinden, stellt sich eine Erholung in den höheren Konzentrationsstufen erst an Tag 43 (Z3) und 85 (Z4) ein. Von dieser verzögerten Erholung ist insbesondere die Gruppe der Copepoda betroffen.



**Abb. 38: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.  
 ---- = Applikationszeitpunkt beider PSM.**

### 3.2.5.4 Abundanz – Zooplankton (II)

#### Gesamtabundanz – Zooplankton (II)

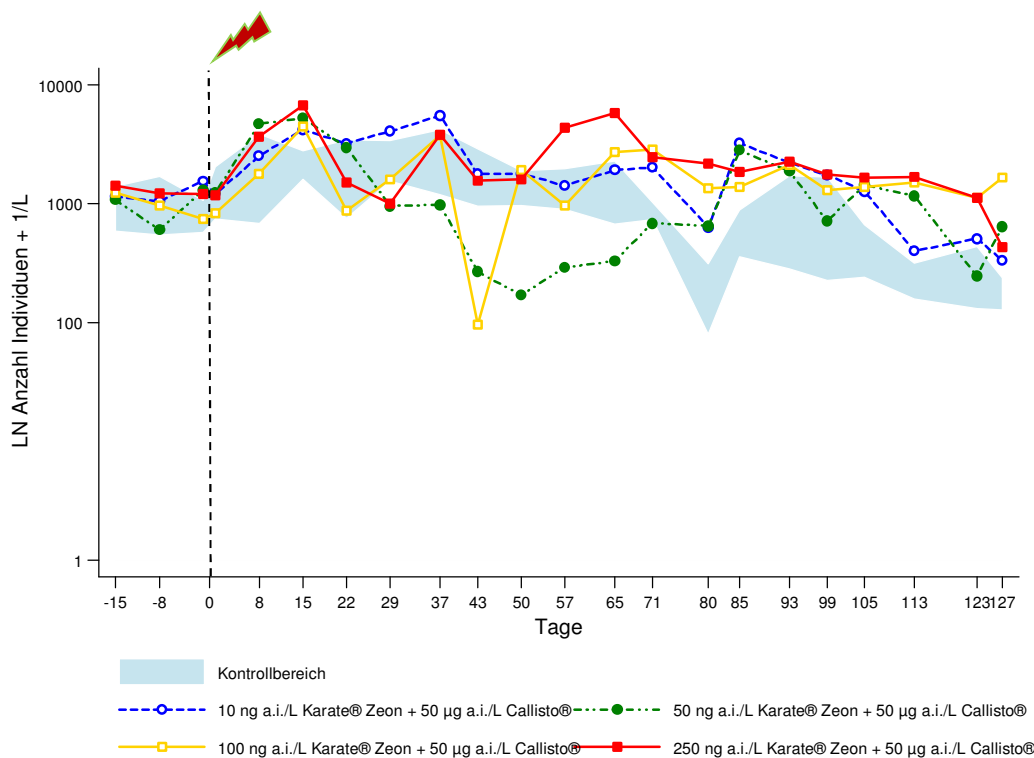


Abb. 39: Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 45: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme, (↑): Abundanz-Zunahme.

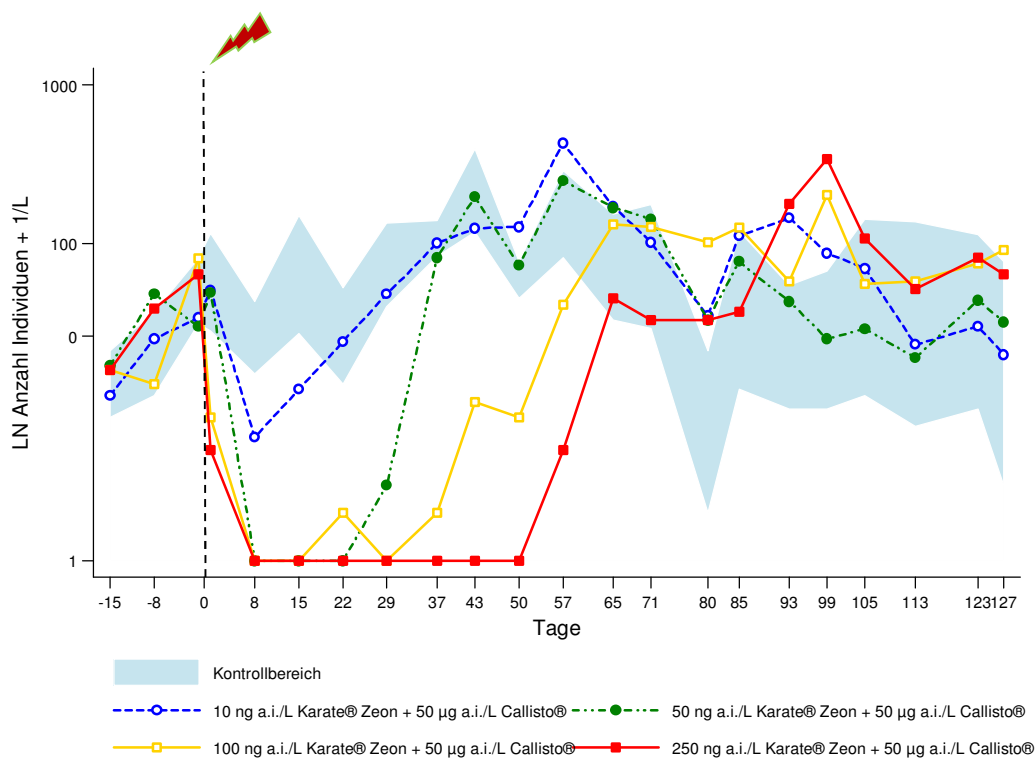
Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	80	85	93	99	105	113	123	127
NOEC			Z3				Z1					Z3					Z3		Z2
Gesamt-abundanz			(↑)				(↓)					(↑)					(↑)		(↑)

Im Gegensatz zu den sinkenden Taxazahlen zeigt sich ein rapider Anstieg der Individuenzahlen in den belasteten Enclosures. So weisen alle belasteten Kompartimente an Tag 8 nach der Applikation höhere Individuenzahlen im Vergleich zu den Kontrollen auf. Bei Betrachtung der zeitlichen Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft bei

zeitgleicher PSM-Applikation (Abb. 39) sticht der Verlauf der Individuenzahlen der zweiten Belastungsstufe Z2 (50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ins Auge: Ab Tag 29 bis Tag 71 lassen sich hier nur sehr geringe Individuenzahlen erfassen, welche zwar deutlich unterhalb des Kontrollbereichs liegen, jedoch nicht signifikant abweichen. Eine NOEC<sub>Gesamtabundanz</sub> für den gesamten Versuchszeitraum kann aufgrund der Datenlage (Tab. 45) nicht ermittelt werden.

## Copepoda (II)

### Cyclopoida (Adult + Copepoditstadien) (II)



**Abb. 40: Entwicklung der Cyclopoida-Population (Adulte + Copepoditstadien) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

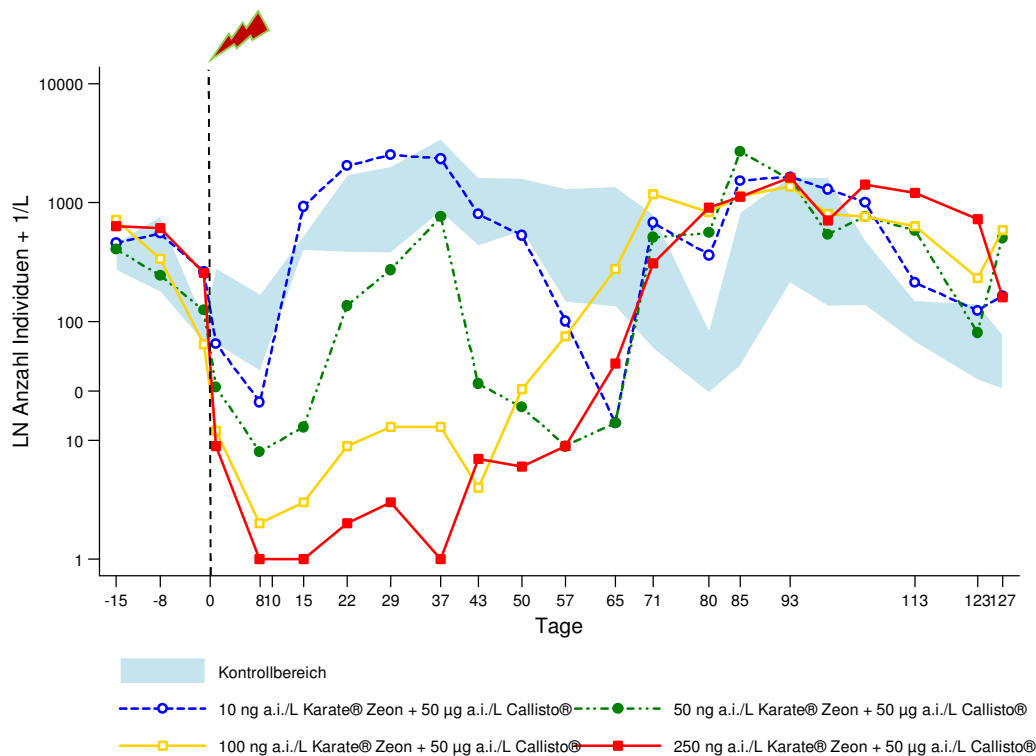
**Tab. 46: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Cyclopoida-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme, (↑): Abundanz-Zunahme.**

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	80	85	93	99	105	113	123	127
NOEC	Z2	<	<	Z1	Z1	Z2	Z2	Z2	Z2					Z3	Z3				
Cyclopoida	(↓)	Z1	Z1	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)					(↑)	(↑)				
		(↓)	(↓)																

Die Abundanzentwicklung der Copepoditstadien und adulten Tiere der Ordnung der Cyclopoida bei zeitgleicher Kombinationsbelastung zeigt in allen vier Konzentrationsstufen deutliche Effekte (Abb. 40). Diese treten bereits 24h nach Applikation der PSM auf (Z3 + Z4). Ab Tag 8 zeigen sich diese Effekte auch in den beiden niedrigsten Konzentrationsstufen (Z1 + Z2). Die Anzahl der erfassten Cyclopoida geht im Zuge dessen in den drei höchsten Belastungsstufen von im Durchschnitt 36 Individuen/Enclosure vor der Belastung auf 1 Individuum/Enclosure zurück. Die Beeinträchtigung der Cyclopoiden-Gemeinschaft in der niedrigsten Belastungsstufe fällt geringer aus. Hier gehen die Individuenzahlen auf 6 Cyclopoida/Enclosure an Tag 8 zurück. Auch die Erholung der belasteten Systeme folgt der Dosis-Wirkungs-Beziehung. Sie stellt sich in der niedrigsten Belastungsstufe bereits ab Tag 22 ein. Ab Tag 37 entspricht die Abundanz der Cyclopoida auch in den mit 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C belasteten Enclosures wieder denen der Kontrollbereiche. Die Systeme der beiden höchsten Belastungsstufen (Z3 + Z4) zeigen deutlich länger anhaltende Effekte. Eine Erholung in diesen Kompartimenten zeichnet sich erst ab Tag 65 ab.

Die NOEC für die Cyclopoiden-Population liegt unterhalb der niedrigsten Testkonzentration Z1, so dass diese nicht ermittelt werden konnte (Tab. 46).

**Nauplia (II)**



**Abb. 41: Entwicklung der Nauplia (Cyclopoida + Calanoida) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 47: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Nauplia-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme, (↑): Abundanz-Zunahme.**

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	80	85	93	99	105	113	123	127
NOEC		<Z	Z1	Z1	Z2	Z2	Z1	Z1	<Z	<Z						Z3	Z3	Z3	Z3
Nauplia		1	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	1	1						(↑)	(↑)	(↑)	(↑)
		(↓)							(↓)	(↓)									

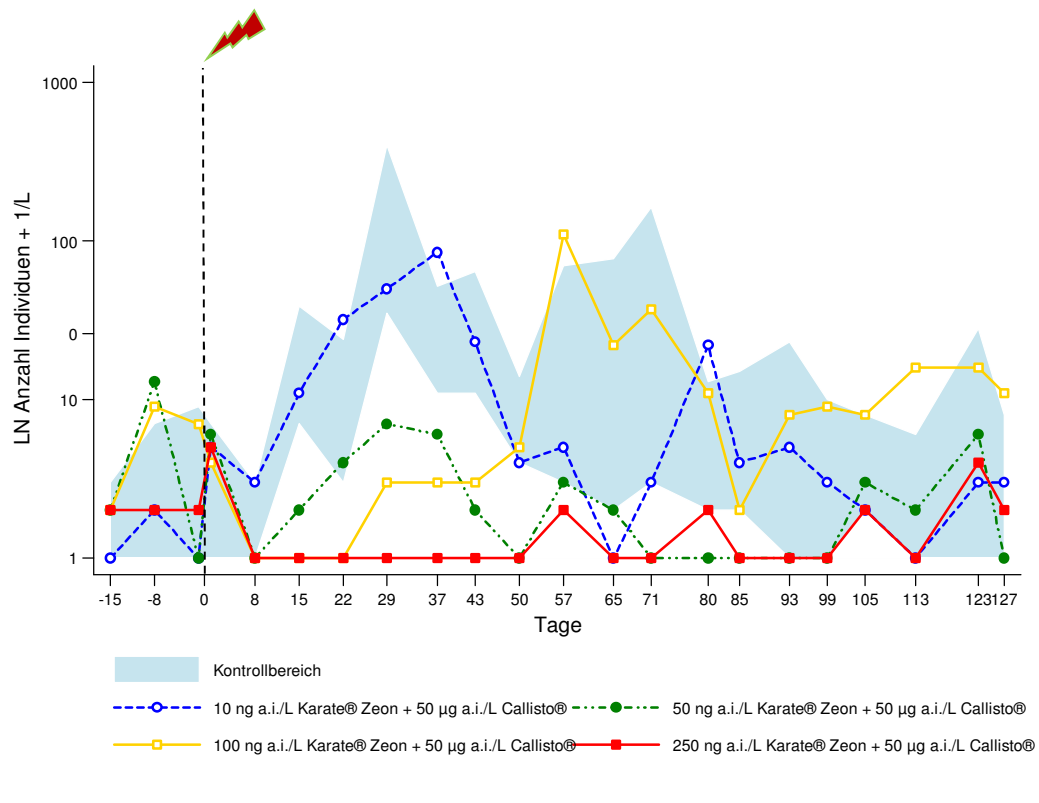
Eine direkte toxische Wirkung der PSM-Mischung auf die Population der Nauplia tritt ab Tag 8 in allen vier Belastungsstufen ein (Abb. 41). Diese Effekte spiegeln sich in Form einer Dosis-Wirkungsbeziehung wider. Mit steigender Insektizidkomponente fallen die erfassten Abundanzen der Nauplius-Larven nach Applikation des PSM-Gemischs geringer aus. Eine Erholung von den toxischen Auswirkungen der Applikation tritt ab Tag 66 (Z3) bzw. ab Tag 71 (Z1, Z2 und Z4) ein.



Auch die NOEC der Copepoden-Larve Nauplia liegt unterhalb der Testkonzentrationen Z1 – Z4 (Tab. 47).

**Cladocera (II)**

***Alona affinis* (II)**



**Abb. 42:** Entwicklung der *Alona affinis*-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 48:** Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die *Alona affinis*-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme.

Tag	1	8	15	22	29	37	43	50	57	65	71	80	85	93	99	105	113	123	127	
NOEC			Z1	Z2	Z1	Z1	Z1	<		Z3	Z3		Z1							
<i>A.affinis</i>			(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	Z1		(↓)	(↓)		(↓)							

Der zeitliche Verlauf der Abundanzen für die Cladocere *Alona affinis* (Abb. 42) zeigt deutliche Effekte ab Tag 8 für die Konzentrationsstufen Z2 – Z4. Diese toxischen Effekte

fallen umso stärker aus, desto höher die eingesetzte Insektizidkonzentration ist. Der Rückgang der Individuenzahlen folgt einer klassischen Dosis-Wirkungs-Beziehung. Ab Tag 50 befinden sich die Individuenzahlen in den Enclosures der dritten Belastungsstufe (100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) wieder im Bereich der Kontrollenclosures. In den Enclosures der zweiten Belastungsstufe (50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) erholt sich *Alona affinis* hingegen erst gegen Ende der Studie, ab Tag 99. In der niedrigsten Konzentrationsstufe mit einer Applikation von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C auf *Alona affinis* treten hingegen keine Effekte auf.

Für die Cladocere *Alona affinis* konnte eine  $\text{NOEC}_{A.affinis}$  berechnet werden. Sie beträgt **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C** und entspricht damit der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1. (Tab. 48)

Für die Gruppe der Rotifera traten keine relevanten, signifikanten Abweichungen aufgrund PSM-Applikation im Vergleich zu den unbelasteten Referenzkompartimenten auf.

### 3.2.6 MAKROPHYTEN (II)

Visuell konnte anhand der Schwimmblätter von *Potamogeton natans* zwei bis drei Wochen nach der PSM-Applikation in allen Konzentrationsstufen eine Chlorose festgestellt werden. Für die weiteren dominierenden Makrophytenarten *Elodea canadensis* und *Myriophyllum spicatum* zeichneten sich diese Effekte weniger deutlich ab. Jedoch konnten auch für diese Arten leichte Verfärbungen von Spross und Blättern im Verlauf der Mesokosmenstudie beobachtet werden.

3.2.7 PHYTOPLANKTON (II)

Innerhalb der Phytoplanktongesellschaft des Mesokosmos II wurden 57 Taxa erfasst (Tab. 49). Sie gehören 8 verschiedenen Stämmen an und lassen sich in die 15 folgenden Klassen unterteilen: Chlorophyceae (9 Taxa), Nephroselmidophyceae (1 Taxon), Pedinophyceae (1 Taxon), Trebouxiophyceae (5 Taxa), Ulvophyceae (2 Taxa), Cryptophyceae (2 Taxa), Cryptophycophyta incertae setis (1 Taxon), Cyanophyceae (9 Taxa), Klebsormidiophyceae (1 Taxon), Zygnematophyceae (7 Taxa), Bacillariophyceae (7 Taxa), Mediophyceae (1 Taxon), Dinophyceae (3 Taxa), Euglenophyceae (3 Taxa) und Chrysophyceae (4 Taxa).

Tab. 49: Liste der vorgefundenen Taxa der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON	
CHLOROPHYTA	Chlorophyceae	Sphaeropleales	Treubariaceae	<i>Treubaria</i> spp.	
			Ankistrodesmaceae	<i>Ankistrodesmus</i> spp. <i>Monoraphidium</i> spp.	
			Neochloridaceae	<i>Tetraedron</i> spp.	
			Scenedesmaceae	<i>Desmodesmus</i> spp. <i>Coelastrum</i> spp.	
	Volvocales		Carteriaceae	<i>Carteria</i> spp.	
			Chlamydomonadaceae	<i>Chlamydomonas</i> spp.	
			Volvocaceae	<i>Volvox</i> spp.	
	Nephroselmidophyceae	Nephroselmidales	Nephroselmidaceae	<i>Nephroselmis</i> spp.	
	Pedinophyceae	Scourfieldiales	Scourfieldiaceae	<i>Scourfieldia</i> spp.	
	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae	<i>Chlorella vulgaris</i>	
		Oocystales	Oocystaceae	<i>Nephrochlamis</i> spp. <i>Nephrocytium</i> spp. <i>Oocystis</i> spp. <i>Thorakochloris</i> spp.	
	Ulvophyceae	Ulotrichales	Gloeotilaceae	<i>Geminella</i> spp.	
			Ulotrichaceae	<i>Ulothrix</i> spp.	
	CRYPTO-PHYTA	Cryptophyceae	Cryptomonadales	Cryptomonadaceae	<i>Cryptomonas</i> spp. <i>Chroomonas</i> spp.
				Katablepharidaceae	<i>Katablepharis</i> spp.
Cryptophycophyta incertae sedis					

Tab. 49 (Forts.): Liste der vorgefundenen Taxa der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON
CYANOPHYTA	Cyanophyceae	Chroococcales	Chroococcaceae	<i>Chroococcus</i> spp.
		Nostocales	Nostocaceae	<i>Anabaena</i> spp.
			Rivulariaceae	<i>Gloeotrichia</i> sp.
		Oszillatoriales	Oszillatoriaceae	<i>Oszillatoria</i> spp.
				<i>Oszillatoria cf. rosea</i>
				<i>Sphaerolopsis</i> spp.
		Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	<i>Spirulina</i> spp.
Synechococcales	Merismopediaceae	<i>Merismopedia</i> spp.		
		<i>Snowella</i> spp.		
STREPTOPHYTA	Klebsormiophyceae	Klebsormidiales	Klebsormidiaceae	<i>Klebsormidium</i> spp.
	Zygnematophyceae	Zygnematales	Closteriaceae	<i>Closterium 1</i>
				<i>Closterium 2</i>
			Desmidiaceae	<i>Cosmarium 1</i>
				<i>Cosmarium 2</i>
				<i>Staurastrum</i> spp.
			Zygnemataceae	<i>Mougeotia</i> sp.
			<i>Spirogyra</i> spp.	
BACILLARIOPHYTA	Bacillariophyceae	Achnanthes	Achnanthaceae	<i>Achnanthes</i> spp.
		Bacillariales	Bacillariaceae	<i>Nitzschia</i> spp.
		Cymbellales	Cymbellaceae	<i>Cymbella</i> spp.
			Gomphonemataceae	<i>Gomphonema</i> spp.
		Fragilariales	Fragilariaceae	<i>Fragilaria capucina</i>
		Naviculales	Naviculaceae	<i>Navicula</i> sp.
	Rhopadiales	Rhopalodiaceae	<i>Epithemia</i> spp.	
Mediophyceae	Thalassiosilales	Stephanodidaceae	<i>Cyclotella</i> spp.	
DINOPHYTA	Dinophyceae	Gonyaulacales	Ceratiaceae	<i>Ceratium hirudinella</i>
		Gymnodiniales	Gymnodiniaceae	<i>Gymnodinium</i> spp.
		Peridinales	Peridiniaceae	<i>Peridinium</i> spp.

Tab. 49 (Forts.): Liste der vorgefundenen Taxa der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON
EU-GLENO- PHYTA	Euglenophyceae	Euglenales	Euglenaceae	<i>Euglena</i> spp. <i>Trachelomonas</i> spp.
		Eutreptiales	Astasiaceae	<i>Astasia</i> spp.
		Chrysophyceae	Chromulinales	Chromulinaceae
HETERO- KONTO- PHYTA	Chrysophyceae	Chromulinales	Dinobryaceae	<i>Dinobryon</i> sp.
UNBEKANNT				U1 bis U11

### 3.2.7.1 Principal Response Curves (PRCs) – Phytoplankton (II)

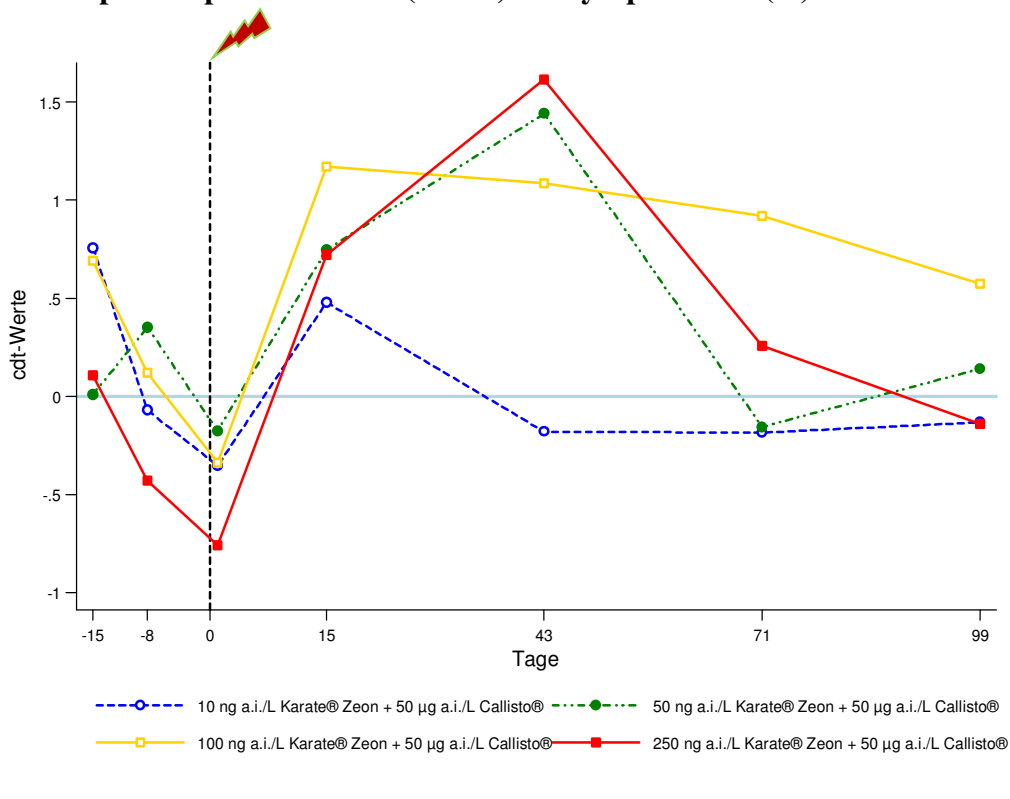


Abb. 43: PRC der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

Auch die PRC der Phytoplanktongesellschaft ist mit einem p-value von 0,002 signifikant. Abbildung 43 stellt 21,5% der Varianz grafisch dar. 27,4% der Gesamtvarianz wird durch den Beprobungstag erklärt, während 33,5% direkt durch den Eintrag der PSM-Mischung bedingt

sind. Die Ermittlung der Signifikanz pro Beprobungstag mittels Monte Carlo Permutationstest liefert nur für Tag 43 ein signifikantes Ergebnis.

Eine klare Dosis-Wirkungs-Beziehung der PRC lässt sich an keinem der Probennahmetage erkennen. Allerdings zeigt sich ein deutlicher Anstieg der cdt-Werte der drei höchsten Konzentrationsstufen (Z2 – Z4) ab einer Konzentrationsmischung von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C ab Tag 15 bis Tag 43 (Z2) sowie einschließlich Tag 71 für die beiden höchsten Belastungsstufen. Demgegenüber treten in der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1 mit 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C nur an Tag 15 erhöhte cdt-Werte auf.

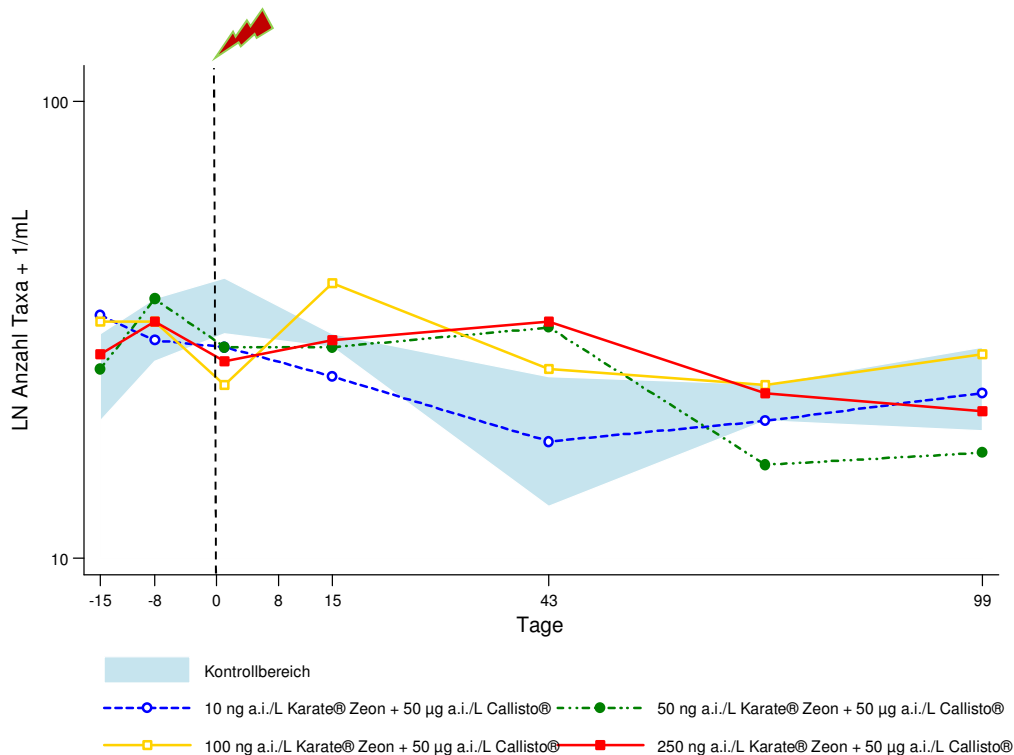
In Form der species scores zeigen sich eine Vielzahl an Phytoplankton taxa für den Verlauf der cdt-Werte verantwortlich (Tab. 50). Der größte Anteil dieser Taxa (12 Taxa) verläuft in seiner Abundanzentwicklung synchron zu den Kurven der PRC. Dem gegenüber steht die Art *Nephroselmis* spp., welche eine gegenläufige Populationsentwicklung aufweist.

**Tab. 50: Species scores (< - 1 und > 1) der Zooplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM.**

Taxon	species score	Taxon	species score
<i>Anabaena</i> spp.	4,32	<i>Mougeotia</i> sp.	1,77
<i>Scenedesmus</i> spp.	3,39	<i>Ceratium hirudinella</i>	1,48
<i>Ankistrodesmus</i> spp.	3,15	<i>Oocystis</i> spp.	1,50
<i>Gymnodinium</i> spp.	1,93	<i>Achnanthes</i> spp.	1,05
<i>Thorakochloris</i> spp.	1,89	<i>Navicula</i> sp.	1,05
<i>Dinobryon</i> sp.	1,87	<i>Nephroselmis</i> spp.	-1,00
<i>Gloeotrichia</i> sp.	1,83		

### 3.2.7.2 Biodiversität – Phytoplankton (II)

#### Biologische Vielfalt – Phytoplankton (II)



**Abb. 44: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Phytoplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

In der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1 mit einer Mischkonzentration von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C treten nach Applikation der beiden PSM keine Effekte auf. Indirekte Effekte lassen sich hingegen ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C feststellen. Die Anzahl verschiedener Phytoplankton-Taxa steigt in diesen belasteten Kompartimenten an den Tagen 15 und 43 gegenüber den Kontrollen an. Gegen Ende der Studie sinkt die Anzahl der Taxa innerhalb der Enclosures der Konzentrationsstufe Z2 unterhalb des Kontrollbereichs, während die beiden höchsten Konzentrationsstufen Z3 und Z4 wiederum den Kontrollen entsprechen. (Abb. 44)

**3.2.7.3 Dominanz – Phytoplankton (II)**

**Tab. 51: Dominanzverhältnisse innerhalb der Phytoplanktongesellschaft in der Kombinationsstudie bei zeitgleicher Applikation der PSM; 8 häufigste Klassen der Kontrollbereiche (MW) sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.**

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Klasse	Dominanz (%)	Dominanz-klasse	Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse
Heterokontophyta	20,95	subdominant	Heterokontophyta	24,48	subdominant
Chlorophyta	18,09	subdominant	Cyanopyhta	18,79	subdominant
Cryptophyta	17,76	subdominant	Chlorophyta	15,59	subdominant
Cyanopyhta	11,95	subdominant	Cryptophyta	7,34	dominant
Streptophyta	5,85	dominant	Streptophyta	4,16	dominant
Euglenophyta	3,37	dominant	Euglenophyta	3,70	dominant
Bacillariophyta	0,25	sporadisch	Dinophyta	2,27	rezedent
Dinophyta	0,23	sporadisch t	Bacillariophyta	0,22	sporadisch

Die Betrachtung der Dominanzverteilung der Phytoplanktonklassen über den Versuchszeitraum hinweg (Tab. 51) zeigt, dass eine Verschiebung der Dominanzverhältnisse zwischen den Kontroll-Enclosures und den belasteten Enclosures nur marginal zu erkennen ist. Die Gesellschaften beider Versuchsgruppen werden zum größten Teil durch die Klassen der Heterokontophyta, Chlorophyta, Cryptophyta und Cyanophyta bestimmt.

Im zeitlichen Verlauf der Entwicklung der Phytoplanktongesellschaft (Abb. 45) lassen sich die Unterschiede bezüglich der Zusammensetzung der Phytoplanktonklassen innerhalb der belasteten Systeme im Vergleich zu den unbelasteten Kontrollen nach der Applikation beider PSM erkennen. Während in den belasteten Kompartimenten eine Zunahme der Dominanz der Klassen Cyanophyta und Heterokontophyta zu verzeichnen ist, zeigt sich insbesondere in den Kompartimenten der beiden höchsten Konzentrationsstufen Z3 und Z4 (100 bzw. 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ein deutlicher Rückgang des Anteils der Cryptophyta innerhalb der Phytoplanktongesellschaft ab Tag 15.



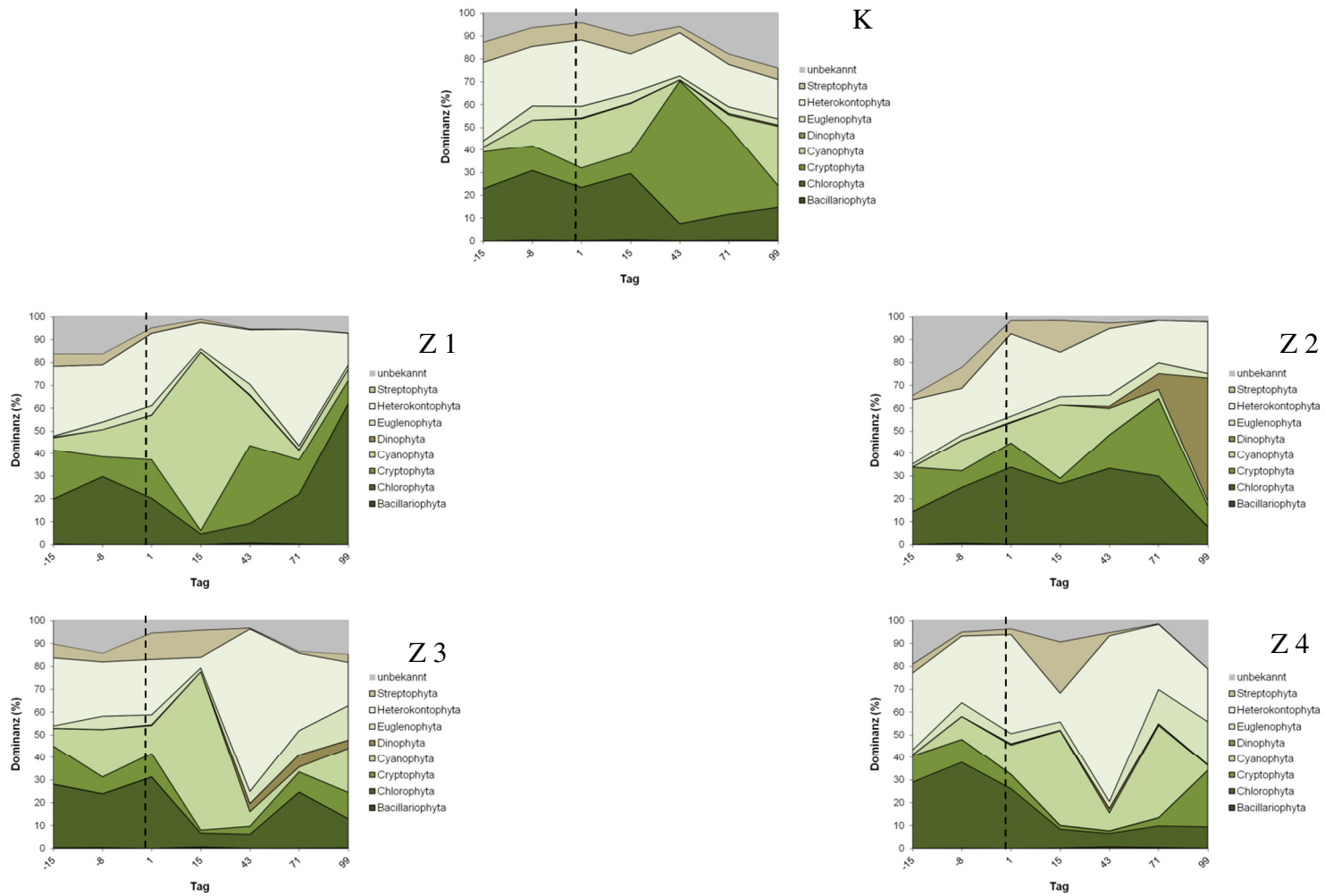
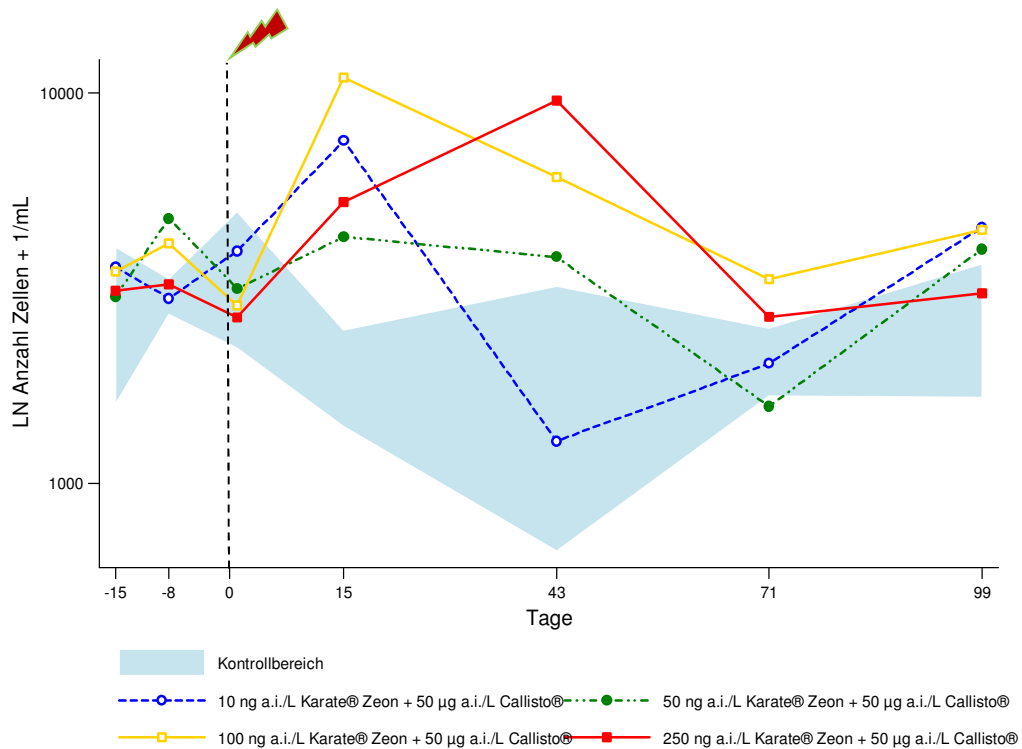


Abb. 45: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Phytoplanktongesellschaft bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.  
 ---- = Applikationszeitpunkt beider PSM.

### 3.2.7.4 Abundanz – Phytoplankton (II)

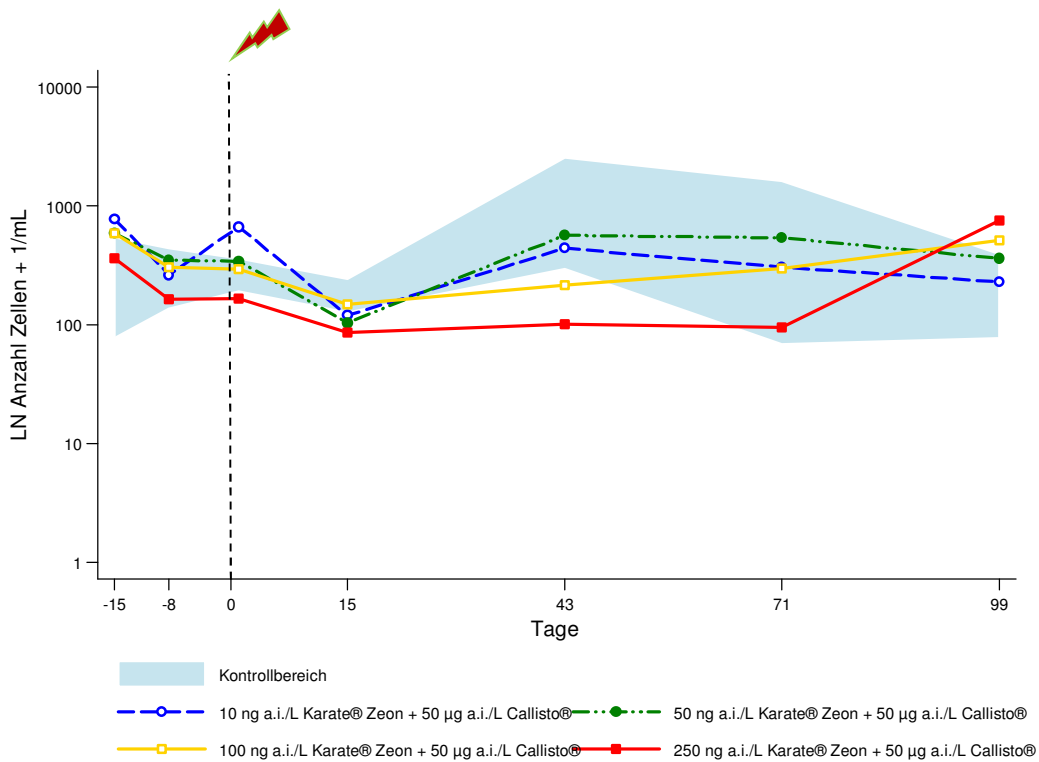
#### Gesamtabundanz – Phytoplankton (II)



**Abb. 46: Entwicklung der Gesamtabundanz der Phytoplanktontaxa bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Zwei Wochen nach Applikation der beiden PSM steigt die Gesamtabundanz des Phytoplanktons in allen belasteten Kompartimenten deutlich gegenüber den Kontrollenclosures an. Die erfassten Effekte in Form erhöhter Abundanzen folgen nur an Tag 43 einer Dosis-Wirkungs-Beziehung. Während die Abundanz der niedrigsten Konzentrationsstufe Z1 zu diesem Zeitpunkt bereits wieder den Kontrollkompartimenten gleicht, zeigen sich ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C deutlich erhöhte Abundanzwerte mit steigender Konzentration der Insektizidkomponente. (Abb. 46)

**Cryptophyta – Phytoplankton (II)**



**Abb. 47: Entwicklung der Cryptophyta-Population (Stamm) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwertes der beiden Replikate dargestellt.

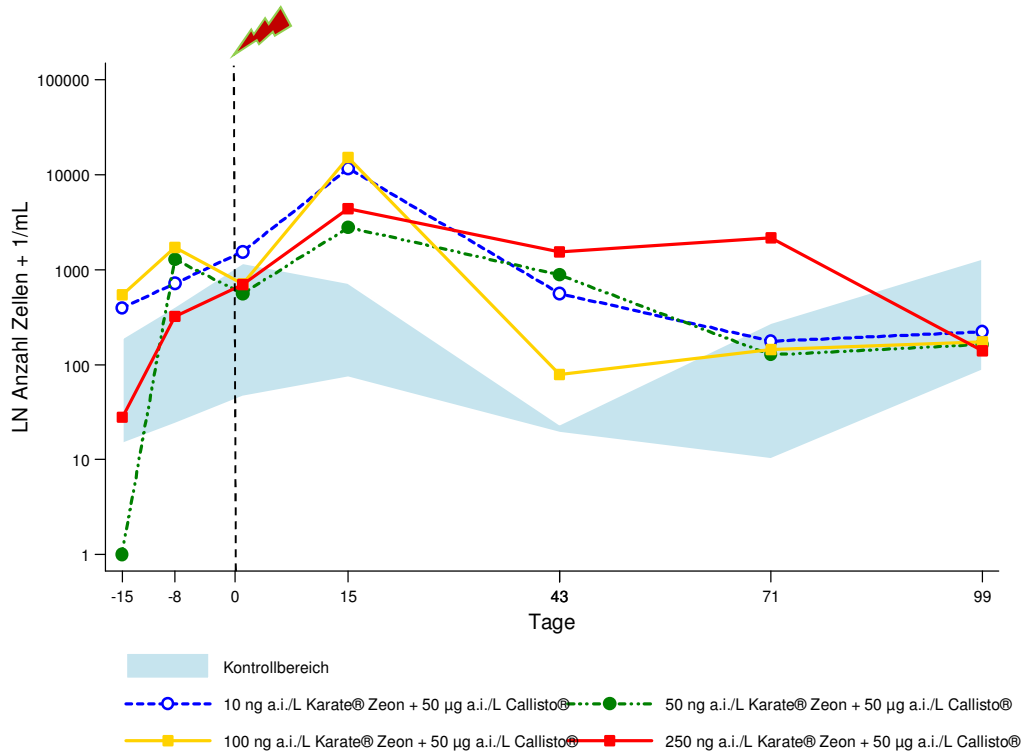
**Tab. 52: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Stamm Cryptophyta bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme.**

Tag	1	15	43	71	99
NOEC <sub>Cryptophyta</sub>		Z3 (↓)	Z3 (↓)		Z3 (↓)

Die Taxa *Cryptomonas* spp., *Chroomonas* spp. und *Katablepharis* spp. werden im Stamm der Cryptophyta zusammengefasst. Dessen zeitliche Entwicklung des Abundanzverlaufs zeigt nach der zeitgleichen Applikation der PSM-Mischung deutliche Effekte innerhalb der höchsten Belastungsstufe mit einer Konzentration von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C. Bis Tag 71 halten die Effekte, welche sich in Form erniedrigter Abundanzen zeigen, an. (Abb. 47)

Die ermittelte  $NOEC_{Cyanophyta}$  entspricht der Konzentrationsstufe Z3 mit einer applizierten PSM-Mischung von **100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C**. (Tab. 52)

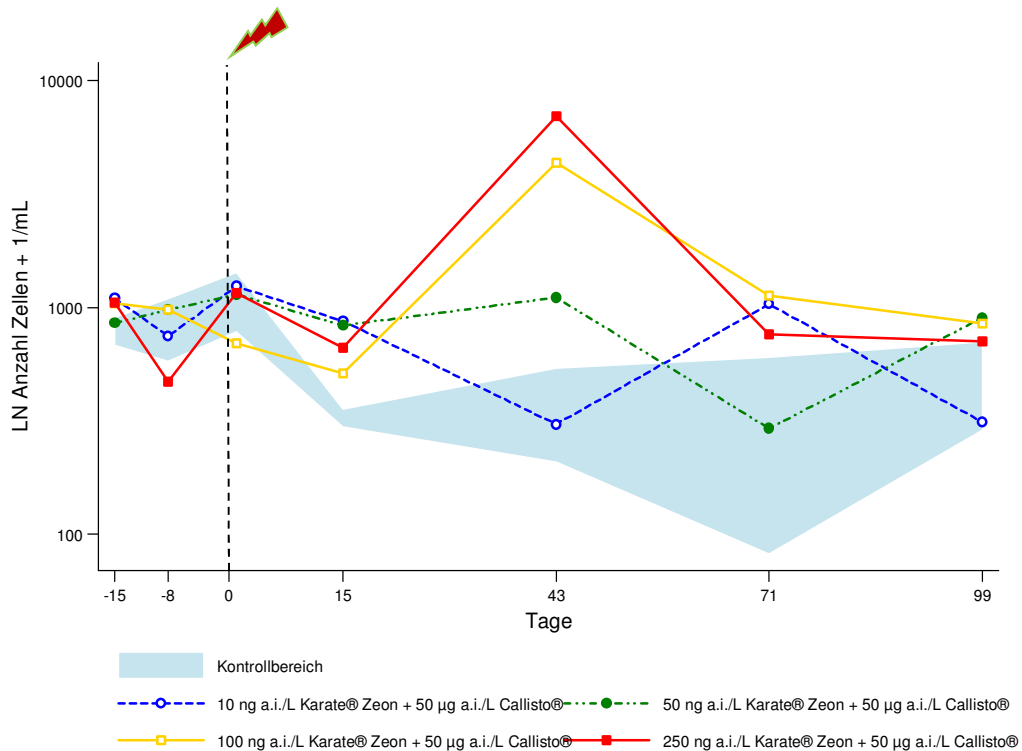
### Cyanophyta – Phytoplankton (II)



**Abb. 48: Entwicklung der Cyanophyta-Population (Stamm) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Für den Stamm der Cyanophyta, welcher die Taxa *Chroococcus* spp., *Anabaena* spp., *Gloeotrichia* spp., *Oszillatoria* spp., *Oszillatoria cf. rosea*, *Sphaerollopsis* spp., *Spirulina* spp., *Merismopedia* spp. und *Snowella* spp. beherbergt, treten Effekte in Form erhöhter Abundanzen ab Tag 15 in allen Belastungsstufen zu Tage (Abb. 48). Signifikante Unterschiede können nur für die höchste Konzentrationsstufe mit einer Applikation von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C an Tag 43 verzeichnet werden (Williamstest  $p < 0,05$ ). Aufgrund dessen lässt sich für den Stamm der Cyanophyta keine  $NOEC$  ermitteln.

**Heterokontophyta – Phytoplankton (II)**



**Abb. 49** Entwicklung der Heterokontophyta-Population (Stamm) bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Für den Stamm der Heterokontophyta, welcher die folgenden Taxa: *Chromulina* spp., *Uroglena* spp. und *Dinobryon* spp. umfasst, treten in allen belasteten Kompartimenten ab Tag 15 nach der PSM-Applikation erhöhte Abundanzen auf (Abb. 49). Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung lässt sich nur an Tag 43 nachweisen. Mittels Williamstest ( $p < 0,05$ ) lassen sich für den Stamm der Heterokontophyta keine signifikanten Unterschiede der belasteten Kompartimente gegenüber den Kontrollenclosures aufdecken, so dass eine NOEC nicht zu ermitteln ist.



### 3.3 MESOKOSMOS III

#### KOMBINATIONSBELASTUNG BEI VERSETZTER APPLIKATION

##### 3.3.1 PHYSIKALISCHE PARAMETER (III)

##### 3.3.1.1 Principal Response Curves (PRCs) – Physik (III)

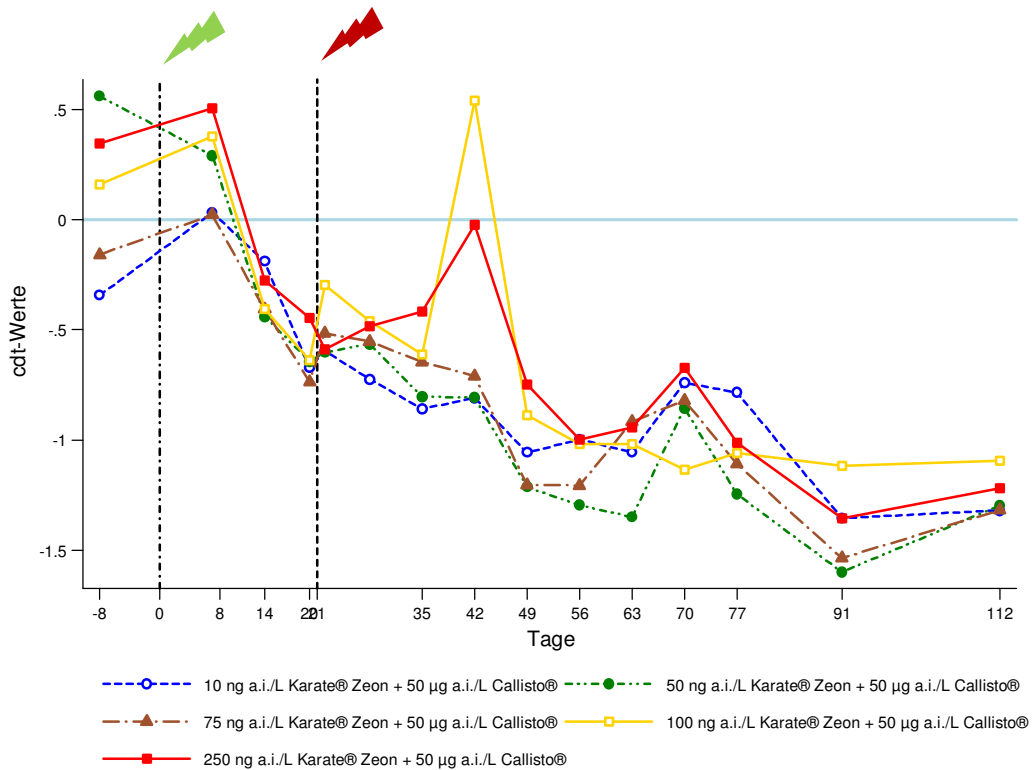


Abb. 50: PRC der Physikalischen Parameter pH, LF ( $\mu\text{S}/\text{cm}^3$ ), T ( $^{\circ}\text{C}$  a. d. Oberfläche,  $\text{O}_2$  ( $\text{mg}/\text{L}$  a. d. Oberfläche, sowie in 1m Tiefe)) bei versetzter Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

Tab. 53: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* :  $p < 0,05$ , \*\* :  $p < 0,01$ .

Tag	-8	8	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
Signifikanz	-	-	-	-	-	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**

Die PRC für die Physikalischen Parameter pH, LF, T und O<sub>2</sub> ist mit einem p-Wert von 0,002 signifikant. Die Validierung der Signifikanz pro Tag deckt signifikante Abweichungen der belasteten Testkompartimente erst nach der Applikation des Insektizids KaZ von Tag 28 bis zum Ende der Mesokosmenstudie an Tag 112 auf (Tab. 53). In der Vorbelastungsphase, als auch im direkten Anschluss an die Herbizidbelastung mit C an Tag 0 können statistisch keine Effekte durch die Applikation festgestellt werden.

27,5% dieser Varianz wird durch den zeitversetzten Eintrag der beiden Pestizide in die Testsysteme verursacht. In der Darstellung der PRC wurden 66,8% dieser Varianzen grafisch verarbeitet. 44,7% der gesamten Varianz kann durch die unterschiedlichen Beprobungszeitpunkte erklärt werden.

Trotz des Umstandes, dass sich mittels Monte Carlo Permutation erst ab Tag 28 signifikante Unterschiede zwischen den Kontroll- und den belasteten Enclosures dokumentieren lassen, zeigt die visuelle Betrachtung der PRC eine deutliche Reaktion der belasteten Systeme auf den Eintrag einer konstanten Konzentration des Herbizids C (Abb. 50). Während die einzelnen Testkompartimente in der Vorbelastungsphase erhebliche Schwankungen in Bezug auf ihre cdt-Werte aufweisen, nähern sich die cdt-Kurven der fünf Belastungsstufen nach dessen Applikation deutlich an. Ein weiterer Hinweis auf eine Veränderung der physikalischen Bedingungen innerhalb der belasteten Systeme äußert sich in einem Abwärtstrend der cannonischen Werte ab Tag 14. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung kann erst nach der zusätzlichen Applikation der Testkompartimente mit ansteigenden Konzentrationen des Insektizids KaZ beobachtet werden. Diese treten zwischen Tag 21 und Tag 42 für die drei niedrigsten Konzentrationsstufen mit 10, 50 und 75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C auf. Allerdings verlaufen diese Effekte der Kompartimente V1 – V3 gegenläufig zu dem Konzentrationsgradienten, so dass die Enclosures höherer Konzentrationsstufen eine geringere Abweichung gegenüber den Kontrollen aufweisen und umgekehrt. Die beiden höchsten Konzentrationsstufen V4 und V5 mit einer Pestizidmischung von 100 ng a.i./L bzw. 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C weisen zwischen Tag 28 und Tag 49 deutlich höhere cdt-Werte im Vergleich zu den restlichen belasteten Enclosures auf, wechseln jedoch ihre Position im Verlauf der Entwicklung mehrfach. In allen belasteten Kompartimenten erfolgt ein Anstieg der cdt-Werte an Tag 70. Dieser hält jedoch nicht an, so dass sich die Werte ab Tag 77 bis zum Ende der Studie wiederum weiter von der Referenzlinie entfernen und in



keinem der belasteten Enclosures eine Erholung der physikalischen Parameter erfolgt. (Abb. 70)

Die  $NOEC_{\text{Physik}}$  liegt entspricht der niedrigsten Konzentrationsstufe V1 mit einer Applikationsmenge von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C. (Tab. 54)

**Tab. 54: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ).**

Tag	8	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC				V2, V5 sig.		<V1	V3	<V1				V1	V1	<V1
Physik														

Entsprechend der species scores bei zeitgleicher Applikation (vgl. Pkt.3.2.2.1, Tab. 25) der beiden Pflanzenschutzmittel, zeigen auch bei zeitversetzter Applikation die physikalischen Parameter pH-Wert und Sauerstoffgehalt mit einer positiven Korrelation zum Verlauf der PRC; sowie die Leitfähigkeit mit einer negativen Korrelation, empfindliche Reaktionen aufgrund des PSM-Eintrags an (Tab. 55).

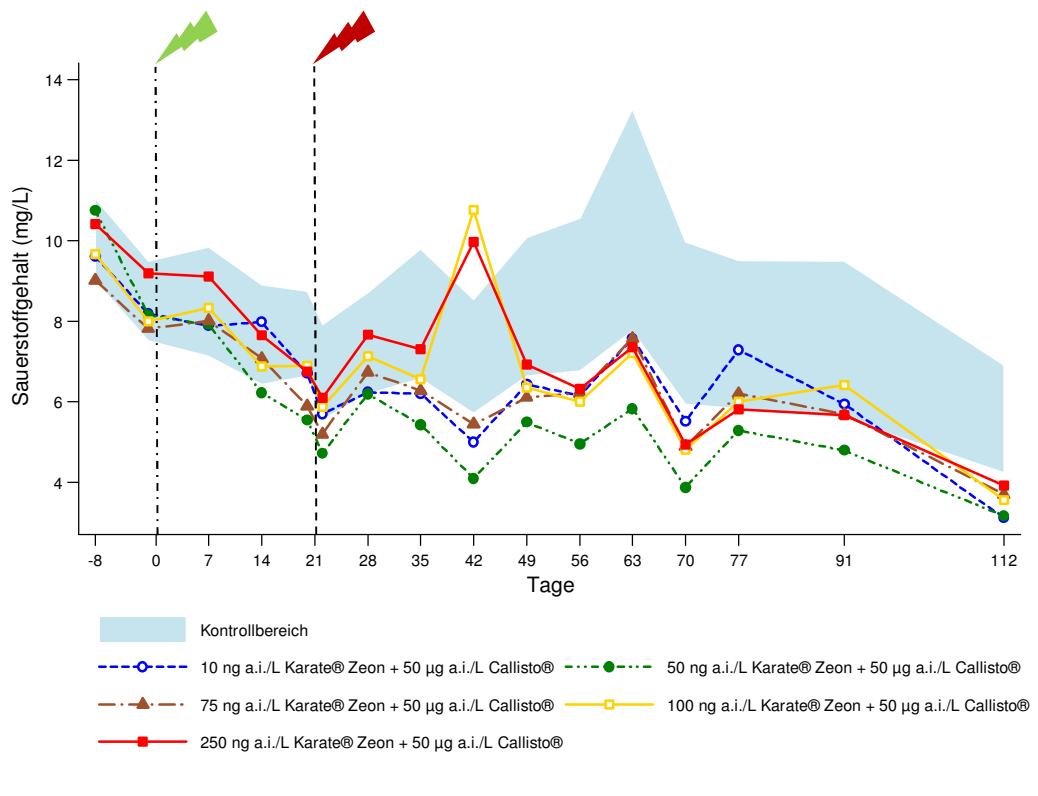
**Tab. 55: Species scores ( $< - 0,5$  und  $> 0,5$ ) der Physikalischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM.**

Parameter	Species score
pH-Wert	1,16
O <sub>2</sub> (mg/L) an der Oberfläche	0,98
O <sub>2</sub> (mg/L) in 1 m Tiefe	0,81
Leitfähigkeit (µS/cm <sup>3</sup> )	-1,43

### 3.3.1.2 Entwicklung der physikalischen Parameter (III)

#### Sauerstoffgehalt (III)

Stellvertretend für den Verlauf der Sauerstoffkonzentrationen innerhalb der Testsysteme stellt Abbildung 51 die Entwicklung der Sauerstoff-Werte an der Oberfläche der Testkompartimente über den Versuchszeitraum hinweg dar. Die Entwicklung des Sauerstoffgehaltes in 1 m Tiefe der Testkompartimente verläuft annähernd vergleichbar, so dass von einer Darstellung abgesehen wurde.



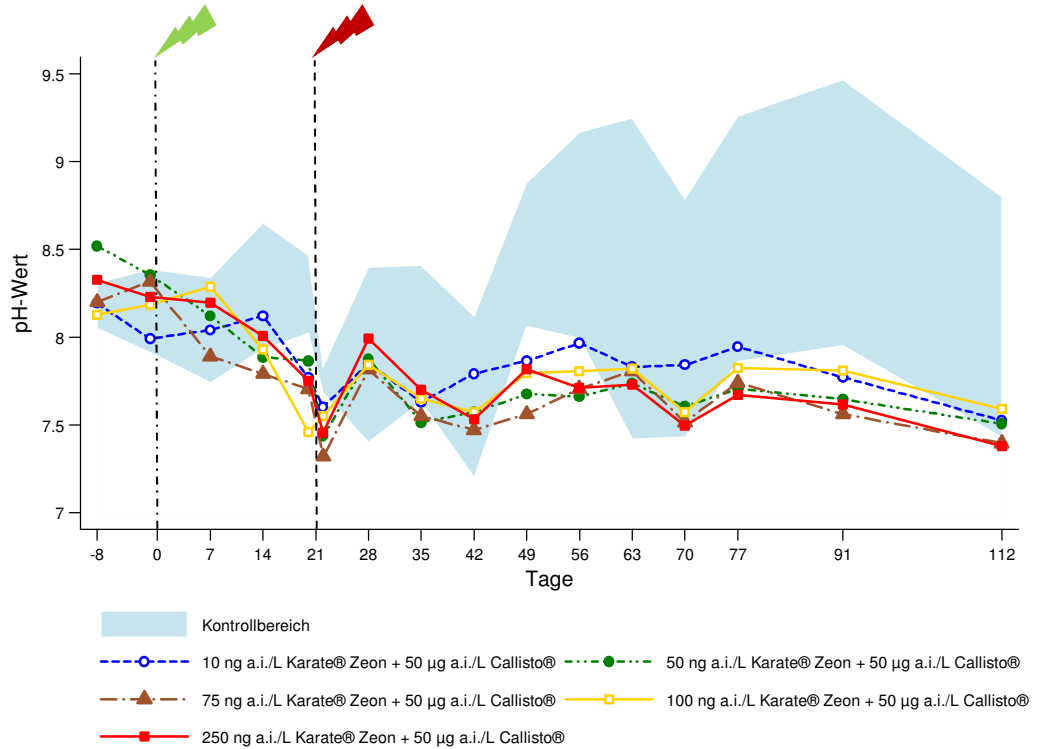
**Abb. 51: Entwicklung des Sauerstoffgehalts bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 56: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Sauerstoffgehalt (mg/L a. d. Oberfläche) bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : absinkende Werte; (↑): steigende Werte.

Tage	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub>O2</sub>							V3	V2			V2		V1	V1
							(↑)	(↓)			(↓)		(↓)	(↓)

Für die Sauerstoffkonzentrationen innerhalb der Enclosures kann keine NOEC<sub>O2</sub> bestimmt werden, da diese unterhalb der getesteten Konzentrationsstufen liegt. Signifikante Unterschiede zwischen den belasteten Kompartimenten im Vergleich zu ihren Referenzkompartimenten zeigen sich an Tag 42 (V4 und V5), Tag 49 (V2 – V5), Tag 70 (V2 – V5), Tag 91 (nur V1) sowie an Tag 112 für alle belasteten Enclosures (Tab. 56). Zu Beginn der Mesokosmenstudie III betragen die gemessenen Sauerstoffkonzentrationen im Schnitt 9,91 mg/L. Durch die natürliche jahreszeitliche Sukzession weisen die Enclosures der Kontrollen gegen Ende des Versuchs eine durchschnittliche Sauerstoffkonzentration von 5,23 mg/L auf. Die Betrachtung der Verlaufskurven für die Sauerstoffkonzentrationen innerhalb der belasteten Enclosures lassen bereits 14 Tage nach Applikation des Herbizides einen Abwärtstrend, welcher bis Tag 35 in den Kompartimenten V1 sowie V3 bis V5 noch mit dem natürlichen Absinken der Sauerstoffkonzentrationen in den Kontrollen einhergeht, erkennen. Die Sauerstoff-Konzentrationen der Enclosures der Konzentrationsstufe V2 (50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) hingegen sinken bereits an Tag 14 unter die Werte der Referenzenclosures und können bis zum Ende der Studie die Konzentrationswerte des Kontrollbereichs nicht mehr erreichen. Auch die Konzentrationsstufen V1 und V3 (10 bzw. 75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) befinden sich im Anschluss an die Herbizidbelastung dauerhaft am unteren Rand der Kontrollwerte bzw. deutlich unter diesen. Nach Applikation des Insektizids KaZ steigen die Werte für die Sauerstoffkonzentrationen der belasteten Kompartimente bis Tag 28 (V1 – V3) bzw. Tag 42 (V4 und V5) nochmals deutlich an und befinden sich innerhalb der Kontrollbereiche. Ab Tag 49 zeigen sich wiederum für alle Konzentrationsstufen Sauerstoffkonzentrationen am unteren Rand bzw. Werte unterhalb des Kontrollbereichs. Dieser Zustand hält bis zum Ende der Studie an Tag 112 an, so dass in keinem der belasteten Kompartimente eine Recovery zu beobachten ist.

pH-Wert (III)



**Abb. 52: Entwicklung des pH-Wertes bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

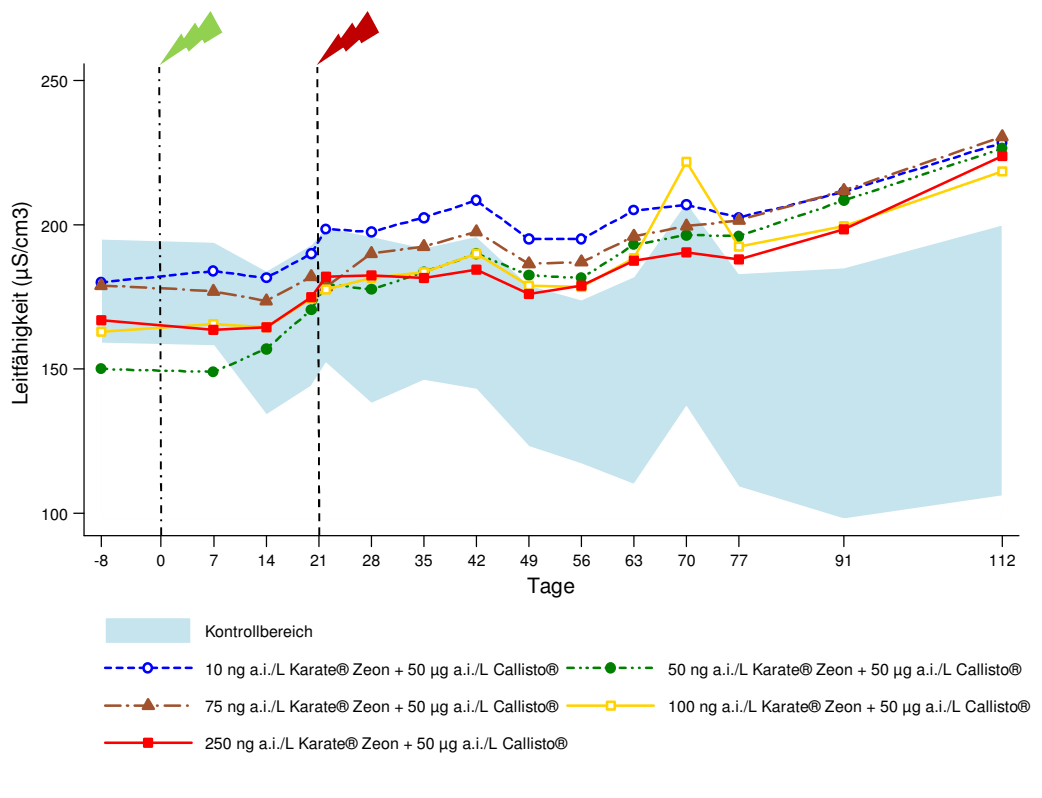
Mit einem pH-Wert von durchschnittlich 8,19 zu Beginn der Mesokosmenstudie in den Kontrollen sowie einem pH-Wert von 7,88 an Tag 112 befindet sich das aquatische Testsystem im alkalischen Milieu. Im jahreszeitlichen Verlauf nimmt die Streubreite des Kontrollbereichs stetig zu (Abb. 52). Dennoch zeigt die Betrachtung der Grafik deutlich, dass die pH-Werte der belasteten Kompartimente nach Applikation des Herbizids an Tag 0 deutlich unter die Kontrollwerte absinken. Signifikante Abweichungen lassen sich an Tag 20 für alle belasteten Konzentrationsstufen feststellen (Tab. 57). Im Anschluss an die Applikation des Insektizids steigt der pH-Wert in allen belasteten Enclosures wieder auf das Kontrollniveau an und entspricht einige Zeit den Kontrollbereichen. Die pH-Werte der belasteten Enclosures befinden sich in diesem Zeitraum allerdings dauerhaft im Bereich der minimalen Kontrollwerte. An den Tagen 49 (für alle belasteten Kompartimente) 56 (für V2 bis V5) sowie 91 (wiederrum für alle belasteten Kompartimente) lassen sich signifikante Abweichungen feststellen. Trotz der eindeutigen Abnahme des pH-Wertes in allen belasteten Enclosures bleiben auch diese Kompartimente mit pH-Werten von 7,32 (V3 an Tag 22) bis

8,28 (V4 an Tag 7) nach der PSM-Belastung im leicht alkalischen bis alkalischen Milieu. Eine  $\text{NOEC}_{\text{pH}}$  lässt sich nicht bestimmen, da diese unterhalb der untersuchten Testkonzentrationen liegt.

**Tab. 57: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den pH-Wert bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : absinkende Werte.**

Tage	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
$\text{NOEC}_{\text{pH}}$			<V1	V1				<V1	V1				<V1	
			(↓)	(↓)				(↓)	(↓)				(↓)	

Leitfähigkeit (III)



**Abb. 53: Entwicklung der Leitfähigkeit bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Signifikante Unterschiede zwischen den belasteten Enclosures und den Kontrollenclosures treten an Tag 35 für die niedrigste Konzentrationsstufe (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) sowie an den Tagen 49 - 63 und 77 - 112 für alle fünf Konzentrationsstufen auf (Tab. 58). Aufgrund dessen liegt auch für die elektrische Leitfähigkeit die  $NOEC_{LF}$  unterhalb der getesteten Konzentrationen. Im Gegensatz zu den physikalischen Parametern Sauerstoffgehalt und pH-Wert, welche mit einer Abnahme ihrer Werte auf die PSM-Belastung reagieren, steigen die Leitfähigkeitswerte nach Applikation des Herbizides an. Der Aufwärtstrend ist ab Tag 14 (V2) bzw. Tag 20 (V1 und V3 – V5) zu erkennen und hält bis zum Ende der Studie an (Abb. 53).

Tab. 58: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Leitfähigkeit bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↑): steigende Werte.

Tage	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub>LF</sub>						VI sig.		<V1 (↑)	<V1 (↑)	<V1 (↑)		<V1 (↑)	<V1 (↑)	<V1 (↑)

### 3.3.2 CHEMISCHE PARAMETER (III)

#### 3.3.2.1 Principal Response Curves (PRCs) – Chemie (III)

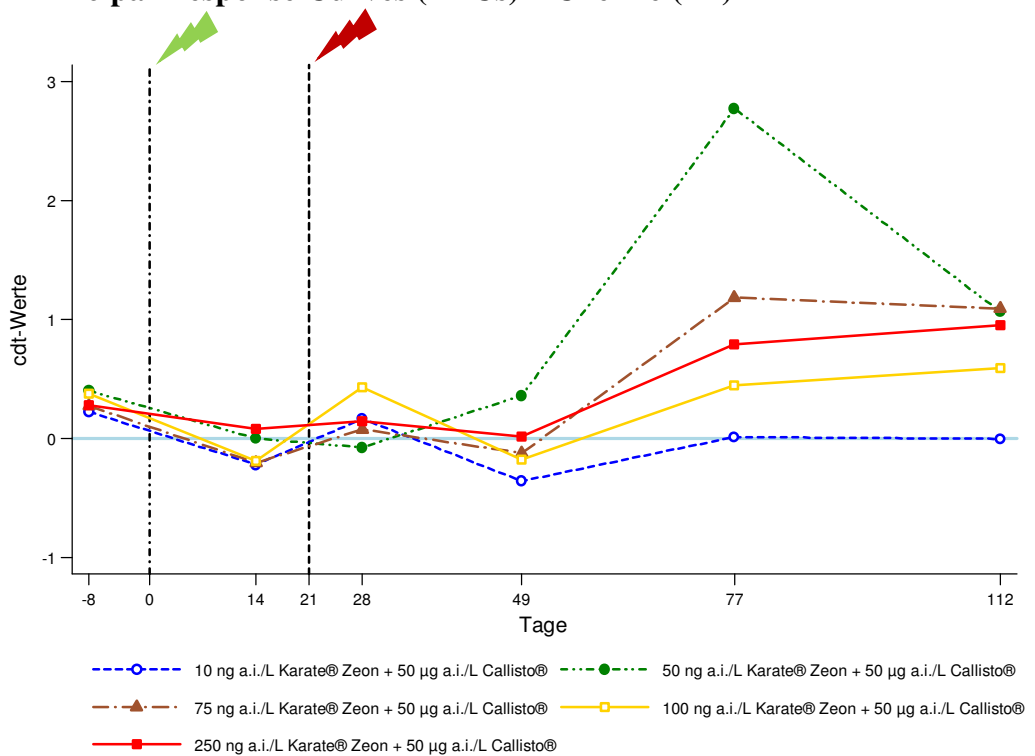


Abb. 54: PRC der Chemischen Parameter  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , SRP und TP bei versetzter Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

**Tab. 59: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* : p < 0,05, \*\* : p < 0,01.**

Tag	-8	14	28	49	77	112
Signifikanz	-	-	-	-	-	**

Für die chemischen Parameter der Mesokosmenstudie III wurden zwei PRCs gerechnet: in die erste PRC wurden die Parameter  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , SRP und TP aufgenommen, in der zweiten PRC zusätzlich die Werte der Chlorophyll-Messungen. Beide PRCs sind mit einem p-Wert von 0,002 (ohne Chlorophyll) bzw. 0,004 (mit Chlorophyll) über den gesamten Versuchszeitraum hinweg signifikant. Die Aufschlüsselung der signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen Kontrollen vs. belastete Enclosures mittels Monte Carlo Permutationstest pro Beprobungstag konnte jedoch für die PRC mit Chlorophyll-Gehalt keine Signifikanzen aufdecken. Für die PRC mit Einbeziehung des Chlorophyll-Gehalts ergibt sich eine signifikante Abweichung der belasteten Kompartimente gegenüber den Kontrollen an Tag 112 (Tab. 59). Die weiteren Erläuterungen beziehen sich auf die PRC-Berechnung ohne den Chlorophyll-Gehalt. Ihre grafische Darstellung zeigt Abbildung 54. Während 29,6% der Gesamtvarianz durch die Beprobungstage bedingt ist, können weitere 41,1% durch die Behandlung erklärt werden. 49,6% dieser durch die Belastungssituation bedingten Varianzen werden in der Grafik abgebildet. Der Verlauf der cdt-Werte der belasteten Enclosures zeigt bis Tag 49 keinerlei Auffälligkeiten. Erst ab Tag 77 bis Tag 112 lassen sich deutlich erhöhte Werte ab einer Konzentrationsstufe von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (V2 bis V5) feststellen.

Eine NOEC für die chemischen Parameter konnte nicht ermittelt werden, da signifikante Veränderungen der belasteten Enclosures gegenüber den Kontrollenclosures nur sporadisch auftraten (Tab. 60).



**Tab. 60:** Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ).

Tag	14	28	49	77	112
NOEC	<V1		V4		V3

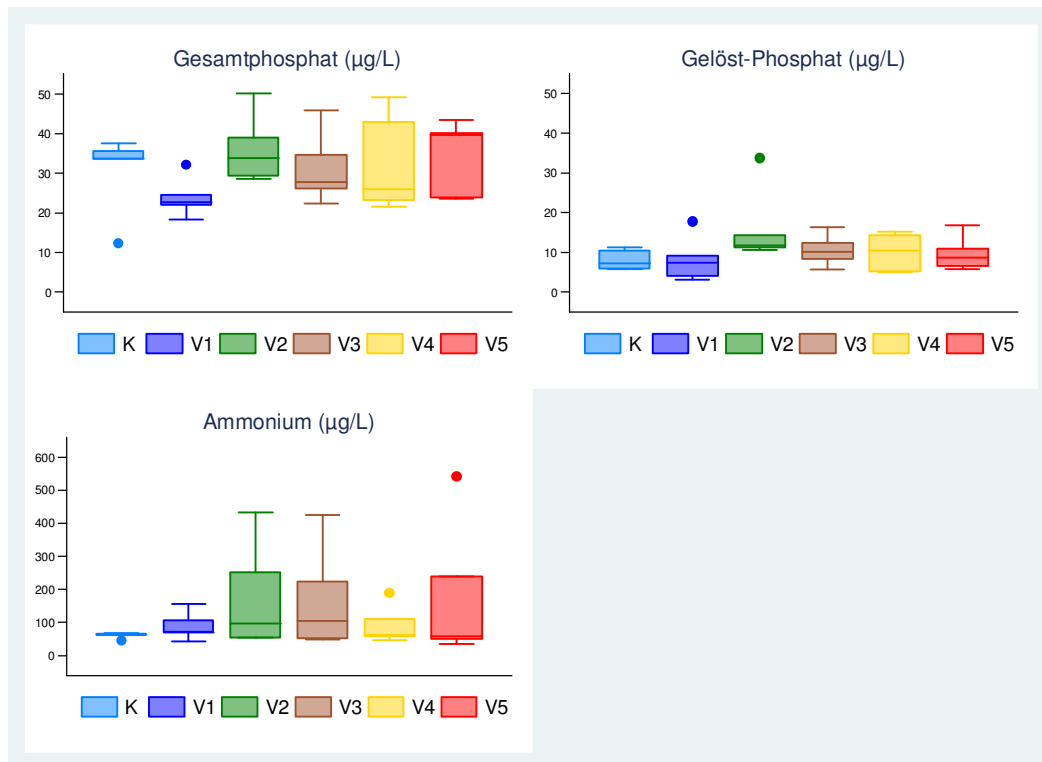
Eine positive Affinität zum Verlauf der PRC-Kurven zeigen die species scores für die chemischen Parameter Gesamt- und Gelöstphosphat und Ammoniumgehalt (Tab. 61).

**Tab. 61:** Species scores der Chemischen Parameter bei versetzter Applikation der beiden PSM.

Parameter	Species score
SRP	1,23
TP	1,12
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,11

### 3.3.2.2 Entwicklung der chemischen Parameter (III)

Einen Aufschluss über die zeitliche Entwicklung dieser drei chemischen Wasserparameter über den Versuchszeitraum liefert ihre grafische Darstellung in Form von Box-and-Whisker-Plots (Abb. 55). Die Streubreite der chemischen Parameter TP, SRP und  $\text{NH}_4^+$  über den gesamten Versuchszeitraum wird dabei ersichtlich.

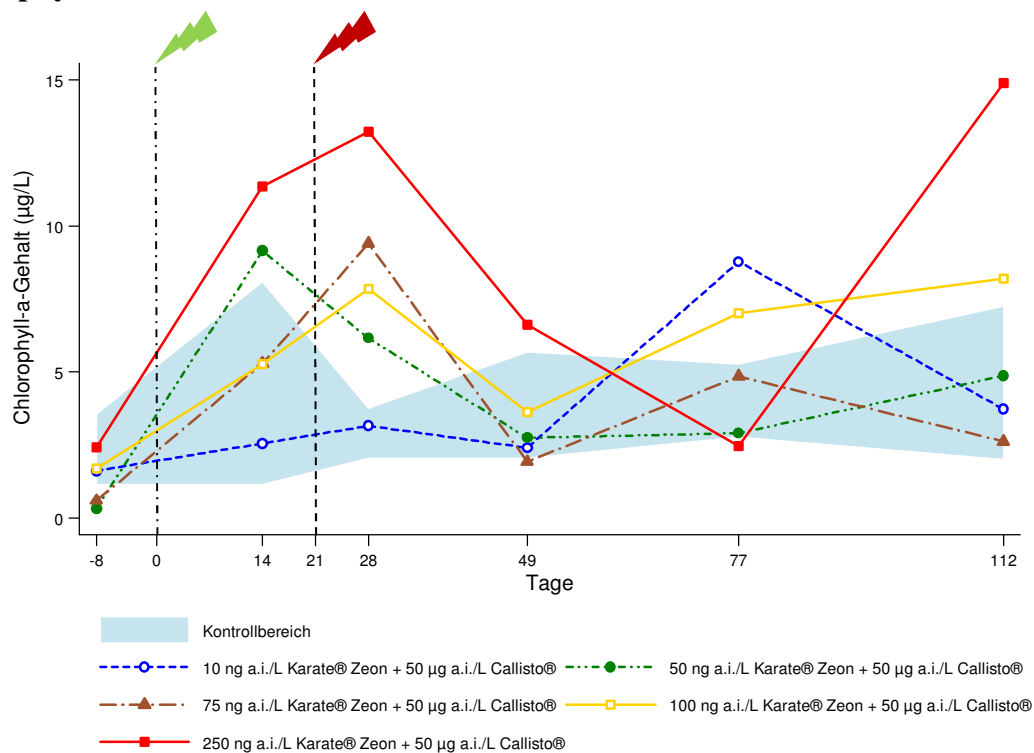


**Abb. 55: Box-and-Whisker-Plots der wasserchemischen Parameter zwischen Tag 1 und Tag 112 (n = 6) bei versetzter Applikation der beiden PSM; (K = Kontrollen, V1 = 10 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto®, V2 = 50 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto®, Z3 = 75 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto®, Z4 = 100 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto®, Z5 = 250 ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg a.i./L Callisto®).**

Eine Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen der Kontrollen und der belasteten Enclosures mittels Mann-Whitney-U-Test ( $\alpha = 0,05$ ) konnte keine gravierenden, signifikanten Veränderungen für diese wasserchemischen Parameter aufdecken. So zeigen sich in den dargestellten Grafiken nur marginale Unterschiede zwischen den Testkompartimenten. Die Betrachtung der Box-and-Whisker-Plots für die Phosphatverbindungen TP und SRP stützen dieses Ergebnis. Sowohl in den Kontrollkompartimenten als auch in den Kompartimenten der Belastungsstufen V1 bis V5

treten im Schnitt Phosphatkonzentrationen von ca. 30,4 µg/L für den Gesamtphosphat-Gehalt (TP) sowie ca. 9,5 µg/L für den Anteil des gelösten, reaktiven Phosphors (SRP) auf. Der Blick auf die Box-and-Whisker-Plots für Ammonium zeigt dagegen deutliche Tendenzen. So steigt die Streubreite der NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Konzentrationen insbesondere in den Belastungsstufen V2, V3 und auch V5 auf 178 µg/L (V2), 173 µg/L (V3) sowie 143 µg/L (V5) im Mittel an. Im Gegensatz dazu weisen die Konzentrationen in den Kontrollkompartimenten sowie in den beiden anderen Teststufen V1 und V4 durchschnittliche Werte unter 100 µg/L auf (61 µg/L (K), 89 µg/L (V1) und 92 µg/L (V4)).

### Chlorophyll-Gehalt



**Abb. 56: Entwicklung des Chlorophyll-Gehalts bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 62: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für den Chlorophyll-Gehalt bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): absinkende Werte, (↑): steigende Werte.**

Tag	14	28	49	77	112
NOEC <sub>Chlorophyll</sub>	V4	V4	V4		
	(↑)	(↑)	(↑)		

Sowohl in den Kontrollen als auch in den belasteten Enclosures lässt sich in den ersten beiden Versuchswochen ein Anstieg des Chlorophyll-Gehalts feststellen (Abb. 56). Für die Enclosures der Belastungsstufen V2 bis V4 (50, 75, 100 und 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) steigen die Chlorophyll-Konzentrationen nach der Applikation des Herbizides C über die Werte des Kontrollbereichs hinweg an. Die Konzentrationen der Belastungsstufe V1 bewegen sich hingegen weiterhin im Bereich der Kontrollen. Nach der Insektizidapplikation an Tag 21 sinken die Werte der Chlorophyll-Konzentrationen der vier höchsten Belastungsstufen nach und nach ab, so dass sie sich ab Tag 49 bis auf einzelne Ausnahmen wieder den Chlorophyll-Werten des Kontrollbereichs angleichen.

Die vierte Konzentrationsstufe mit einer Applikationsmenge von 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C kann als  $NOEC_{\text{Chlorophyll}}$  ermittelt werden. (Tab. 62)

### 3.3.3 MAKROINVERTEBRATEN (III)

Die Makroinvertebratengesellschaft innerhalb des Mesokosmos III umfasst 23 verschiedene Taxa (Tab. 63). Die Klasse der Insecta nimmt anzahlmäßig den größten Stellenwert mit den Ordnungen Coleoptera (3 Taxa), Diptera (7 Taxa), Hemiptera (3 Taxa), Lepidoptera (1 Taxon), Odonata (2 Taxa) und Trichoptera (1 Taxon) ein. Des Weiteren finden sich in den Testsystemen 2 Taxa der Klasse Clitellata (Ordnung Haplotaxida) und der Klasse Gastropoda mit 4 verschiedenen Taxa (Ordnung Basommatophora).

Tab. 63: Liste der vorgefundenen Taxa der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON
ANNELIDA	CLITELLATA (Unterklasse: Oligochaeta)	HAPLOTAXIDA	Naididae	Naididae
				<i>Tubifex spp.</i>
ARTHROPODA	INSECTA	COLEOPTERA	Dytiscidae	Dytiscidae
				<i>Guignotus pusillus</i>
				<i>Haliplus sp.</i>
		DIPTERA	Ceratopogonidae	<i>Bezzia sp.</i>
				Baetidae
				<i>Cloeon dipterum</i>
				Chaoboridae
				<i>Chaoborus crystallinus</i>
				Chironomidae
				<i>Chironomus spp.</i>
				Tanypodinae
				Culicidae
				<i>Anopheles sp.</i>
HEMIPTERA	Notonectidae	Notonectidae		
		<i>Notonecta glauca</i>		
		<i>Plea leachi</i>		
LEPIDOPTERA	Crambidae	<i>Elophila nymphaeta</i>		
ODONATA (Unterordnung: Zygoptera)		Anisoptera		
ODONATA (Unterordnung: Anisoptera)		Zygoptera		
TRICHOPTERA	Phryganeidae	Phryganeidae		
MOLLUSCA	GASTROPODA	BASOMATTOPHORA	Lymnaeidae	<i>Lymnea stagnalis</i>
				<i>Radix sp.</i>
				Physidae
				<i>Physa fontinalis</i>
		Planorbidae	Planorbidae	

3.3.3.1 Principal Response Curves (PRCs) – Makroinvertebraten (III)

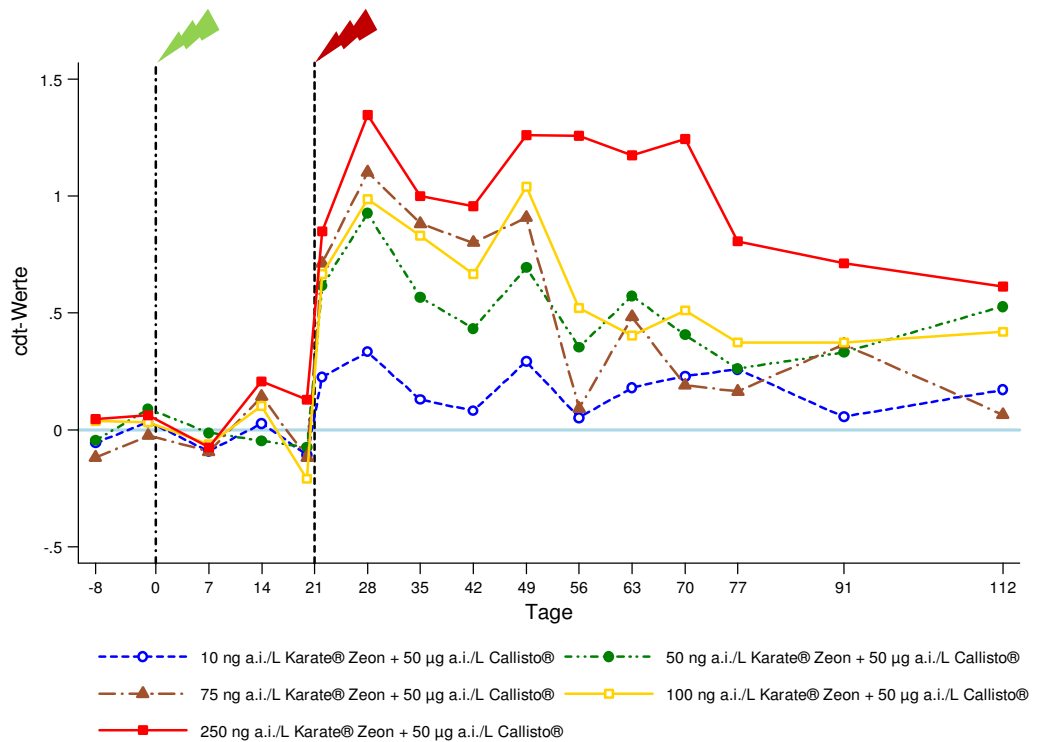


Abb. 57: PRC der Makroinvertebratengesellschaft in der Kombinationsstudie bei versetzter Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

Tab. 64: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ .

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112	
Signifikanz	-	-	-	-	-	-	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**

Die PRCs (Abb. 57) zeigen, dass die Applikation des Herbizides C keinen direkten Einfluss auf die Gesellschaft der Makroinvertebraten hat. Effekte treten erst an Tag 22, 24h nach dem Einsatz des Insektizids KaZ ein. Die toxischen Auswirkungen sind in ihrer Intensität gestaffelt – mit zunehmender Insektizidkonzentration sind zunehmend schwerwiegendere Effekte auf die Makroinvertebratengesellschaft zu verzeichnen. Die Enclosures der niedrigsten Kombinationsbelastung (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) zeigen über den

gesamten Versuchszeitraum hinweg nur eine sehr geringe Beeinflussung durch den Eintrag der PSM. Eine beginnende Erholung der Gesellschaft in den belasteten Systemen lässt sich ab Tag 56 (V1 – V4) bzw. ab Tag 77 (V5) erkennen. Gegen Ende der Studie zur zeitversetzten Kombinationsbelastung kann jedoch für die Makroinvertebratengesellschaft nur in der geringsten Konzentrationsstufe (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C), sowie in den mit 75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C belasteten Kompartimenten (V4) von einer vollständigen Erholung gesprochen werden.

Die  $NOEC_{\text{Makroinvertebraten}}$  entspricht damit der niedrigsten Konzentrationsstufe V1 mit einer Belastung von **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C**. (Tab. 65)

**Tab. 65: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ).**

Tag	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC		V4		V1		V1	V2	V1	V4	V4	<V1	V3	V1, V3- 5	<V1
Makroinvertebraten													sig.	

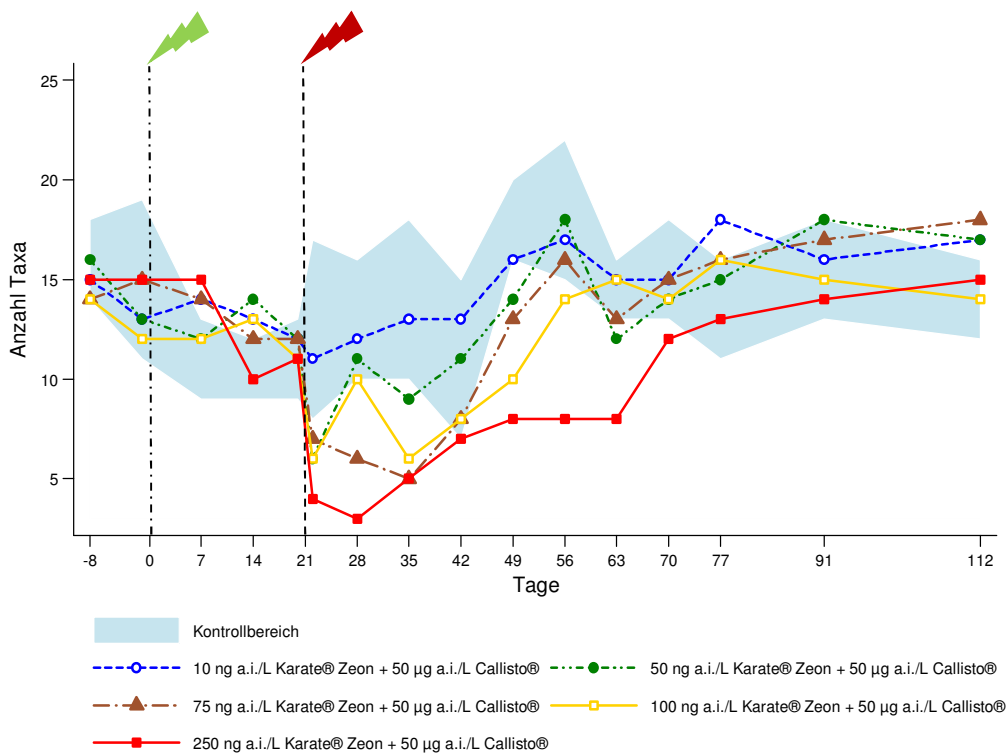
Die in Tabelle 66 aufgeführten species scores für die Makroinvertebratengesellschaft der Mesokosmenstudie III bei versetzter Applikation der PSM zeigt eine deutliche negative Korrelation zu den Kurven der PRC für die Taxa *Chaoborus crystallinus*, *Plea leachi* und *Cloeon dipterum*.

**Tab. 66: Species scores ( $< -0,5$  und  $> 0,5$ ) der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.**

Taxon	species score
<i>Chaoborus crystallinus</i>	-3,68
<i>Plea leachi</i>	-2,62
<i>Cloeon dipterum</i>	-1,78

### 3.3.3.2 Biodiversität – Makroinvertebraten (III)

#### Biologische Vielfalt – Makroinvertebraten (III)



**Abb. 58: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebratentaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

In der Makroinvertebratengesellschaft lassen sich über den Versuchszeitraum hinweg im Durchschnitt 14 unterschiedliche Taxa in den Kontrollkompartimenten, sowie 12 Taxa in den belasteten Kompartimenten erfassen. Die Betrachtung der Anzahl der Taxa im zeitlichen Verlauf (Abb. 58) zeigt, dass die zeitversetzte Applikation der PSM in der geringsten Konzentrationsstufe V1 (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) keinen Einfluss auf die Vielfalt der Taxa nimmt. Ein Rückgang der Taxazahlen lässt sich jedoch ab Tag 22, direkt nach der Insektizidapplikation für alle anderen Belastungsstufen (V2 - V5) erkennen. Dieser fällt in der höchsten Konzentrationsstufe mit einer Applikationsmenge von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C am deutlichsten aus. Die Anzahl der Taxa sinkt in den Kompartimenten dieser Belastungsstufe auf nur drei zu erfassende Taxa an Tag 28. Ab Tag 35 lässt sich eine stetige Zunahme der Taxavielfalt in allen betroffenen, belasteten Enclosures verzeichnen. So lässt



sich ab Tag 77 für alle belasteten Kompartimente eine vollständige Erholung der Systeme in Bezug auf die Taxavielfalt dokumentieren.

### 3.3.3.3 Dominanz – Makroinvertebraten (III)

Im direkten Vergleich zeigt sich eine deutliche Eudominanz für die Art *Chaoborus crystallinus* (50,8% (K), 44,9% (V)), sowie eine Dominanz der Art *Cloeon dipterum* (12,9% (K), 11,5% (V)) sowohl innerhalb der Kontrollenclosures, als auch in den belasteten Enclosures. Gegenüber den Kontrollenclosures nehmen die Taxa Naididae, *Tubifex* spp., *Chironomus* spp. und Anisoptera in den belasteten Kompartimenten deutlich dominantere Stellungen ein, während *Plea leachi* nur noch eine rezedente Rolle spielt. (Tab. 67)

**Tab. 67: Dominanzverhältnisse innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM; 10 häufigsten Taxa der Kontrollbereiche (MW) sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.**

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse	Taxa	Dominanz (%)	Dominanz-klasse
<i>Chaoborus crystallinus</i>	50,8	eudominant	<i>Chaoborus crystallinus</i>	44,9	eudominant
<i>Cloeon dipterum</i>	12,9	subdominant	<i>Cloeon dipterum</i>	11,5	subdominant
<i>Lymnea stagnalis</i>	9,1	dominant	Naididae	9,9	dominant
Zygoptera	8,3	dominant	<i>Lymnea stagnalis</i>	8,8	dominant
<i>Plea leachi</i>	5,2	dominant	Zygoptera	8,8	dominant
Naididae	3,9	dominant	<i>Tubifex</i> spp.	5,9	dominant
<i>Tubifex</i> spp.	3,1	rezedent	Planorbidae	3,3	dominant
Planorbidae	3,1	rezedent	<i>Chironomus</i> spp.	3,1	rezedent
<i>Chironomus</i> spp.	0,7	subrezedent	<i>Plea leachi</i>	2,2	rezedent
<i>Haliphus</i> sp.	0,3	sporadisch	Anisoptera	0,5	subrezedent

Feinere Rückschlüsse auf den Einfluss der PSM auf die Gesellschaftsstrukturen der Makroinvertebratengesellschaft lässt die Betrachtung der Grafiken in Abbildung 59 zu.

Dargestellt ist die zeitliche Entwicklung der Dominanzverhältnisse für die Ordnungen der vorgefundenen Makroinvertebratentaxa.

Mit Ausnahme von Tag 28 in den Kontrollkompartimenten, dessen Ausreißer höchstwahrscheinlich auf Artefakte im Zuge der Datenaufnahme- und Erfassung zurückzuführen sind, lässt sich für die niedrigste Konzentrationsstufe V1 eine annähernd identische Entwicklung der strukturellen Zusammensetzung der Makroinvertebratengesellschaft gegenüber den Kontrollen erkennen. Über den gesamten Versuchszeitraum hinweg werden diese beiden Testgruppen mit Abstand durch die eudominante Ordnung der Diptera bestimmt. Einen weiteren erheblichen Stellenwert nehmen zudem die Ordnungen Odonata, Hemiptera, Basomattophora und Haplotaxida ein, welche im jahreszeitlichen Verlauf in diesen Kompartimenten an Gewichtung zunehmen.

Ab einer PSM-Mischung von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C verändern sich die Dominanzverhältnisse der Gesellschaft. Diese Beobachtungen treten jedoch in allen Kompartimenten der Stufen V2 – V5 erst nach dem Eintrag des Pyrethroids an Tag 21 auf. Aufgrund der Störung sind zunehmend Verschiebungen in der Zusammensetzung des Gesellschaftsgefüges zu erkennen. Hauptsächlich sind diese durch den Rückgang der Ordnung Diptera bedingt, welche in den Kompartimenten V2 bis V4 ab Tag 22 bis Tag 49 kontinuierlich an Dominanz verliert. Am Ende dieser Phase spielt diese Ordnung in den betroffenen Enclosures in Bezug auf ihren prozentualen Anteil mit Dominanzwerten < 20% nur noch eine untergeordnete Rolle. Für die höchste Konzentrationsstufe V5 (250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) treten die Effekte aufgrund der PSM-Belastung im Gegensatz zu den anderen betroffenen Kompartimenten rapide ein und zeigen ein gravierenderes Ausmaß. So sinkt der Anteil der Dipteren in dieser Belastungsstufe bereits zu Tag 28 hin auf 0% ab.

Andere Ordnungen der Makroinvertebratengesellschaft können ihren prozentualen Anteil aufgrund des Dipteren-Rückgangs nach der PSM-Belastung ausbauen. Insbesondere die Ordnungen Odonata, Haplotaxida und Basomattophora profitieren von dieser Situation.

Während sich die Zusammensetzung der Makroinvertebratengesellschaft ab Tag 56 in den Testkompartimenten V2 – V4 langsam wieder der ursprünglichen Struktur annähert und eine vollständige Erholung gegen Ende der Studie zu verzeichnen ist, deutet sich für die Dipteren-

Population der Teststufe V5 erst an den letzten beiden Beprobungstagen eine beginnende Erholung an.

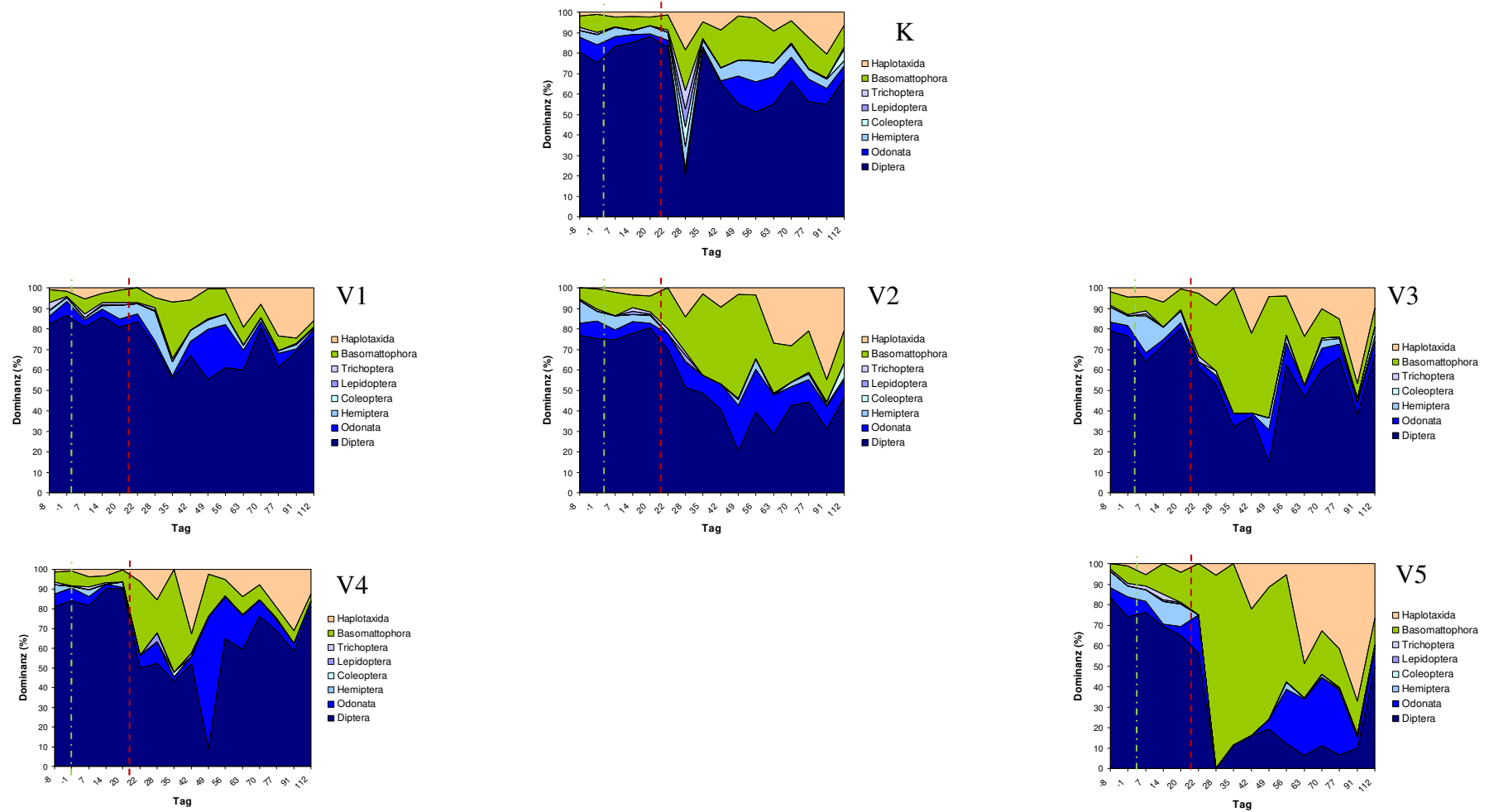


Abb. 59: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.

--- = Applikationszeitpunkt Herbizid Callisto<sup>®</sup>, --- = Applikationszeitpunkt Insektizid Karate<sup>®</sup> Zeon.

3.3.3.4 Abundanz – Makroinvertebraten (III)

Gesamtabundanz – Makroinvertebraten (III)

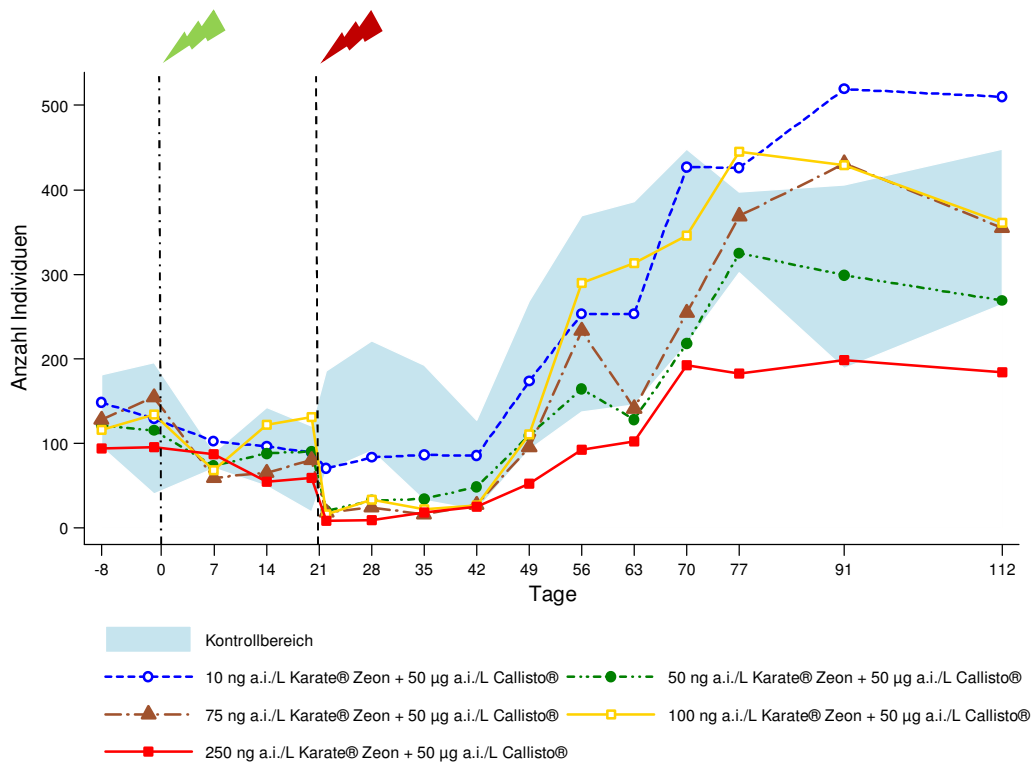


Abb. 60: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Makroinvertebraten-taxa bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.

Tab. 68: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Makroinvertebratengesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme.

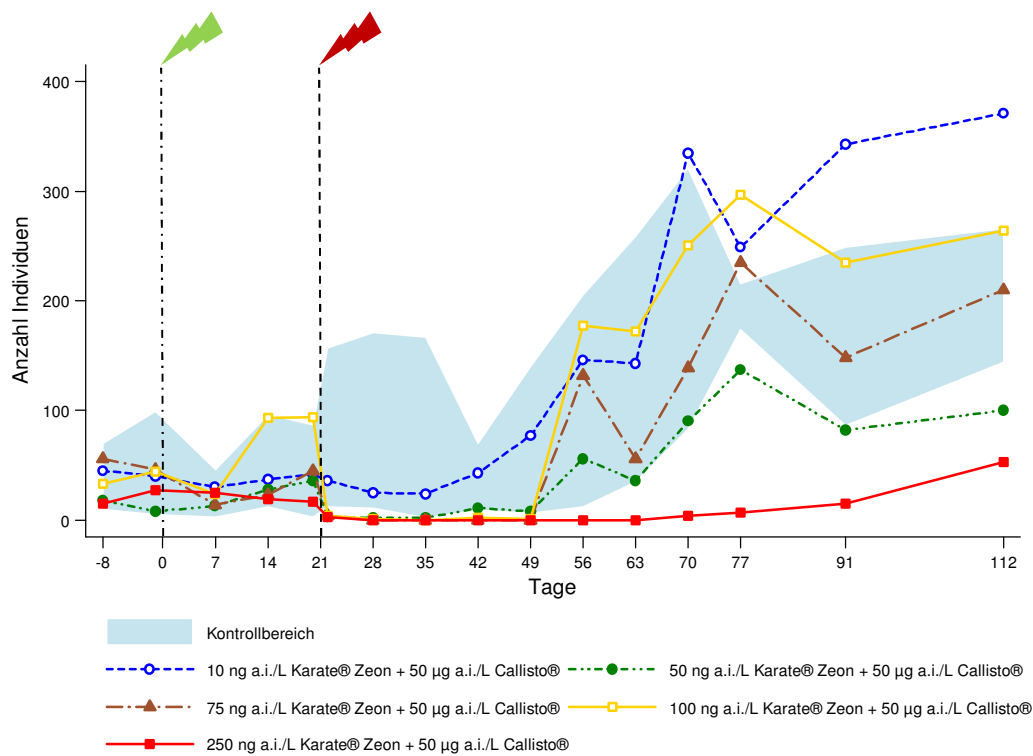
	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC						V1	V1	V2		V4	V4				V4	V4
Gesamt-abundanz						(↓)	(↓)	(↓)		(↓)	(↓)			(↓)		(↓)

Die Gesamtabundanz (Abb. 60) nimmt nach der zeitversetzten; zusätzlichen Belastung mit KaZ an Tag 21 im Vergleich zu den Kontrollen rapide ab. Im Zuge dessen sinken die durchschnittlichen Zahlen von 96 Individuen/Enclosure auf 16 Individuen/Enclosure in den mit 50, 75, 100 und 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (V2 – V5) belasteten Enclosures. In Bezug auf die Gesamtabundanz zeigen sich auch hier nur die Enclosures der niedrigsten

Belastungsstufe (V1) unbeeinflusst. Eine Recovery ist in allen belasteten Kompartimenten, mit Ausnahme der höchsten Konzentrationsstufe (V5), bis zum Ende der Versuchsdauer zu verzeichnen. Sie tritt gestaffelt in Korrelation zur applizierten Pyrethroidmenge auf: Die Erholung in Bezug auf die Individuenzahlen/Enclosure findet in V2 ab Tag 35, in V3 ab Tag 42 und in V4 ab Tag 49 statt. Auch in der höchsten Konzentrationsstufe V5 mit einer PSM-Mischung von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C steigen die Individuenzahlen ab Tag 49 wieder an und nähern sich den Abundanzwerten des Kontrollbereichs an. Abgesehen von Tag 91 können sie diese jedoch nicht vollständig erreichen.

Für die Makroinvertebratengesellschaft der Mesokosmenstudie III bei versetzter Applikation der PSM KaZ und C ergibt sich eine **NOEC<sub>Gesamtabundanz</sub> von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C** (Tab. 68). Diese entspricht der niedrigsten Teststufe V1.

*Chaoborus crystallinus* (III)



**Abb. 61:** Entwicklung der *Chaoborus crystallinus*-Population (Larvalstadien I-IV) bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 69:** Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag *Chaoborus crystallinus* bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓): Abundanz-Abnahme.

	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC						V1	< V1	V1	V2	V2	V4	V4	V4	V4	V4	V4
<i>Chaoborus crystallinus</i>						(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)

Nach der Insektizidapplikation bricht die Population der *Chaoborus*-Larven (instar I-IV) in den vier höchsten Konzentrationsstufen (V2 – V5) von im Schnitt 34 Larven/Enclosure auf drei Individuen/Enclosure an Tag 22 ein. Auf diesem Niveau verbleiben diese belasteten Kompartimente über mehrere Wochen, so dass erst wieder ab Tag 56 ein deutlicher Anstieg der Individuenzahlen zu detektieren ist. *Chaoborus crystallinus* ist somit erst 35 Tage nach der Pyrethroidbelastung wieder in der Lage die Systeme zu besiedeln. Im Gegensatz dazu lassen sich für die geringste Konzentrationsstufe (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) keine

signifikanten Effekte auf die Larven der Büschelmücke feststellen. Ab Tag 56 zeigen sich in den Belastungsstufen V3 und V4 (75, 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) keine gravierenden Unterschiede mehr zu den Kontrollkompartimenten. Die Anzahl der *Chaoborus*-Larven in der zweiten Belastungsstufe (50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) hingegen weisen bereits an Tag 42 Individuenzahlen im Bereich der Kontrollen auf, bleiben in ihren Abundanzwerten jedoch bis zum Ende der Mesokosmenstudie im unteren Bereich der Kontrollen oder darunter. (Abb. 61)

Die  $NOEC_{C.crystallinus}$  entspricht dieser zweiten Belastungsstufe und liegt bei einer Applikationsmenge von **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C**. (Tab. 69)



*Cloeon dipterum* (III)

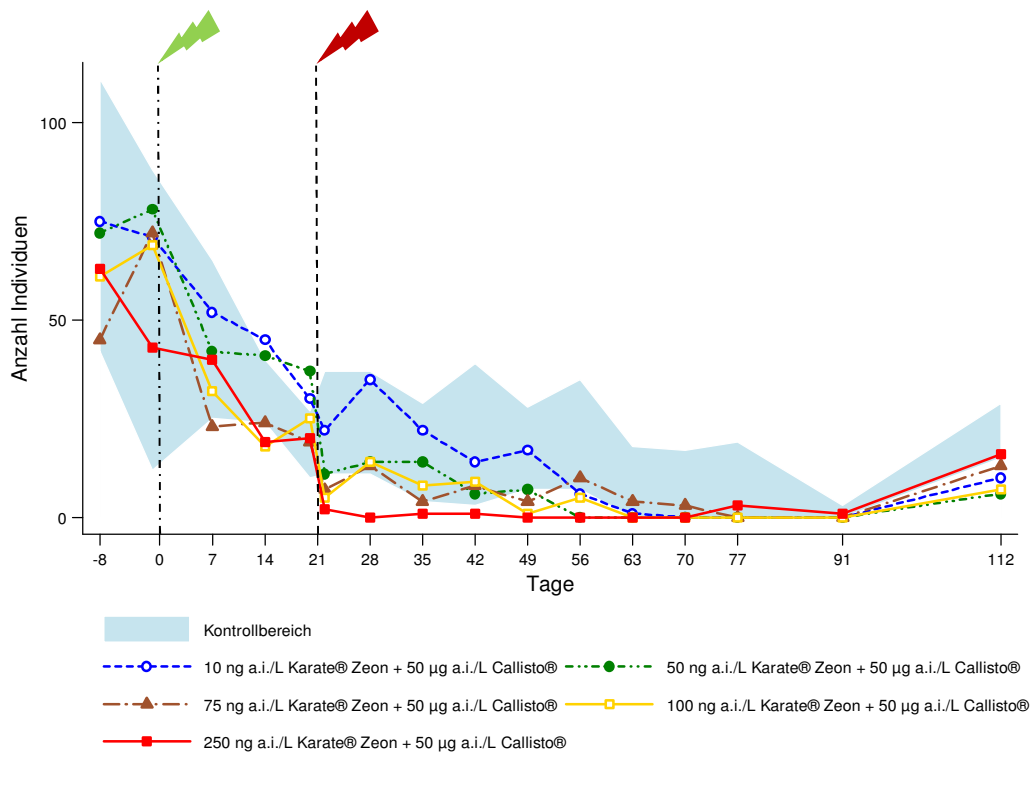


Abb. 62: Entwicklung der *Cloeon dipterum*-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 70: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für *Cloeon dipterum* bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme.

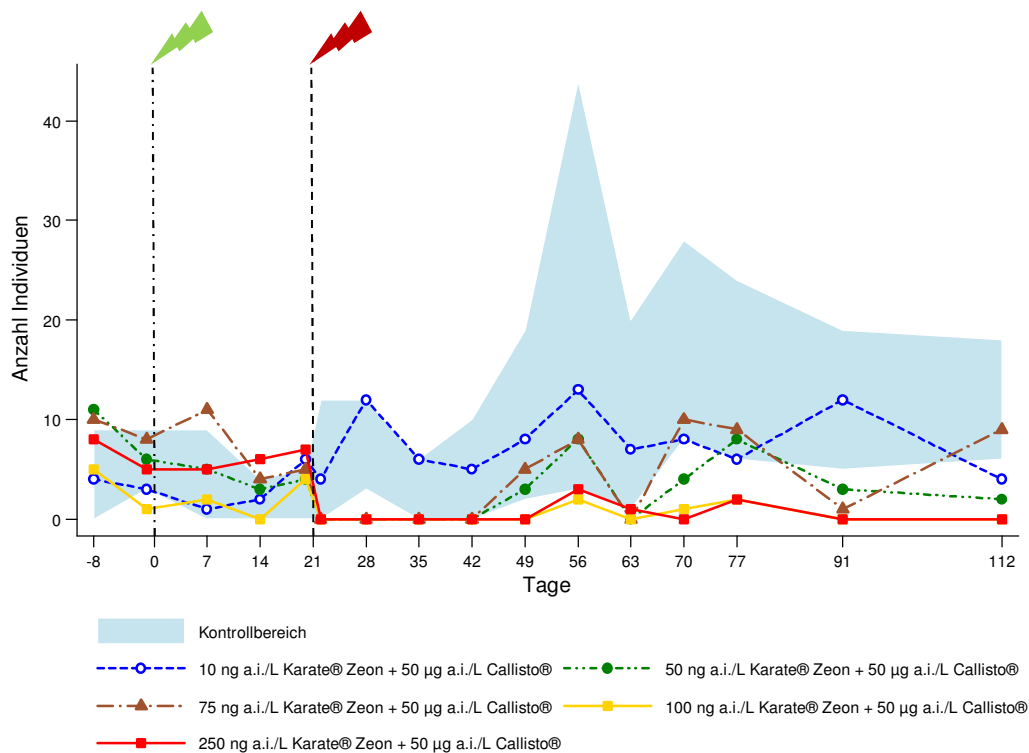
	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC				V3		V1	V4	V4	V4	V1	V3					
<i>C. dipterum</i>				(↓)		(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)					

Sowohl in den Kontrollen, als auch in den herbizidbelasteten Enclosures gehen die Abundanzzahlen der *Cloeon dipterum*-Larven zwischen Tag 0 und Tag 20 stark zurück (Abb. 62). Trotz der geringen Ausgangsabundanz zum Zeitpunkt der Insektizidapplikation (Tag 21) lässt sich ein toxischer Einfluss des Pyrethroides auf die Larven von *Cloeon dipterum* erkennen (V3 – V5). Mit zunehmender Konzentration zeigt sich ein zunehmender Rückgang der Larvenzahlen in den Kompartimenten der höchsten drei

Belastungsstufen (V3 – V5). Eine Aussage über das Erholungspotential von *Cloeon dipterum* in den zeitversetzt belasteten Enclosures lässt sich anhand der Daten nicht treffen, da auch im Bereich der Kontrollen ab Tag 63 die Individuenzahlen entwicklungsbedingt stark zurück gehen. Für die Konzentrationsstufen V1 und V2 kann über den gesamten Versuchszeitraum keine Beeinträchtigung der Art aufgrund der PSM-Belastung gefunden werden.

Für die Eintagsfliegenlarve *Cloeon dipterum* ergibt sich eine  $NOEC_{C.dipterum}$  von **75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.** (Tab. 70)

### *Plea leachi* (III)



**Abb. 63: Entwicklung der *Plea leachi*-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 71: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für *Plea leachi* bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme, (↑): Abundanz-Zunahme.

	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC				V4			V1	V1	V1	V3	V3	V1	<V1	V3	V1	V3
<i>P.leachi</i>				(↑)			(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)

Auch für den Zwergrückenschwimmer *Plea leachi* zeigen sich bei versetzter Applikation der beiden PSM erst nach der Applikation des Insektizids (Tag 22) signifikante Effekte in den vier höchsten Konzentrationsstufen (V2 – V5). Zwischen Tag 22 bis einschließlich Tag 42 lassen sich keine Individuen dieser Art in diesen Konzentrationsstufen finden. Ab Tag 49 (V2 und V3), sowie ab Tag 56 (V4 und V5) können erstmals wieder Individuen der Art in den beeinträchtigten Enclosures erfasst werden. Während die Individuenzahlen der beiden höchsten Belastungsstufen (100, 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) bis Versuchsende sehr gering bleiben (1 - 2 Individuen/Enclosure), bewegen sich die Abundanzzahlen der *Plea leachi* in der zweiten und dritten Belastungsstufe (50, 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) zum Teil im unteren Kontrollbereich (durchschnittlich 5 Individuen/Enclosure). Ein Einfluss der Kombinationsbelastung auf die Art in der niedrigsten Konzentrationsstufe (V1) zeigt sich nicht. (Abb. 63)

Die über den Williamstest (Tab. 71) ermittelte  $NOEC_{P. leachi}$  entspricht der Konzentrationsstufe V1 mit einer Applikationsmenge von **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C**.

### 3.3.4 ZOOPLANKTON (III)

Innerhalb der Zooplanktongesellschaft für die Mesokosmenstudie III konnten insgesamt 24 verschiedene Taxa detektiert werden. Diese gehören den vier Klassen der Branchiopoda (Ordnung Diplostraca mit 6 Taxa), Maxillopoda (Ordnungen Calanoida und Cyclopoida mit jeweils einem Taxon, sowie das Taxon Nauplia als Sammelbegriff der Nauplius-Larven), Ostracoda (1 Taxon) und Eurotatoria (Ordnung Flosculariaceae mit 2 Taxa, Ordnung Ploima mit 12 Taxa) an. (Tab. 72)

Tab. 72: Liste der vorgefundenen Taxa der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM.

STAMM	KLASSE	ORDNUNG	FAMILIE	TAXON
ARTHROPODA	BRANCHIOPODA (Unterklasse: Phyllopoda)	DIPLOSTRACA (Unterordnung: Cladocera)	Chydoridae	<i>Alona affinis</i>  <i>Alonella nana</i> <i>Chydorus sphaericus</i> <i>Graptoleberis testudinaria</i>
			Daphniidae	<i>Daphnia longispina</i> <i>Simocephalus vetulus</i>
	MAXILLOPODA (Unterklasse: Copoepoda)			Nauplia
		CALANOIDA	Diaptomidae	<i>Eudiaptomus gracilis</i>
		CYCLOPOIDA	Cyclopidae	Cyclopidae
	OSTRACODA			Ostracoda
	EUROTATORIA (Unterklasse:Pseudotrocha)	FLOSCULARIACEAE	Hexarthridae	<i>Hexarthra mira</i>
	(Unterklasse: Monogononta)	PLOIMA	Testudinellidae	<i>Testudinella patina</i>
			Brachionidae	<i>Keratella quadrata</i> <i>Keratella sp.</i> <i>Platyas quadricornis</i>
			Gastropodidae	<i>Ascomorpha spp.</i>
			Lecanidae	<i>Lecane spp.</i>
			Lepadellidae	<i>Lepadella patella</i>
			Mytilinidae	<i>Mytilinia spp.</i>
			Notommatidae	<i>Cephalodella spp.</i>
			Synchaetidae	<i>Polyarthra sp.</i> <i>Synchaeta spp.</i>
			Trichocercidae	<i>Trichocera sp.</i>
			Trichotriidae	<i>Trichotria pocillum</i>

3.3.4.1 Principal Response Curves (PRCs) – Zooplankton (III)

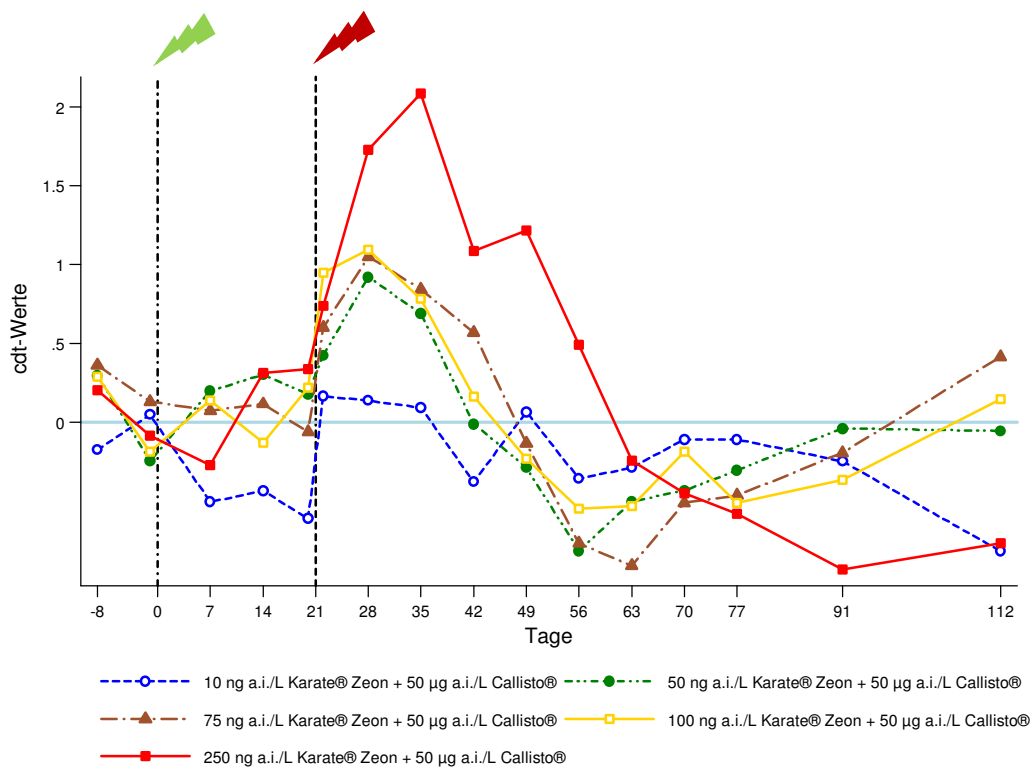


Abb. 64: PRC der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM (Monte Carlo Permutationstest,  $p = 0,002$ ); Abweichungen von der 0-Linie stellen Effekte aufgrund der Belastungssituation dar.

Tab. 73: Ergebnisse der Monte Carlo Permutationstests pro Beprobungstag für die Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM; - : nicht signifikant; \* :  $p < 0,05$ ; \*\* :  $p < 0,01$ .

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
Signifikanz	-	*	-	-	-	**	**	**	*	*	-	-	-	-	-	-

Auswirkungen auf die Zooplankton-Gesellschaft aufgrund der versetzten Kombinationsbelastung zeigen sich in Form direkter Effekte erst nach der Applikation des Insektizids KaZ. Ein direkter Einfluss der Herbizidbelastung zwischen Tag 0 und Tag 21 lässt sich nicht feststellen. Am stärksten zeigen sich die toxischen Effekte in der höchsten Konzentrationsstufe mit einer Applikation von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C. Zwischen Tag 22 und Tag 42 lässt sich eine Dosis-Wirkungs-Beziehung innerhalb der belasteten

Enclosures erkennen. Die Reaktionen in Bezug auf die Effektstärken zeigen sich in den mittleren Konzentrationen (V2 – V4) in vergleichbarer Intensität. Eine beginnende Recovery der Zooplankton-Gesellschaft zeigt sich ab Tag 42 (V2 + V4) bzw. Tag 49 (V3). In den Kompartimenten der höchsten Konzentrationen wirkt sich die Belastungssituation länger aus, so dass erst ab Tag 63 von einer beginnenden Erholung gesprochen werden kann. Die Zooplankton-Gesellschaft ist damit in der Lage die Situation der Kombinationsbelastung innerhalb des Versuchszeitraumes zu kompensieren. (Abb. 64)

Die  $NOEC_{Zooplankton}$  entspricht der Konzentrationsstufe V3 mit einer Applikationsmenge von **75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.** (Tab. 74)

**Tab. 74: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↑) : Abundanz-Zunahme.**

Tag	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC				V2	<V1	V3	V3	V3				V3	V3	
Zooplankton														

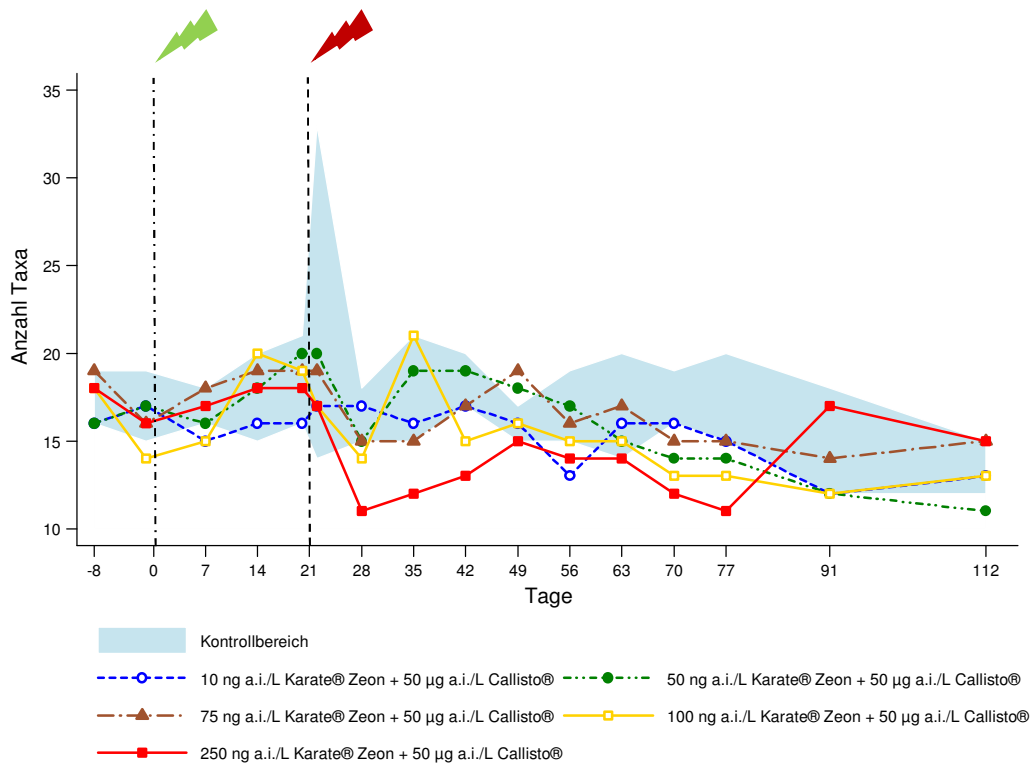
Tabelle 75 listet die species scores der Zooplanktongesellschaft auf. Dabei wird deutlich, dass eine Reihe von Zooplanktern Reaktionen auf die Belastungssituation zeigen.

**Tab. 75: Species scores (< -0,5 und > 0,5) der Zooplanktongesellschaft der Kombinationsstudie bei versetzter Applikation der beiden PSM.**

Taxon	species score
<i>Daphnia longispina</i>	- 1,93
Calanoida	- 1,71
<i>Alona nana</i>	- 1,26
Nauplia	- 1,20
<i>Chydorus sphaericus</i>	- 0,92
<i>Alonella affinis</i>	- 0,84
<i>Simocephalus vetulus</i>	- 0,65
<i>Ascomorpha spp.</i>	- 1,58
<i>Trichocerca spp.</i>	0,62
<i>Keratella quadrata</i>	1,00
<i>Mytilinia spp.</i>	1,11
<i>Keratella sp.</i>	1,66
<i>Polyarthra sp.</i>	2,49

### 3.3.4.2 Biodiversität – Zooplankton (III)

#### Biologische Vielfalt – Zooplankton (III)



**Abb. 65: Entwicklung der biologischen Vielfalt der Zooplanktontaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Die zeitliche Entwicklung der Taxavielfalt im Verlauf der Mesokosmenstudie zur zeitversetzten Applikation der beiden PSM lässt keinen Hinweis auf eine Beeinträchtigung aufgrund des alleinigen Herbizideintrags zu. Erst durch die zusätzliche Applikation des Insektizids an Tag 21 zeigen sich Effekte. Diese treten ab Tag 28, 7 Tage nach der Pyrethroidbelastung in den Enclosures der Konzentrationsstufe V5 (250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ein und zeigen sich durch einen rapiden Rückgang der Taxaanzahl. Ab Tag 35 steigt die Anzahl unterschiedlicher Taxa in den betroffenen Kompartimenten wieder an, so dass sie ab Tag 49 wieder nahezu den Zahlen des Kontrollbereichs entsprechen. An den Tagen 70 und 77 lassen sich zudem für die Konzentrationsstufen V2 – V5 Einbußen der Taxavielfalt verzeichnen. Ihr Ausmaß folgt dabei dem Dosis-Wirkungs-Gradienten. (Abb. 65)



### 3.3.4.3 Dominanz – Zooplankton (III)

Eine Gegenüberstellung der durchschnittlichen Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft in den Kontrollen sowie den belasteten Enclosures der zehn dominantesten Taxa kann Tabelle 76 entnommen werden. Über den Versuchszeitraum hinweg werden auf diese Weise nur geringe strukturelle Unterschiede innerhalb der Zooplanktongesellschaft sichtbar. Sowohl in den Kontrollen als auch in den belasteten Enclosures nehmen die Taxa Nauplia mit 56,7 % (K) bzw. 51,8 % (V) und *Polyarthra* sp. mit 18,5 % (K) bzw. 21,3 % (V) eine eudominante Stellung ein.

Eine Vielzahl weiterer Taxa spielen mit einem prozentualen Anteil zwischen 2 und 5% innerhalb der Gesellschaft eine subdominante Rolle: *Daphnia longispina*, Calanoida, Cyclopoida und *Keratella quadrata* innerhalb der Kontrollkompartimente sowie *Ascomorpha* spp., Calanoida, *Keratella quadrata*, *Daphnia longispina* und *Keratella* sp. in den belasteten Kompartimenten.

**Tab. 76: Dominanzverhältnisse innerhalb der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM; 10 häufigste Taxa der Kontrollbereiche (MW) sowie der belasteten Enclosures (MW) über den gesamten Versuchszeitraum.**

Kontrollen			Belastete Enclosures		
Taxa	Dominanz (%)		Taxa	Dominanz (%)	
Nauplia	56,7	eudominant	Nauplia	51,8	eudominant
<i>Polyarthra sp.</i>	18,5	subdominant	<i>Polyarthra sp.</i>	21,3	subdominant
<i>Daphnia longispina</i>	4,8	dominant	Cyclopoida	5,1	dominant
Calanoida	4,5	dominant	<i>Ascomorpha spp.</i>	4,0	dominant
Cyclopoida	4,5	dominant	Calanoida	3,5	dominant
<i>Keratella quadrata</i>	2,4	rezedent	<i>Keratella quadrata</i>	3,5	dominant
<i>Keratella sp.</i>	1,5	rezedent	<i>Daphnia longispina</i>	3,0	rezedent
<i>Ascomorpha spp.</i>	1,4	rezedent	<i>Keratella sp.</i>	2,3	rezedent
<i>Hexarthra mira</i>	1,2	rezedent	<i>Hexarthra mira</i>	1,6	rezedent
<i>Alonella nana</i>	0,6	subrezedent	<i>Alonella nana</i>	0,9	subrezedent
Rotifera	26,8	subdominant	Rotifera	33,6	eubdominant
Copepoda	65,6	eudominant	Copepoda	60,5	eudominant
Cladocera	7,4	dominant	Cladocera	5,9	dominant
Ostracoda	0,1	sporadisch	Ostracoda	0,1	sporadisch

Ein deutlicheres Bild der strukturellen Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft lässt sich anhand der grafischen Darstellung der zeitlichen Entwicklung der Dominanzverhältnisse in Tabelle 76 ablesen. Das Flächendiagramm (Abb. 66) der Kontrollkompartimente spiegelt die jahreszeitliche Entwicklung der Zooplanktongesellschaft innerhalb eines natürlichen unbelasteten Systems wider. Die Großgruppen der Rotifera und Copepoda stellen über den gesamten Verlauf den mächtigsten Anteil. Neben diesen beiden eudominanten Gruppen dominiert die Gruppe der Cladocera. Die Gruppe der Ostracoda hingegen ist im Verlauf der Studie nur subrezedent anzutreffen. Diese anteilmäßige Verteilung der vier Großgruppen

lässt sich ebenfalls in allen Testkompartimenten im Verlauf der Vorbelastungsperiode erkennen.

Eine Veränderung dieser strukturellen Verhältnisse zeigt sich auch für die Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft erst im Anschluss an die zusätzliche Belastung der Testsysteme durch das Insektizid KaZ. Auswirkungen auf die alleinige Herbizidbelastung mit C (Tag 0 – 21) lassen sich nicht erkennen. Ab Tag 22 – 24h nach der Insektizidbelastung ist in allen belasteten Testkompartimenten ein starker Rückgang der Copepoden-Population zu verzeichnen. Je größer die Insektizidkomponente der Mischung ist, desto stärker wird die Lebensgemeinschaft der Zooplankter durch den Eintrag gestört. Bei der Betrachtung muss jedoch beachtet werden, dass auch die Copepoden-Population innerhalb der Kontrollen an Tag 22 in ihrer Mächtigkeit abnimmt. Es muss somit davon ausgegangen werden, dass zu der Belastungssituation innerhalb der Konzentrationsstufen V1 – V5 auch natürliche Faktoren für den Rückgang der Copepoda verantwortlich sind. Trotz dessen zeigt sich eine eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehung für die beobachteten Strukturveränderungen. So verläuft die Entwicklung der Zooplanktongesellschaft in der ersten Konzentrationsstufe V1 nahezu identisch mit derjenigen der Kontrollen. Die Konzentrationsstufe V2 mit einer Applikationsmenge von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C nimmt eine Mittelstellung ein. Die Veränderungen der Zooplanktonzusammensetzung in diesen Kompartimenten zwischen den Tagen 22 – 35 deuten bereits auf einen Einfluss der PSM-Mischung hin. Die Effekte in den Konzentrationsstufen V3 – V5 (ab einer Mischung von 75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) fallen dagegen besonders stark aus: Die Dominanzen der Copepoda sinken in diesen Testkompartimenten auf < 10% bis Tag 28 ab. Die Gruppe der Rotifera hingegen profitiert durch den versetzten Eintrag der PSM und gewinnt innerhalb der Zooplanktongesellschaft an Dominanz, so dass sie in den Kompartimenten V3 – V5 die Testsysteme mit prozentualen Anteilen über 95% dominiert. Allerdings zeigt die Copepoda-Population trotz des herben Verlusts ein beachtliches Erholungspotential. Innerhalb weniger Wochen (2 Wochen für V3 – V4, 3 Wochen für V5) kann sich die strukturelle Zusammensetzung der Zooplanktongesellschaft vollständig von der Belastungssituation erholen.

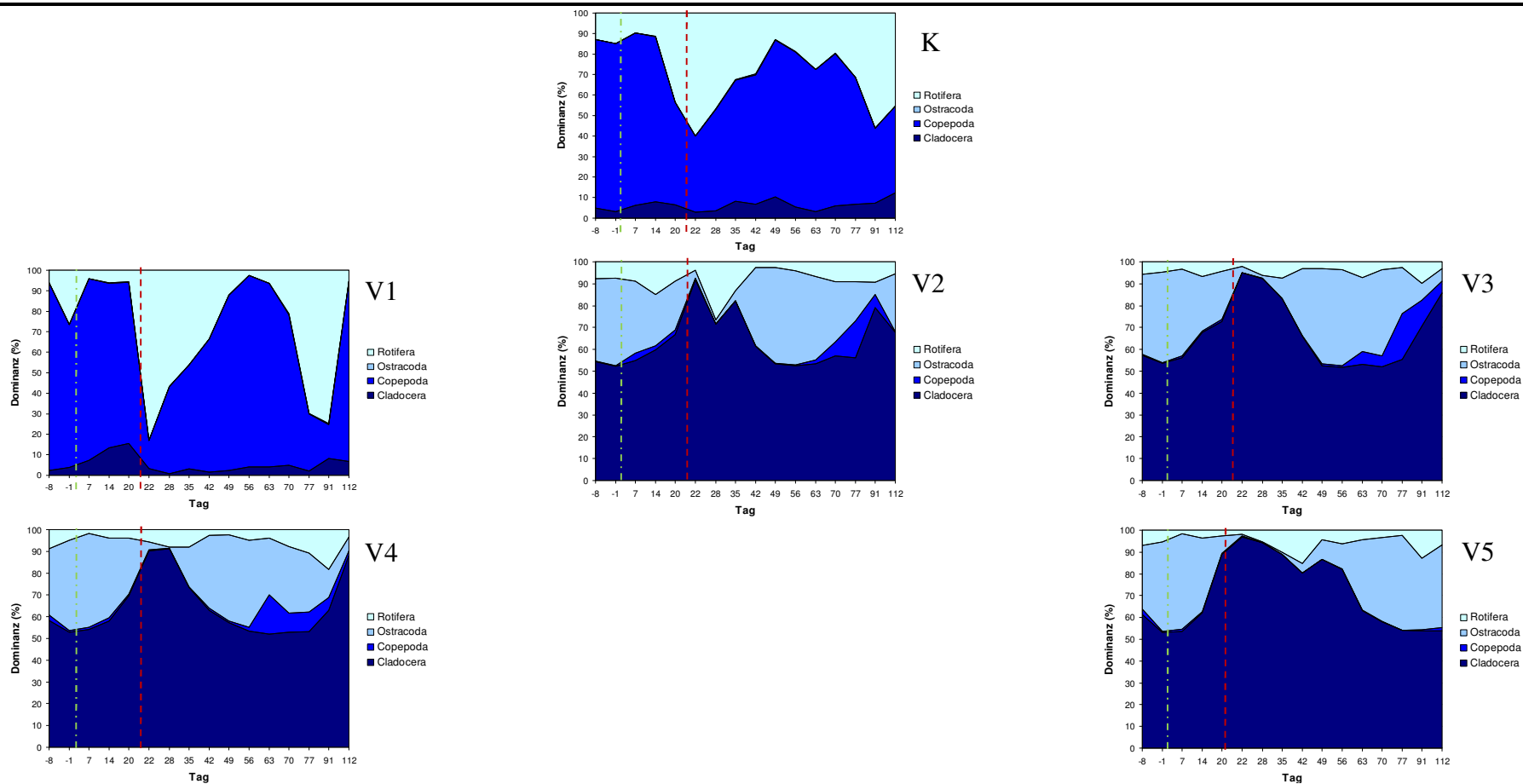
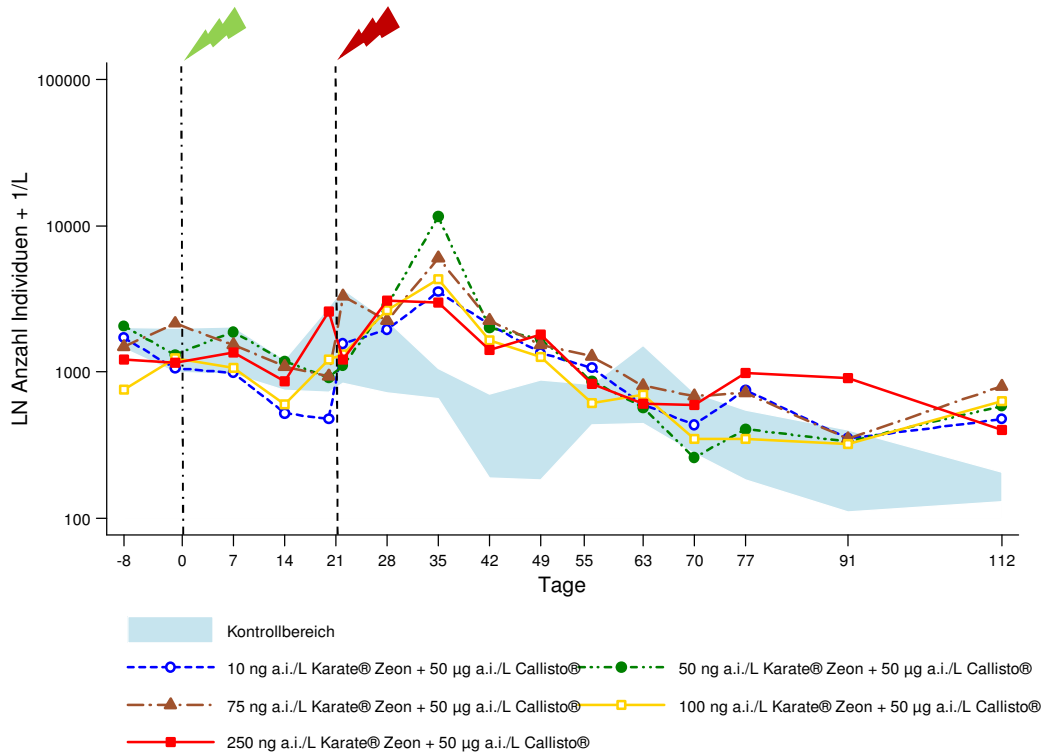


Abb. 66: Entwicklung der Dominanzverhältnisse der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.

--- = Applikationszeitpunkt Herbizid Callisto®, --- = Applikationszeitpunkt Insektizid Karate® Zeon.

### 3.3.4.4 Abundanz – Zooplankton (III)

#### Gesamtabundanz – Zooplankton (III)



**Abb. 67: Entwicklung der Gesamtabundanz der Zooplanktontaxa bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Auch für die Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft lassen sich durch die reine Herbizidbelastung zwischen Tag 0 und Tag 21 keine Auswirkungen in den belasteten Enclosures erfassen. Mit der Applikation des Insektizids KaZ kann ein stetiger Anstieg der Abundanz in den belasteten Kompartimenten V1 – V4 ab Tag 22 verzeichnet werden. Auffälligkeiten treten für die Konzentrationsstufe V5 (250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) 24h nach der Insektizid-Applikation in Form eines Einbruchs der Abundanzen auf. Ab Tag 28 steigen die Individuenzahlen auch in diesen Kompartimenten wieder an, so dass alle belasteten Enclosures an den Tagen 35 bis 49 signifikant erhöhte Abundanzwerte gegenüber den Kontrollenclosures aufweisen. Ab Tag 56 kann eine beginnende Erholung in den betroffenen Enclosures beobachtet werden. Abgesehen von einer erhöhten Abundanz am

letzten Probennahmentag entsprechen die Individuenzahlen der belasteten Enclosures ab Tag 63 wieder mehr oder minder den Zahlen der Kontrollen. (Abb. 67)

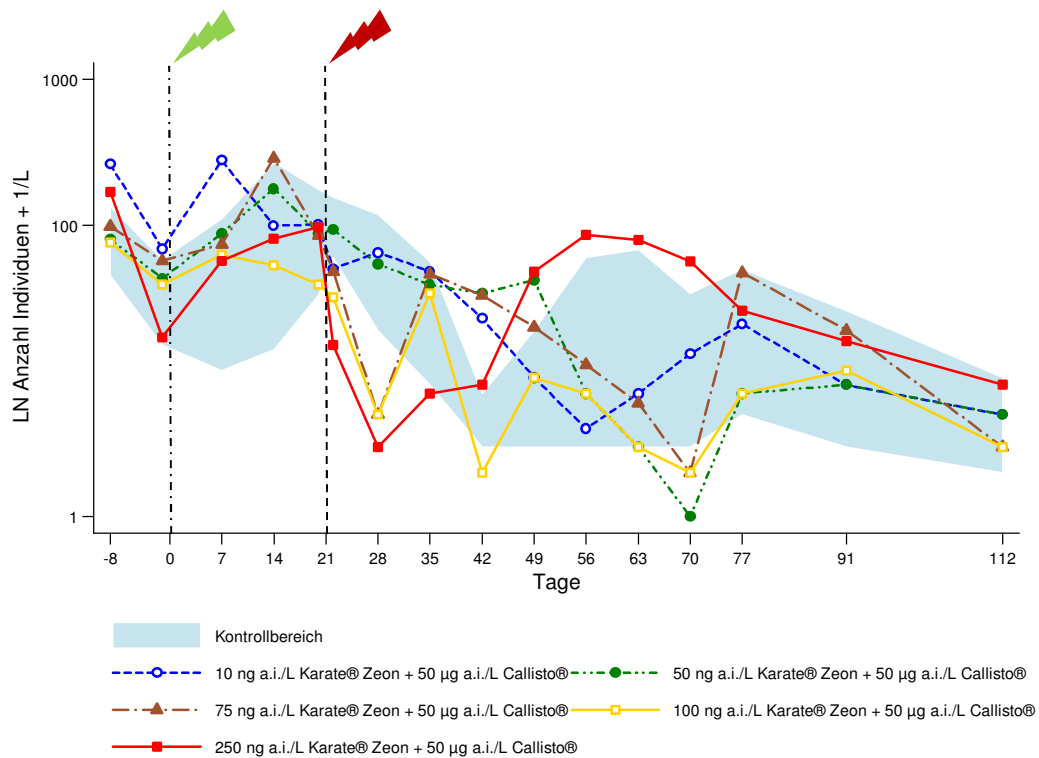
Eine  $NOEC_{\text{Gesamtabundanz}}$  für die Zooplanktongesellschaft kann nicht ermittelt werden, da sie unterhalb der getesteten Konzentrationsstufen liegt (Tab. 77).

**Tab. 77: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Gesamtabundanz der Zooplanktongesellschaft bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↑): Abundanz-Zunahme.**

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC					V4			V1	<V1	<V1				V4	V4	V1
Gesamtabundanz					(↑)			(↑)	(↑)	(↑)				(↑)	(↑)	(↑)

Copepoda (III)

Cyclopoida (Adult + Copepoditstadien) (III)



**Abb. 68: Entwicklung der Cyclopoida-Population (Adulte + Copepoditstadien) bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 78: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Cyclopoida-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme, (↑): Abundanz-Zunahme.**

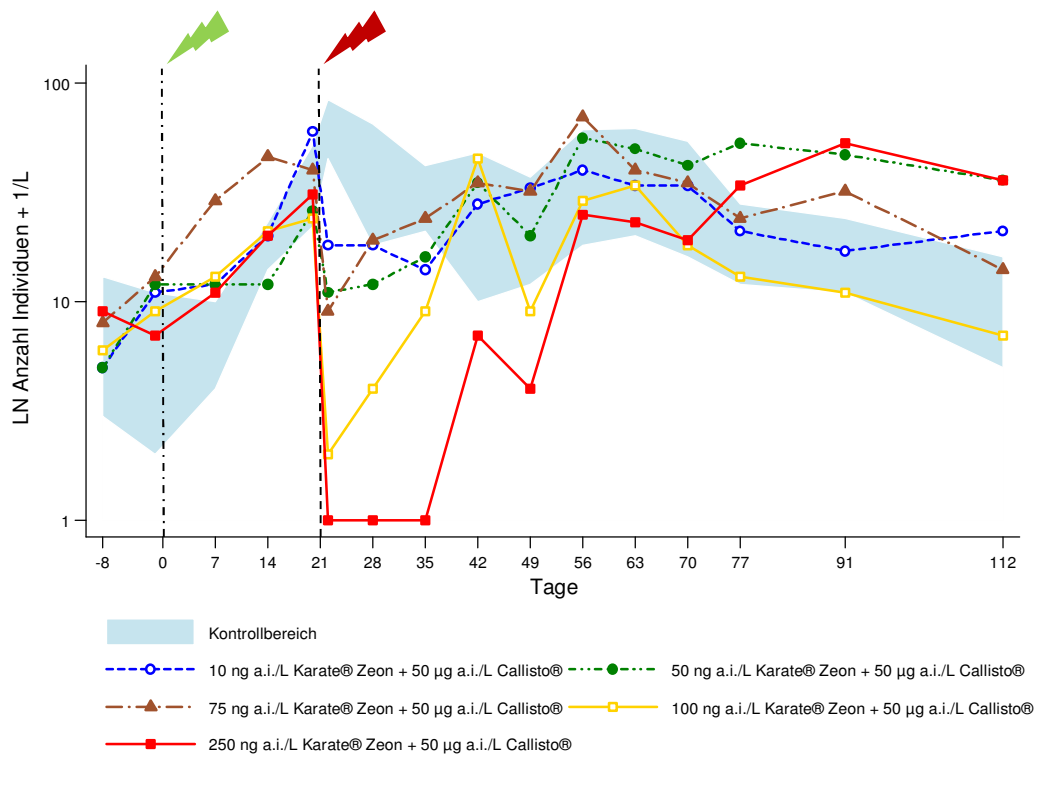
Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub>Cyclopoida</sub>						V4	V2			V4		V4				
						(↓)	(↓)			(↑)		(↑)				

Der Verlauf der zeitlichen Entwicklung der Cyclopoiden-Population weist in den drei höchsten Testkonzentrationen V3 – V5 auf kurzzeitige Effekte in Form eines Rückgangs der Individuenzahlen zwischen den Tagen 22 und 28 hin. Ab Tag 35 kann sich die Population jedoch von der Beeinträchtigung aufgrund des Pyrethroideintrags erholen, so dass ihre

Abundanzen in den betroffenen Enclosures ab diesem Zeitpunkt wieder denen der Kontrollenclosures entsprechen. (Abb. 68)

Die  $NOEC_{Cyclopoida}$  entspricht der vierten Konzentrationsstufe mit einer Applikationsmenge von **50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.** (Tab. 78)

**Calanoida (Adult + Copepoditstadien) (III)**



**Abb. 69: Entwicklung der Calanoida-Population (Adulte + Copepoditstadien) bei versetzter Applikation der beiden PSM.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 79: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Calanoida-Population in bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme, (↑) : Abundanz-Zunahme.**

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
$NOEC_{Calanoida}$						<V1	V3	V3	V4	V3					V4	V4
						(↓)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)					(↑)	(↑)



Im Gegensatz zur Copepoden-Ordnung Cyclopoida fallen die auftretenden Effekte der Pyrethroid-Belastung in der Population der Calanoida sehr deutlich aus. In allen Konzentrationsstufen ist ein starker Rückgang der Individuenzahlen nach der Applikation des Insektizids KaZ festzustellen. Das Ausmaß dieser Effekte folgt einer Dosis-Wirkungs-Beziehung. Mit steigender Insektizidkonzentration fällt der Rückgang der Abundanz stärker aus. Insbesondere in der höchsten Konzentrationsstufe V5 sinken die Individuenzahlen rapide von durchschnittlich 30 Individuen (Tag 20) auf 0 Individuen (Tag 22). Bis einschließlich Tag 35 lassen sich in diesen Kompartimenten keine Individuen der Calanoida mehr erfassen. Erst ab Tag 42, 21 Tage nach der Insektizidapplikation kann sich die Population in den betroffenen Enclosures allmählich erholen. Erst ab Tag 56 kann in diesen Kompartimenten von einer vollständigen Erholung der Calanoida-Population gesprochen werden.

Ein Anstieg der Abundanzen in den Enclosures der Belastungsstufen V1 – V4 erfolgt bereits ab Tag 28, so dass sich deren Individuenzahlen bereits ab diesem Tag für die Stufen V1 und V3 bzw. ab Tag 42 für die Stufen V2 und V4 im Bereich der Kontrollen befinden. (Abb. 69)

Mit einer  $\text{NOEC}_{\text{Calanoida}}$  von **75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C** entspricht diese der dritten Belastungsstufe V3 (Tab. 79).

Nauplia (III)

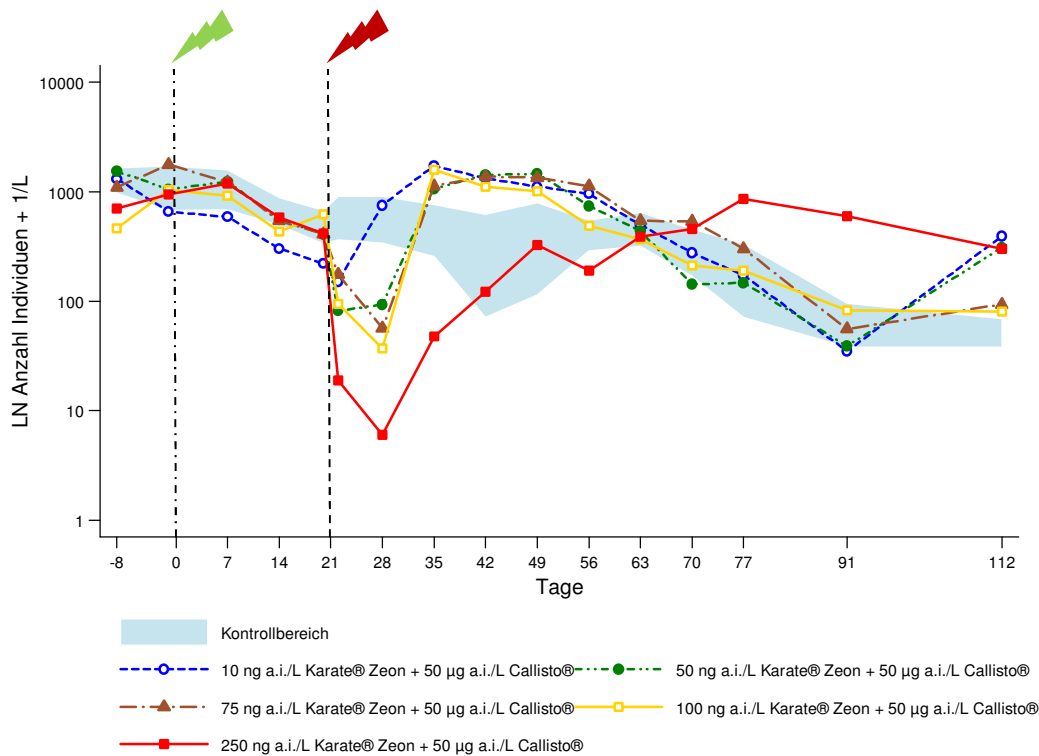


Abb. 70: Entwicklung der Nauplia (Cyclopoida + Calanoida) bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 80: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die Nauplia-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme, (↑) : Abundanz-Zunahme.

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub>Nauplia</sub>						<V1	<V1	V3		<V1				V3	V3	<V1
						(↓)	(↓)	(↓)		(↑)				(↑)	(↑)	(↑)

Die in Abbildung 72 dargestellte zeitliche Entwicklung der Copepodenlarve Nauplia entspricht weitestgehend dem Bild der Copepodit- und Adultstadien (vgl. Abb. 69 und Abb. 70). Auch die Larven dieser Ordnungen zeigen keine Beeinträchtigung auf die alleinige Applikation des Herbizids C. Die vergleichsweise niedrigeren Abundanzen in der niedrigsten Konzentrationsstufe verlaufen nur minimalst unterhalb der Kontrollwerte, so dass von einer natürlichen Schwankungsbreite aufgrund der unterschiedlichen Ausgangsvoraussetzungen innerhalb der Testsysteme ausgegangen werden kann. Mit der Applikation des Insektizids

KaZ treten signifikante Unterschiede gegenüber den Kontrollenclosures auf. Diese zeigen sich in Form sinkender Abundanzen bereits 24h nach dem Eintrag des Pyrethroids in allen belasteten Testkompartimenten. Allerdings kann in der niedrigsten Konzentrationsstufe V1 aufgrund der bereits erwähnten erniedrigten Abundanz in der Phase der alleinigen Herbizidbelastung nicht zwingend von einem Effekt auf die Nauplia-Population ausgegangen werden. Im Gegensatz zu den anderen vier Belastungsstufen befinden sich ihre Abundanzwerte ab Tag 28 im Bereich der Kontrollen. Für die Konzentrationsstufen V2 – V4 (50, 75 und 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) tritt eine vollständige Erholung der Larven, welche über die Abundanzwerte des Kontrollbereichs hinaus geht, ab Tag 35 ein. Die Erholung der höchsten Konzentrationsstufe mit einer Applikationsmenge von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C lässt sich ab Tag 42 dokumentieren.

Im Vergleich zu den höher entwickelten Copepoden-Stadien (Copepodit + Adult) der Calanoida und Cyclopoida reagieren die Larven dieser Ordnungen deutlich empfindlicher auf die versetzte Applikation der beiden PSM. Aufgrund dessen kann für das Taxon Nauplia keine  $NOEC_{Nauplia}$  berechnet werden, da diese unterhalb der niedrigsten Testkonzentration V1 liegt (Tab. 80).

*Daphnia longispina* (III)

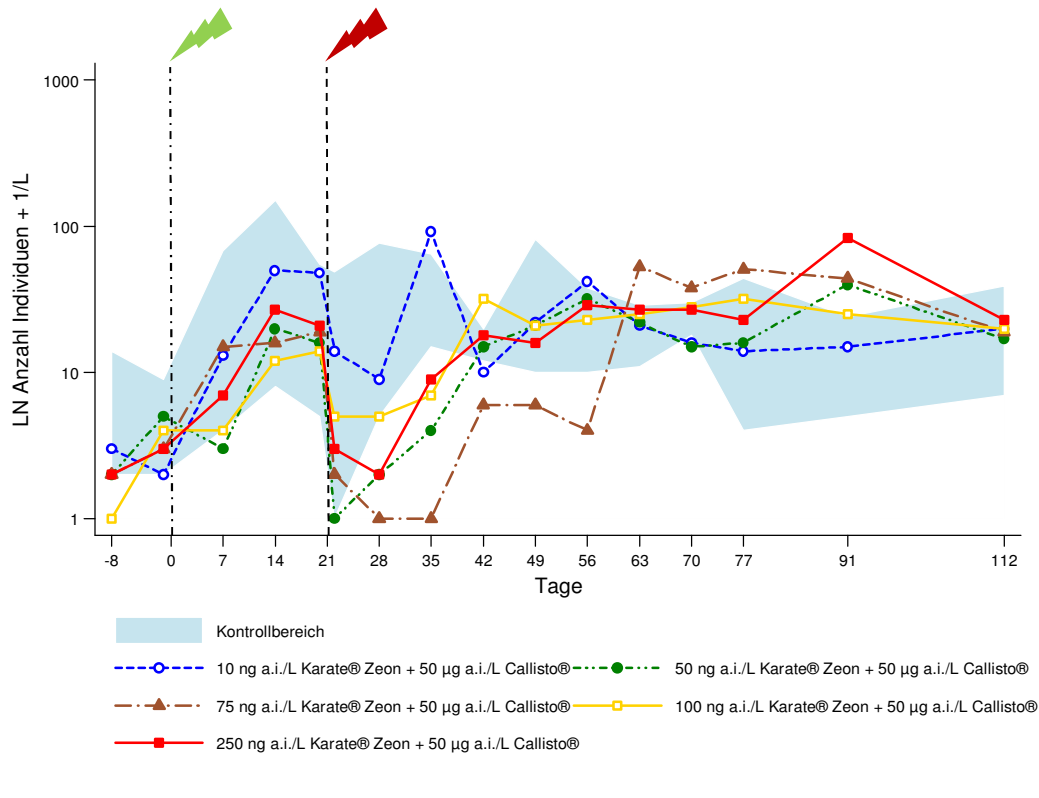


Abb. 71: Entwicklung der *Daphnia longispina*-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

Tab. 81: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die *Daphnia longispina*-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme, (↑) : Abundanz-Zunahme.

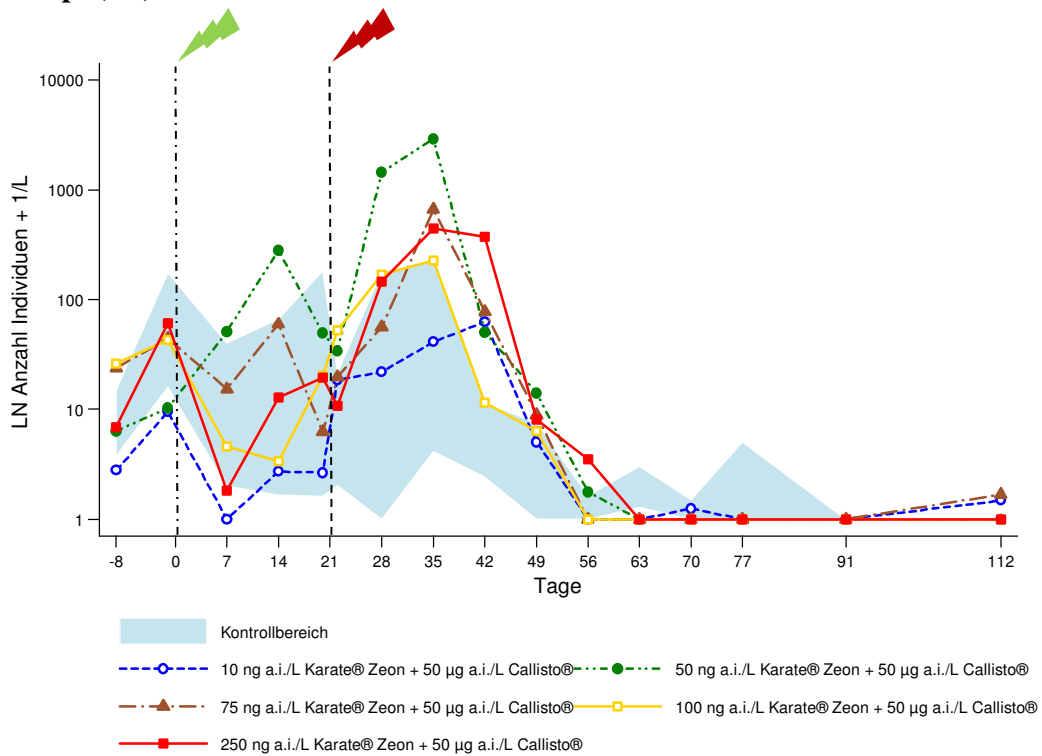
Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub>D. longispina</sub>							V1	V1							V1	
							(↓)	(↓)							(↑)	

Wie bei den bereits zuvor dargestellten Abundanzgrafiken, reagiert auch die Cladocere *Daphnia longispina* erst ab dem Zeitpunkt der Insektizid-Applikation empfindlich. Zuvor entsprechen die Abundanzwerte, auch nach Applikation des Herbizids an Tag 0, denen der Kontrollkompartimente. Ab Tag 28 hingegen liegen die Abundanzen für *Daphnia longispina* in den Enclosures der Belastungsstufen V2 bis V5 (ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) deutlich unter denen der Kontrollen. Bis Tag 42 steigen die Individuenzahlen in den betroffenen Enclosures wiederum an, so dass die Abundanzen in den

Belastungsstufen V2, V4 und V5 ab diesem Tag wieder im Bereich der Kontrollen liegen. Im Gegensatz dazu benötigt die Population der *Daphnia longispina* in den Kompartimente der Konzentrationsstufe V3 (75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) eine längere Regenerationszeit und erreicht erst ab Tag 63 wieder die Individuenzahlen der Kontrollkompartimente. (Abb. 71)

Über den gesamten Versuchszeitraum hinweg zeigt sich für die Konzentrationsstufe V1 mit einer Applikationsmenge von **10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C** keinerlei Beeinträchtigung, so dass diese Stufe auch der  $NOEC_{D.longispina}$  entspricht. (Tab. 81)

***Keratella* sp. (III)**



**Abb. 72: Entwicklung der *Keratella* sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf.** Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

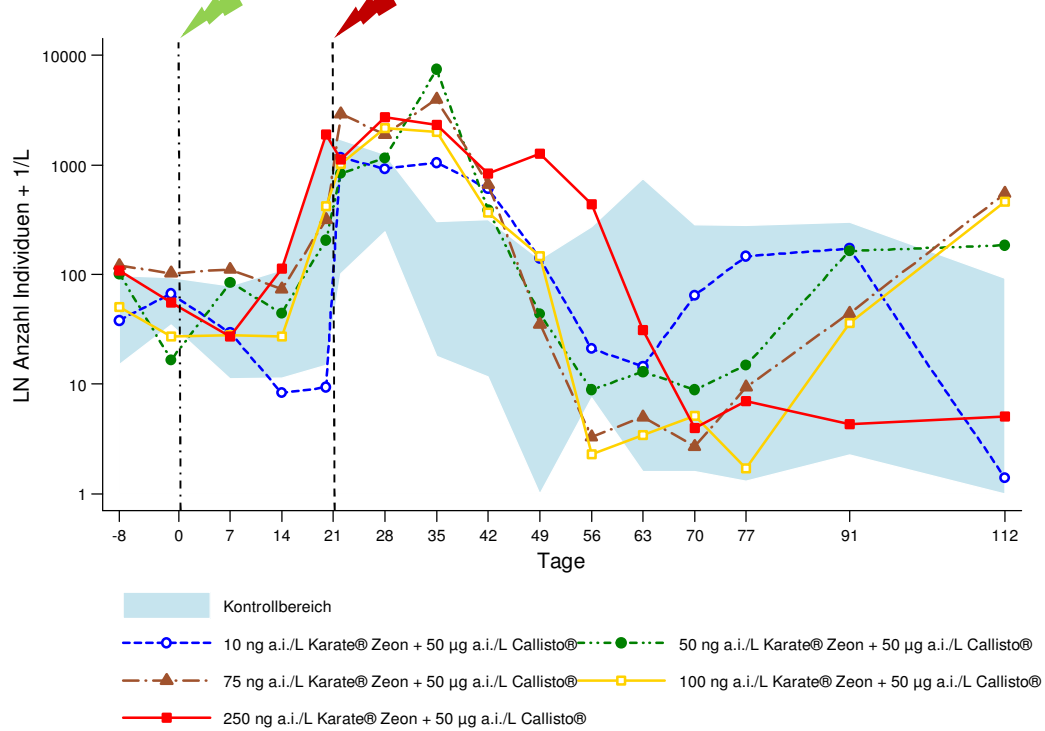
**Tab. 82: Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die *Keratella sp.*-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↓) : Abundanz-Abnahme, (↑) : Abundanz-Zunahme.**

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub><i>Keratella sp.</i></sub>									V4		V4	<V1		<V1		
									(↑)		(↑)	(↓)		(↓)		

Auch im Bereich der Rotifera treten kurzfristige Reaktionen aufgrund der PSM-Belastung erst nach der versetzten Applikation des Insektizids auf. Im Gegensatz zu den empfindlichen Taxa der Copepoden und Cladoceren profitiert *Keratella sp.* durch die Belastungssituationen und nehmen in ihrer Abundanz zu. Dieses Phänomen lässt sich ab Tag 28 insbesondere für die Enclosures mit einer PSM-Mischung von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (V2) beobachten. Während die Individuenzahlen der Belastungsstufe V4 (100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) im Anschluss an die Pyrethroidbelastung dauerhaft im Bereich der Kontroll-Maxima verlaufen, steigen die Abundanzen der Belastungsstufen V3 und V5 (75 bzw. 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) ab Tag 35 über die Kontrollwerte hinaus an. Ab Tag 42 sinken die Abundanzen der *Keratella sp.* sowohl in den Kontrollen als auch in den belasteten Enclosures ab, so dass sie in allen Testkompartimenten gegen Ende der Studie nur noch sehr geringe Individuenzahlen aufweisen. (Abb. 72)

Die NOEC<sub>*Keratella sp.*</sub> beträgt **100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.** (Tab. 82)

***Polyarthra* sp. (III)**



**Abb. 73:** Entwicklung der *Polyarthra* sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM im zeitlichen Verlauf. Für die einzelnen Belastungsstufen sind die jeweiligen Mittelwerte der beiden Replikate dargestellt.

**Tab. 83:** Ergebnisse des Williamstests pro Beprobungstag für die *Polyarthra* sp.-Population bei versetzter Applikation der beiden PSM ( $p < 0,05$ ), (↑): Abundanz-Zunahme.

Tag	-8	-1	7	14	20	22	28	35	42	49	56	63	70	77	91	112
NOEC <sub><i>Polyarthra</i></sub>										V4						
sp.										(↑)						

Auch die Rotatorie *Polyarthra* sp. zeigt ansteigende Individuenzahlen nach der zusätzlichen Belastung der Testsysteme mit KaZ. Signifikante Unterschiede können jedoch nur an Tag 49 für die höchste Konzentrationsstufe (V5) detektiert werden, so dass die NOEC<sub>*Polyarthra*</sub> der Konzentrationsstufe V4 mit 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C entspricht. (Abb. 73, Tab. 83)





### 3.4 TABELLARISCHE ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der drei Mesokosmenstudien zur Bewertung des Insektizids KaZ alleine (I) und in Kombination mit dem Herbizid C (II und III) wurden tabellarisch zusammengefasst (Tab. 84 - 86).

Die ermittelten NEC (No Effect Concentrations)- und NOEC (No Observed Effect Concentrations)-Werte sind den Effektklassen nach *BROCK ET AL (2000A/B)* und *DE JONG ET AL (2008)* den getesteten Konzentrationsstufen wie folgt gegenübergestellt (vgl. Pkt. 2.5.5):

1	Effektklasse 1:	keine Effekte detektierbar
2	Effektklasse 2:	leichte Effekte
3	Effektklasse 3:	deutliche Kurzzeiteffekte
5A	Effektklasse 5A:	deutliche Langzeiteffekte mit Recovery > 8 Wochen
5B	Effektklasse 5B:	deutliche Langzeiteffekte ohne Recovery

**Tab. 84: Endpunkte und Bewertung der Mesokosmenstudie I - Einzelbelastung des Insektizids Karate® Zeon.** ↓: Abundanzrückgang, ↑: Abundanzzunahme, -: keine Effekte, n.n.: NEC nicht ermittelbar.

MESOKOSMOS I	NEC ng a.i./L Karate® Zeon	EFFEKTKLASSEN	KONZENTRATIONSTUFEN							
			EB1	EB2	EB3	EB4	EB5	EB6	EB7	EB8
<b>Physikalische Parameter</b>	-		1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Chemische Parameter</b>	-		1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Biologische Parameter</b>										
<b>Makroinvertebraten</b>	5,8		1	2	2	3	3	5B	5B	5B
Gesamtabundanz	4,0		1	2 ↓	3 ↓	3 ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
<i>Chaoborus crystallinus</i>	2,7		1	2 ↓	2 ↓	3 ↓	5A ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
<i>Cloeon dipterum</i>	68,9		1	1	1	1	2 ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
<b>Zooplankton</b>	143,8		1	1	1	1	1	3	3	3
Gesamtabundanz	-		1	1	1	1	1	1	1	1
Cyclopoida	10,7		1	1	2 ↓	2 ↓	3 ↓	3 ↓	3 ↓	3 ↓
Calanoida	76,1		1	1	1	1	2 ↓	2 ↓	2 ↓	2 ↓
Nauplia	30,4		1	1	2 ↓	2 ↓	2 ↓	2 ↓	2 ↓	3 ↓
<i>Daphnia longispina</i>	n.n.		1	1	1	1	2 ↑	5B ↑	5B ↑	5B ↑
<i>Polyarthra</i> sp.	89,1		1	1	1	1	5B ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓

**Tab. 85: Endpunkte und Bewertung der Mesokosmenstudie II – zeitgleiche Applikation der beiden PSM Karate® Zeon und Callisto®.** Kursive Werte in Klammern kennzeichnen nicht monoton signifikante Effekte.  
 ↓: Abundanzrückgang, ↑: Abundanzzunahme.

MESOKOSMOS II	NOEC ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg Callisto®	KONZENTRATIONSTUFEN			
		Z1	Z2	Z3	Z4
<b>Physikalische Parameter</b>	<	5B	5B	5B	5B
<b>Chemische Parameter</b>	<	5B	5B	5B	5B
<b>Biologische Parameter</b>					
<b>Makroinvertebraten</b>	<	5A ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
Gesamtabundanz	<	3 ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
<i>Chaoborus crystallinus</i>	<	5A ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
<i>Cloeon dipterum</i>	10	1	2 ↓	5B ↓	5B ↓
<b>Zooplankton</b>		2	5A	5A	5B
Gesamtabundanz		1	(2 ↓↑)	(2 ↓↑)	(3 ↓↑)
Cyclopoida	<	2 ↓	3 ↓	3 ↓	5A ↓↑
<i>Nauplia</i>	<	2 ↓	5A ↓	5A ↓	5B ↓↑
<i>Alona affinis</i>	10	1	3 ↓	3 ↓	5A ↓
<b>Makrophyten</b>		5B ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓
<b>Phytoplankton</b>		1	1	1	3 ↓

Tab. 86: Endpunkte und Bewertung der Mesokosmenstudie III – zeitversetzte Applikation der beiden PSM Karate® Zeon und Callisto®. ↓: Abundanzrückgang, ↑ : Abundanzzunahme. <: NOEC unterhalb der niedrigsten Konzentrationsstufe.

MESOKOSMOS III	NOEC ng a.i./L Karate® Zeon + 50 µg Callisto®	EFFEKTKLASSEN	KONZENTRATIONSSSTUFEN				
			V1	V2	V3	V4	V5
<b>Physikalische Parameter</b>	10		2	3	3	3	3
<b>Chemische Parameter</b>			1	1	1	1	1
Chlorophyll	100		1	1	1	1	3 ↑
<b>Biologische Parameter</b>							
<b>Makroinvertebraten</b>	10		1	3	3	3	5B ↓
Gesamtabundanz	10		1	2 ↓	3 ↓	3 ↓	5B ↓
<i>Chaoborus crystallinus</i>	10		1	2 ↓	3 ↓	3 ↓	5B ↓
<i>Cloeon dipterum</i>	75		1	1	1	2 ↓	5A ↓
<i>Plea leachi</i>	10		1	3 ↓	3 ↓	5B ↓	5B ↓
<b>Zooplankton</b>	75		1	1	1	5A	5A
Gesamtabundanz	<		2 ↑	3 ↑	3 ↑	3 ↑	5B ↑
Cyclopoida	50		1	1	2 ↓	2 ↓	3 ↓↑
Calanoida	75		1	1	1	3 ↓	3 ↓
Nauplia	<		3 ↓↑	3 ↓↑	3 ↓↑	3 ↓↑	5B ↓↑
<i>Daphnia longispina</i>	10		1	2 ↓	2 ↓	2 ↓	2 ↓
<i>Keratella</i> sp.	100		1	1	1	1	2 ↑
<i>Polyarthra</i> sp.	100		1	1	1	1	2 ↑
<b>Makrophyten</b>			5B ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓	5B ↓



## 4 DISKUSSION

### 4.1 MESOKOSMOS I – EINZELBELASTUNG KARATE® ZEON

#### 4.1.1 BEWERTUNG DER ERGEBNISSE (I)

##### Wasserqualität (I)

Ein Einfluss der alleinigen Applikation des Insektizids KaZ konnte weder auf physikalische, noch auf chemische Wasserparameter festgestellt werden. Dies liegt darin begründet, dass die Wasserqualität primär durch abiotische Faktoren und die Aktivitäten autotropher Organismen beeinflusst wird (*POTT & REMY 2000*), deren physiologischen Eigenschaften keine Angriffsfläche für die gängigen Insektizidwirkstoffe bieten. Aufgrund dessen sind direkte Effekte auf physikalische und chemische Wasserparameter im Bereich realitätsbezogener Konzentrationen nicht bekannt. Für Substanzen der Pyrethroidklasse, denen auch der Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin des Insektizids KaZ angehört, belegen zahlreiche Mesokosmenstudien, dass keine Veränderung der Wasserqualität zu erwarten ist (*BROCK ET AL. 2000B, GRÜNWALD 2003, DAWO 2005, BAUER 2010, SPIEGEL 2010*).

##### Makroinvertebratengesellschaft (I)

Eindeutige sowohl direkte, als auch indirekte Effekte konnten hingegen für die erfassten biologischen Endpunkte nach Applikation des Pyrethroids festgestellt werden. Mit einer  $NEC_{Community}$  von 5,8 ng a.i./L ist die Gesellschaft der Makroinvertebraten durch die Wirkung der aktiven Substanz direkt betroffen. Deutliche Kurzzeiteffekte (Effektklasse 3) zeigen sich für die Gesellschaft bereits ab 50 ng a.i./L. Ausgeprägte und damit für das Gleichgewicht des natürlichen Ökosystems schwerwiegende Effekte (Klasse 5B) treten auf Gesellschaftsebene ab einer Konzentrationsstufe von 250 ng a.i./L bereits 24 h nach der Applikation auf. Diese schnell eintretende Wirkung ist typisch für die direkte Pyrethroid-Toxizität auf Taxa der Makroinvertebratengesellschaft (*BROCK ET AL. 2000B*). Im Verlauf der PRC-Kurven (Abb. 6) spiegelt sich diese Antwort der Gesellschaft auf die Belastungssituation wider. Insbesondere diejenigen Taxa welche der Ordnung der Diptera (Stamm Arthropoda) zuzuordnen sind

verzeichnen aufgrund ihrer anatomischen und physiologischen Ähnlichkeit zu den Zielorganismen der aktiven Substanz schnell eintretende und massive Abundanzrückgänge.

Als empfindlichste Art ist *Chaoborus crystallinus* zu nennen, welcher in der Vorbelastungsphase, sowie in den Kontrollkompartimenten mit Abstand die Systeme dominiert. Diese Beobachtung ist aufgrund der Schlüsselrolle der Art innerhalb der aquatischen Biozönose von größter Bedeutung. *Chaoborus crystallinus* fungiert in fischlosen Systemen als Topprädator (BERENDONK 1999) und beeinflusst aufgrund dessen das Nahrungsgefüge dieser Ökosysteme erheblich. Obgleich auch die Individuen der Zygoptera und Anisoptera am Ende der Nahrungskette stehen und deren ältere Larvalstadien sich z.T. von *Chaoborus crystallinus* ernähren (eigene Beobachtung), spielen diese aufgrund ihrer deutlich geringeren Abundanzzahlen eine untergeordnete Prädatorrolle im Nahrungsgefüge der Testsysteme. In natürlichen ungestörten Gewässersystemen übt *Chaoborus crystallinus* einen entscheidenden Fraßdruck auf Organismen des Zooplanktons aus und beeinflusst auf diese Weise die Artenzusammensetzung dieser Gesellschaft. Die ermittelte  $NEC_{Chaoborus\ crystallinus}$  (No Effect Concentration) beträgt 2,7 ng a.i./L KaZ. Während auf Gesellschaftsebene erst ab einer Testkonzentration von 50 ng a.i./L Effekte zu verzeichnen sind, treten für *Chaoborus crystallinus* bereits ab 10 ng a.i./L leichte toxische Effekte (Klasse 2) auf, so dass diese Population deutlich sensibler als die Gesellschaft der Makroinvertebraten reagiert. Ab einer Applikationsmenge von 100 ng a.i./L tritt eine langfristige Schädigung der *Chaoborus crystallinus*-Population ein (Klasse 5B). Bis zum Ende der Studie kann in diesen Kompartimenten (EB 5 – EB 8) keine Erholung für die Art festgestellt werden, so dass in diesem Konzentrationsbereich schwerwiegende Auswirkungen auf das Gleichgewicht der aquatischen Biozönose zu erwarten sind.

Toxische Effekte treten des Weiteren für *Cloeon dipterum* auf. Zum Zeitpunkt der Pestizidapplikation befinden sich aufgrund des Lebenszyklus der Eintagsfliegenart kaum Larven in den Testsystemen. Die Larven der Art werden nach BRETSCHKO (1965) in fünf juvenile Stadien unterteilt. Nach der Überwinterung, welche in allen Larvalstadien erfolgen kann, sind mehrere Generationszyklen pro Jahr für *Cloeon dipterum* bekannt. Abhängig von Temperatur und Nahrungsangebot erfolgt die Entwicklung der überwinterten Larven hin zu flugfähigen Imagos. Der Flug der ersten Cloeon-Generation wird hauptsächlich von Mai bis

Juni beobachtet (LICHTENBERG 1972). Für die Testsysteme der Mesokosmenstudie I bedeutet dies, dass die erste *Cloeon dipterum* Generation des Jahres zum Zeitpunkt der Applikation bereits ausgeflogen war und nur noch wenige Individuen der Art, sowohl in den Kontrollen als auch in den später belasteten Kompartimenten zu erfassen waren. Eine Aussage über die direkte Toxizität des Pyrethroids auf diese Population kann aufgrund dessen nicht getroffen werden. Über eine schädigende Wirkung auf die Gattung *Cloeon* ab Lambda-Cyhalothrin-Konzentrationen > 25 ng/L wird in der Literatur jedoch einschlägig berichtet (ROESSINK ET AL. 2005, VAN WIJNGAARDEN ET AL. 2006). Trotz der bereits eingetretenen Emergenz der ersten Generation zum Applikationszeitpunkt, lässt sich eine Wirkung in der vorliegenden Studie anhand des Wiederbesiedlungspotentials und des Auftretens des Taxons erkennen (Abb. 11). So steigen die Individuenzahlen für *Cloeon dipterum* ab Tag 20 innerhalb der Kontrollkompartimente rapide an. Hierbei handelt es sich um die zweite Generation der *Cloeon* Larven des Jahres, welche für gewöhnlich im Spätsommer in stehenden Gewässern anzutreffen ist (BAYERISCHES LANDESAMT FÜR WASSERWIRTSCHAFT 1988). In den belasteten Enclosures lässt sich diese zweite Generation der Larven erst zeitlich verzögert ab Tag 41 erfassen. Aufgrund dieser Beobachtungen ist davon auszugehen, dass juvenile Stadien des Taxons durch die Beprobung erst ab einer gewissen Größe aufgenommen werden. Kleinere Larvalstadien konnten sich ungehindert in den Kontrollkompartimenten entwickeln und wurden ab Tag 20 in diesen erfasst. In den belasteten Kompartimenten hingegen wurden diese durch die toxischen Eigenschaften des Pyrethroids beeinflusst, so dass sich in diesen Kompartimenten prozentual weniger Larven entwickeln konnten. Dies schlägt sich in dem verzögerten Auftreten der Art in diesen Kompartimenten nieder. Aufgrund der schnellen Abbaurate von Lambda-Cyhalothrin ( $DT_{50} < 1$  Tag, LEISTRA ET AL. 2004, EU 2001) kann davon ausgegangen werden, dass bereits kurze Zeit nach der Applikation eine Reproduktion der multivoltinen Art in den belasteten Enclosures möglich war. Im Vergleich zur von VAN WIJNGAARDEN ET AL. (2006) ermittelten  $NOEC_{Cloeon\ dipterum}$  (no observed effect concentration) von 25 ng a.i./L reagiert die Population in der vorliegenden Studie mit einer  $NEC_{Cloeon\ dipterum}$  von 68,9 ng a.i./L deutlich weniger sensitiv.

Die beschriebenen Effekte, insbesondere die erhebliche Toxizität gegenüber Arthropoden der Makroinvertebratengesellschaft konnten einige Autoren (ROESSINK ET AL. 2005, SCHROER ET AL. 2004, VAN WIJNGAARDEN ET AL. 2006) bestätigen. Übereinstimmend wird die Gattung *Chaoborus* als die sensitivste mit einer  $NOEC_{Chaoborus} \leq 10$  ng a.i./L genannt. Zudem konnte eine hohe Empfindlichkeit gegenüber der aktiven Substanz für *Gammarus* sp. mit einer  $NOEC_{Gammarus\ sp.}$  zwischen 25 (ROESSINK ET AL. 2005) und 50 ng a.i./L (HECKMANN & FRIBERG 2005, VAN WIJNGAARDEN ET AL. 2006) und *Asellus aquaticus* mit einer  $NOEC_{Asellus\ aquaticus}$  von 50 ng a.i./L (VAN WIJNGAARDEN ET AL. 2006) in weiteren wissenschaftlichen Studien nachgewiesen werden. Aufgrund der Absenz von *Gammarus* sp. und der geringen Abundanz von *Asellus aquaticus* in den Testsystemen der vorliegenden Studie konnten diese Organismen hier nicht als sensitive Endpunkte erfasst werden.

### Zooplanktongesellschaft (I)

Im Vergleich zu den Effekten der Makroinvertebraten lässt sich auf Gesellschaftsebene des Zooplanktons auf den ersten Blick keine dosis abhängige Beeinträchtigung der Biozönose, trotz der in Summe signifikanten PRC erkennen. Auch VAN WIJNGAARDEN ET AL. (2006) und ROESSINK ET AL. (2005) konnten auf Gesellschaftsebene keinen direkten Einfluss der Insektizidapplikation feststellen. Werden die in den species scores angezeigten empfindlichen Taxa jedoch auf Populationsebene differenzierter betrachtet, zeigen sich sowohl direkte als auch indirekte Effekte auf die Gesellschaft.

Vertreter der **Cyclopoida** treten als empfindlichste Organismen mit einer  $NEC_{Cyclopoida}$  von 10,7 ng a.i./L in den Vordergrund. Ihre juvenilen Stadien, welche unter dem Taxon Nauplia zusammengefasst wurden, reagierten auf den Pyrethroideintrag weniger sensitiv ( $NEC_{Nauplia} = 30,4$  ng a.i./L) als die Copepodit- und Adultstadien der Cyclopoida. Dies kann mit der geringen Empfindlichkeit der Calanoida ( $NEC_{adult} = 76,1$  ng a.i./L) erklärt werden, deren Larven ebenfalls unter dem Taxon **Nauplia** aufgeführt werden. Bei den erfassten toxischen Effekten für die Gruppe der Copepoda handelt es sich um leichte bis deutliche Kurzzeiteffekte (Klasse 2 und 3), so dass für alle Konzentrationsstufen eine Recovery innerhalb von 8 Wochen verzeichnet werden kann.



Im Gegensatz zu den direkten toxischen Effekten der Copepoda konnten für die beiden anderen Großgruppen des Zooplanktons Rotifera und Cladocera indirekte Effekte festgestellt werden. Diese fallen für die Cladocere *Daphnia longispina* positiv, in Form einer verzögerten Abundanzzunahme aus. Insbesondere in den Teststufen 250 – 1000 ng a.i./L (EB 6 – EB 8) ist ein beträchtlicher Anstieg der Individuenzahlen zu verzeichnen. Diese Zunahme der Population geht mit der deutlichen toxischen Wirkung des Insektizids auf den Räuber *Chaoborus crystallinus* ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L einher. Abhängig von ihrem Entwicklungsstadium, werden Daphnien bevorzugt von Chaoboruslarven erbeutet (SWIFT & FEDERENKO 1975). Während juvenile Tiere vermehrt gefressen werden (SWIFT & FEDERENKO 1975), sind adulte Tiere durch ihre lange Spina vor dem Fraß der Chaoborus Larven weitestgehend geschützt (SWIFT 1992, LAIR 1990). Dieser indirekte Einfluss von Pyrethroiden auf die Gruppe der Cladoceren ist hinlänglich bekannt (BROCK ET AL. 2000B). Eine  $NEC_{Daphnia\ longispina}$  konnte in der vorliegenden Studie aufgrund der Abwesenheit bzw. geringen Abundanz dieser Art in einigen Testkompartimenten nicht valide bestimmt werden. Im Gegensatz zu den in der vorliegenden Studie erfassten indirekten Effekten für die Population der *Daphnia longispina*, belegen Vergleichsstudien zudem signifikante toxische Effekte ab einer Testkonzentration von 50 ng/L Lambda-Cyhalothrin (BAUER 2010, ROESSINK ET AL. 2005).

Im Vergleich zu den beobachteten positiven indirekten Effekten für *Daphnia* sind die verzögert auftretenden Effekte für die Rotatorie *Polyarthra sp.* negativer Natur. Sie treten ab Tag 27 bzw. 41 konzentrationsabhängig ab 50 ng a.i./L (EB 4 – EB 8) in Form deutlich erniedrigter Werte bis hin zu 0 Individuen/L auf. Ein direkter toxischer Einfluss des Pyrethroids kann somit für dieses Taxon ausgeschlossen werden. Vielmehr spielen Räuber-Beute-Beziehungen im Falle des rapiden Abundanzrückgangs eine Rolle. Der Rückgang der *Polyarthra*-Population ist sowohl mit dem Aufkommen an *Daphnia longispina*, als auch mit der Erholung der Cyclopoiden-Population negativ korreliert. *Polyarthra sp.* werden bevorzugt von Copepodit- und Adulstadien der Cyclopoida erbeutet, sofern bevorzugtere Beutetiere wie *Synchaeta sp.* nicht ausreichend zur Verfügung stehen (KARABIN 1978). Des Weiteren gelangen Individuen der Gattung *Polyarthra* des öfteren in die Filtrierapparate größerer Cladoceren, beispielsweise Daphnien und werden auf diese Weise beschädigt (WICKHAM & GILBERT 1991, JACK & GILBERT 1994, AUTENGRUBER 2008) oder ganz gefressen werden (GILBERT 1988). Mit Ausnahme von 50 ng a.i./L (EB 4) kann *Polyarthra sp.* bis zum Ende

der Studie diesen erhöhten Fraßdruck nicht kompensieren, so dass eine vollständige Erholung für alle Konzentrationsstufen  $\geq 100$  ng a.i./L ausbleibt (Effektklasse 5B).

#### Makrophyten (I)

Effekte auf die Gesellschaft der Makrophyten wurden aufgrund der Ergebnisse der Freilandstudien von *ROESSINK ET AL. (2005)* und *VAN WIJNGAARDEN ET AL. (2006)* nicht erwartet, so dass dieser Parameter innerhalb der Studie nicht weiter aufgenommen wurde.

#### Phytoplanktongesellschaft (I)

Die Phytoplanktongesellschaft wurde indirekt über die Messung des Chlorophyll-Gehalts erfasst. Auswirkung der Insektizidapplikation konnten weder direkt noch indirekt verzeichnet werden und werden aufgrund vorliegender Toxizitätswerte (Sicherheitsdatenblatt Karate<sup>®</sup> Zeon) erst für deutlich höhere Wirkstoffkonzentrationen erwartet (EC<sub>50</sub> (Effect Concentration) > 1 mg/L Lambda Cyhalothrin).

#### 4.1.2 RISIKOMANAGEMENT (I)

Bei umfassender Betrachtung der beschriebenen Effekte auf die aquatische Biozönose der Testsysteme lässt sich eine konsistente NOEAEC (No Observed Ecologically Adverse Effect Concentration) von **50 ng a.i./L KaZ** festlegen. Effekte der Klasse 3 treten in dieser Konzentrationsstufe für *Chaoborus crystallinus*, den mit Abstand empfindlichsten Organismus auf. Bereits ab einer KaZ-Konzentration von 100 ng a.i./L stellen sich deutliche Langzeiteffekte (Klasse 5B) ein, von denen sich die Population bis zum Studienende nicht erholen kann. In einer Vergleichsstudie (BAUER 2010, SPIEGEL 2010) wurden diese Ergebnisse und die daraus resultierende NOEAEC bestätigt. Dem gegenüber steht eine durch ROESSINK ET AL. (2005) im Zuge einer weiteren Mesokosmenstudie ermittelte NOEAEC von 100 ng a.i./L KaZ. Aufgrund dessen ist davon auszugehen, dass Unterschiede innerhalb der Testsysteme bezüglich ihrer Trophie und Artenzusammensetzung eine nicht zu verachtende Rolle auf die Auswirkung einer PSM-Applikation spielt. Derartige Unterschiede in der Effektstärke von Pflanzenschutzmitteln konnte unter anderem WENDT-RASCH (2003) für meso- und eutrophe aquatische Systeme belegen.

Im vorliegenden Fall der Mesokosmenstudie I zur Einzelbelastung des Insektizids KaZ entspricht die regulatorisch akzeptable Konzentration (RAC, Regulatory Acceptable Concentration) der NOEAEC von 50 ng a.i./L KaZ. Auf einen zusätzlichen Sicherheitsfaktor wurde aufgrund der umfangreichen Erfassung und Bewertung der Effekte auf alle für die aktive Substanz relevanten Organismengruppen (Makroinvertebraten, Zooplankton) verzichtet. Das tatsächliche Gefährdungspotential des Insektizids KaZ lässt sich durch einen Vergleich mit den berechneten PEC (Predicted Environmental Concentrations) ermitteln. Die PEC für KaZ beträgt ohne Abstandsaufgabe 69 ng a.i./L KaZ (JKI, SYNOPS). Mit einer RAC von 50 ng a.i./L KaZ muss im Falle eines Verstoßes gegen die Abstandsaufgaben durch den PSM-Anwender von einer langfristigen Schädigung des aquatischen Ökosystems ausgegangen werden. Bereits unter Einhaltung der gesetzlich vorgeschriebenen Abstandsaufgabe zu Gewässersystemen von 1 m beträgt die berechnete PEC 10 ng a.i./L KaZ (JKI, SYNOPS). Ein Schutz der Oberflächengewässer bei Anwendung des Insektizids KaZ ist somit unter Einhaltung der gesetzlichen Bestimmungen gegeben. Die große Bedeutung der Überprüfung und Beratung der Anwender von PSM im Zuge der guten landwirtschaftlichen Praxis wird auf diese Weise in besonderem Maße deutlich.



## 4.2 MESOKOSMOS II

### KOMBINATIONSBELASTUNG BEI ZEITGLEICHER APPLIKATION

#### 4.2.1 BEWERTUNG DER ERGEBNISSE (II)

##### Analytik (II)

Die Bestimmung des Insektizidwirkstoffs Lambda-Cyhalothrin in wässriger Phase weist aufgrund seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften (niedrige Wasserlöslichkeit, hoher logKow) einige Schwierigkeiten auf. Der Wirkstoff bindet stark an Sediment und Schwebstoffe, so dass keine homogene Verteilung in der Wassersäule erreicht werden kann (VAN LEEUWEN ET AL. 2008). Es ist davon auszugehen, dass die große Diskrepanz zwischen den bioanalytisch ermittelten Konzentrationen eine Stunde nach der Applikation und den nominalen Testkonzentrationen (Tab. 22) diesem Umstand geschuldet ist und zum Zeitpunkt der Probenahme die aktive Substanz aufgrund dieser Problematik nicht homogen in den Enclosures verteilt vorlag. Ein Bezug zu den nominal eingesetzten Konzentrationen lässt sich auch für die gemessenen Konzentrationen des Herbizidwirkstoffs Mesotrione nicht direkt herstellen. Dies deutet darauf hin, dass auch diese Substanz zum Zeitpunkt der Probenentnahme noch unzureichend in der Wassersäule gelöst vorlag. Ausgehend von einer nominalen Konzentration von 50 µg a.i./L C in allen Testkompartimenten konnten in den belasteten Enclosures jedoch bis auf Enclosure Z3a ähnliche Wirkstoffmengen analysiert werden. Während in Enclosure Z3a nur 80,3 % der nominalen Mesotrionekonzentration erreicht werden konnten, ließ sich eine Stunde nach Applikation in allen weiteren belasteten Enclosures nahezu die 3-fache Menge des Wirkstoffes ( $271 \pm 12 \%$ ) detektieren.

##### Wasserqualität (II)

Im Vergleich zur Einzelbelastung des Insektizids zeigen sich deutliche Langzeiteffekte (Klasse 5B) auf die Wasserqualität bei zusätzlicher zeitgleicher Applikation des Herbizides C. Die Wirkung des PSM-Gemisches tritt zeitverzögert, insbesondere auf diejenigen Parameter, welche hauptsächlich durch die Primärproduzenten der Biozönose beeinflusst werden ein. Sowohl der signifikante Rückgang der Sauerstoffkonzentrationen ab Tag 22, als auch die signifikant verminderten pH-Werte decken eine verringerte Photosyntheseleistung innerhalb

der belasteten Testsysteme auf. Sekundäre Effekte können in Form eines indirekten Anstiegs der Leitfähigkeit, als Folge des Rückgangs der Primärproduzenten, nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen sowie die Tatsache, dass alle belasteten Enclosures synchron auf die Belastungssituation reagieren machen deutlich, dass die Effekte allein dem Herbizideintrag geschuldet sind. Obgleich der Einfluss der PSM auf die chemischen Parameter statistisch signifikant nur für die PRC greifbar ist, zeigen sich innerhalb der einzelnen Parameter ansteigende Tendenzen für Chlorophyll-, Gesamt- und Gelöstphosphat-Gehalt. Veränderungen der Wasserqualität aufgrund eines Herbizideintrags konnten in vielfachen Labor- und Freilandstudien auf ähnliche Weise belegt werden (NEWBOLD 1979, BROCK ET AL 2000A, GRÜNWALD 2003).

#### Makroinvertebratengesellschaft (II)

Für die zeitgleiche Kombinationsbelastung des Insektizids KaZ und des Herbizids C zeigen sich ebenfalls deutliche, toxische Effekte auf die Gesellschaft der Makroinvertebraten. Ihr Ausmaß steigt mit zunehmender Konzentration der Insektizidkomponente. Diese Dosis-Wirkungs-Beziehung zeigt deutlich, dass die Makroinvertebratengesellschaft hauptsächlich durch den Eintrag des Insektizidwirkstoffs Lambda-Cyhalothrin beeinflusst wird. Im Vergleich zur Einzelwirkung des Insektizids treten deutlich verstärkte Effekte in der Mischung zu Tage. Auf Gesellschaftsebene werden bereits für die niedrigste Konzentrationsstufe mit einer Applikation von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C Langzeiteffekte der Klasse 5A erfasst.

In allen belasteten Testsystemen stellt sich auch in dieser Studie *Chaoborus crystallinus* als empfindlichster Organismus heraus. Die Auswirkungen auf diese Art sind maßgeblich für die weitere Entwicklung der Makroinvertebratengesellschaft im Anschluss an die Applikation des PSM-Gemischs verantwortlich.

Im Vergleich zur Einzelbelastung des Insektizids, zeigen sich gravierende Effekte auf die Chaoborus-Population durch eine gleichzeitige Belastung der Testsysteme mit dem Herbizid C. Direkt nach der Applikation dieser PSM-Mischung sinken die Individuenzahlen von *Chaoborus crystallinus* rapide auf 0 Individuen/Probe. Die vollständige Auslöschung der Art hält über einen Zeitraum von 12 Wochen hinweg in allen belasteten Kompartimenten an

(Effektklassen 5A und 5B). Nur für die niedrigste Konzentrationsstufe Z1 (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) lässt sich gegen Ende der Studie eine Erholung der Art belegen (Effektklasse 5A).

Die Intensität dieser synergistischen Effekte der PSM-Mischung auf *Chaoborus crystallinus* ist insofern verwunderlich, da für eine Einzelbelastung des Insektizidwirkstoffs deutliche Langzeiteffekte, sowohl in der Mesokosmenstudie I dieser Arbeit, als auch in weiteren ökotoxikologischen Studien (*SPIEGEL 2010, ROESSINK ET AL. 2005, VAN WIJNGAARDEN 2006, SCHROER ET AL. 2004*) erst ab einer Konzentration von 100 ng a.i./L aufgezeigt werden konnten. Eine direkte toxische Wirkung des Herbizidwirkstoffs Mesotrione kann ausgeschlossen werden, da Effekte der Substanz auf tierische Organismen erst ab einer Konzentration von ca. 50 µg/L (EC<sub>50</sub> *Daphnia magna*, Sicherheitsdatenblatt Callisto®) zu erwarten sind. Aufgrund der beschriebenen Wirkmechanismen (vgl. Pkt. 1.3) beider Substanzen ist davon auszugehen, dass eine synergistische Wirkung nur auf Ebene der kinetischen Prozesse beider PSM-Wirkstoffe auftreten kann. Entscheidend für die Schwere der Effekte des Insektizids ist insbesondere für Organismen des Pelagials, zu denen *Chaoborus crystallinus* zählt (*SWIFT & FORWARD 1988*), die Aufenthaltsdauer des Pyrethroidwirkstoffs Lambda-Cyhalothrin in der Wassersäule. Eine Erklärung für die beobachteten verstärkten, direkten Effekte innerhalb der Kombinationsstudie könnte insofern in einer Verzögerung oder Hemmung der Adsorption des Pyrethroids liegen, welche durch chemische Reaktionen des Herbizidwirkstoffs Mesotrione hervorgerufen werden. Die genaue Ursache der beobachteten synergistischen, direkten Effekte bei zeitgleicher Applikation der PSM KaZ und C auf *Chaoborus crystallinus* kann im Zuge der vorliegenden Arbeit jedoch nicht vollständig aufgeklärt werden. Um diese Hypothese zu stützen sind weitere rückstandsanalytische Untersuchungen von Nöten, welche für die vorliegende Kombinationsstudie rückwirkend nicht vorliegen.

Die verzögerten Wiederbesiedelungszeiten innerhalb der niedrigsten Konzentrationsstufe (10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C), sowie das Ausbleiben einer Erholung der Chaoboridae in allen weiteren Konzentrationsstufen (ab 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C), ist hingegen auf indirekte, synergistische Effekte der beiden PSM zurückzuführen. Diese Beobachtungen können als weiteres Indiz für eine längere Verweildauer des Insektizidwirkstoffs innerhalb der Wassersäule dienen.

Das Erholungspotential einer Population nach einer PSM-Belastung ist von vielerlei Faktoren abhängig. Die Entwicklung der Art *Chaoborus crystallinus* korreliert mit Temperatur und Lichtverhältnissen der Gewässersysteme (SEVIM 2012). Zudem ist das Angebot an verfügbarer Nahrung ausschlaggebend für die Larvalentwicklung der Chaoboridae (VON ENDE 1982, BÜNS & RATTE 1991). Abhängig von diesen Faktoren ist *Chaoborus crystallinus* als uni- oder bivoltine Art zu beschreiben (eigene Beobachtungen, SEVIM 2012). Eine Wiederbesiedelung der belasteten Testsysteme durch Populationen umliegender Gewässer ist bedingt durch diese saisonalen Schwankungen früher oder später möglich. Die schnelle Adsorption des Insektizidwirkstoffs an organisches Material, sorgt nach LEISTRA ET AL. (2004) drei Tage nach der Applikation für eine Eliminierung des Stoffes von 93,5 – 98,2% aus der Wassersäule. Aufgrund dessen kann davon ausgegangen werden, dass eine Besiedelung von *Chaoborus crystallinus* bereits kurze Zeit nach der Applikation ohne eine toxische Beeinträchtigung möglich ist. Die klimatische Dynamik des jeweiligen Jahres, sowie weitere abiotische Faktoren müssen jedoch bei der Untersuchung des Erholungspotentials berücksichtigt werden.

Innerhalb der vorliegenden Kombinationsstudie (Mesokosmos II) lässt sich anhand der Abundanz der Kontrollenclosures belegen (vgl. Abb. 31), dass auch in diesen unbelasteten Systemen erst ab Tag 85 eine deutliche Zunahme der Abundanzzahlen zu verzeichnen ist. SEVIM (2012) gibt bspw. einen Entwicklungszeitraum für *Chaoborus crystallinus* Populationen des Früh- bis Hochsommers von 40 Tagen an. MAC DONALD (1956) berichtet ebenfalls von einer Entwicklungszeit zwischen 4 – 6 Wochen. Die Chaoboriden-Populationen der zeitgleichen Kombinationsstudie der vorliegenden Arbeit weisen hingegen einen deutlich verlängerten Entwicklungszyklus innerhalb des Untersuchungsjahres auf. Während die niedrigste Konzentrationsstufe Z1 mit einer Applikationsmenge von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C der Entwicklung der Kontrollkompartimente ab Tag 85 folgt (Effektklasse 5A), lässt sich bis zum Ende der Studie ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (Z2 – Z4) keine Erholung für *Chaoborus* verzeichnen (Effektklasse 5B). Aufgrund der Einzelwirkung dürfte die toxikologische Wirkung des Insektizids 12 Wochen nach Applikation nicht mehr ausschlaggebend für die Wiederbesiedelung sein, so dass die ausbleibende Erholung auf die Kombination der beiden PSM zurückzuführen ist. Da *Chaoborus crystallinus* am Ende der Nahrungskette innerhalb der aquatischen Biozönose fischloser Systeme steht (BERENDONK & BONSALL 2002) und demzufolge eine erhebliche



funktionale Rolle innerhalb des Räuber-Beute-Refugiums zukommt, ist sein temporärer Wegfall von großer Bedeutung und kann zu schwerwiegenden Veränderungen des aquatischen Ökosystems führen.

Die  $NOEC_{Chaoborus\ crystallinus}$  liegt unterhalb der getesteten Konzentrationen der Mesokosmenstudie II und kann aufgrund dessen für die zeitgleiche Applikation der beiden PSM nicht ermittelt werden.

Mit einer  $NOEC_{Cloeon\ dipterum}$  von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C decken sich die toxischen Effekte auf *Cloeon dipterum* mit den Erkenntnissen zur Einzelwirkung des Insektizids, so dass für dieses Taxon keine verstärkten Effekte der PSM-Mischung nachgewiesen werden konnten.

Indirekte Effekte in Form einer zeitverzögerten Abundanzzunahme sind indessen für Vertreter der **Planorbidae** in allen Testkonzentrationen zu beobachten. Eine  $NOEC_{Planorbidae}$  ist aufgrund dessen nicht ermittelbar. Jedoch lässt sich erkennen, dass es sich bei den verzeichneten signifikanten Effekten innerhalb der niedrigsten Konzentrationsstufe (Z1, 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) nur um Kurzzeiteffekte (Klasse 2) handelt, während die positiven Effekte in allen weiteren Konzentrationsstufen ausgeprägter sind (Klasse 3). Dieser beobachtete Anstieg der Planorbiden-Population wird durch die direkte toxische Wirkung des Insektizidwirkstoffs auf herbivore Taxa der Makroinvertebraten (beispielsweise *Cloeon dipterum*) und des Zooplanktons hervorgerufen. Dieser indirekte Einfluss von Pyrethroiden auf Vertreter der Gastropoda konnte für diverse weitere Substanzen dieser Klasse festgestellt werden (vgl. DAWO 2005, LOZANO ET AL. 1992, FARMER ET AL. 1995). Aufgrund des Wegfalls dieser Nahrungskonkurrenten kann sich die Population der Planorbidae deutlich vermehren. Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus den physiologischen Eigenschaften der Planorbidae: die Hämolymphe ihrer Vertreter verfügt reichlich über den roten Blutfarbstoff Hämoglobin. Dieser ermöglicht es den Tieren Sauerstoff respiratorisch zu binden. Planorbidae sind aufgrund dieser Eigenschaft in der Lage Gewässer mit niedrigeren Sauerstoffkonzentrationen zu besiedeln. Auf diese Weise können Planorbidae die durch den Herbizid-Effekt hervorgerufenen erniedrigten Sauerstoffkonzentrationen gut kompensieren und sind dadurch gegenüber anderen Grazern begünstigt (CALOW 1975).

Zooplanktongesellschaft (II)

Direkte toxische Effekte beeinflussen auch die Gesellschaft des Zooplanktons. Langfristige Auswirkungen treten ab einer Mischungskonzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C auf, welche weit über 8 Wochen hinweg andauern (Klasse 5 B). Leichte Kurzzeiteffekte der Klasse 2 sind bei einer Konzentration von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C zu verzeichnen. Diese erfassten Effekte lassen sich durch ihre klare Dosis-Wirkungsbeziehung eindeutig der Insektizidkomponente zuordnen. Erwartungsgemäß wirkt sich der Einsatz des Pyrethroids Lambda-Cyhalothrin sowohl auf die Biodiversität der Testsysteme, welche ab einer KaZ-Belastung von 50 ng a.i./L ab Tag 8 deutlich, bis zum Ende der Studie anhaltend abnimmt, als auch auf einzelne Taxa der Zooplanktongesellschaft aus. Die  $NOEC_{Community}$  der Zooplanktongesellschaft liegt aufgrund dieser Beobachtungen unterhalb der niedrigsten Konzentrationsstufe. Für eine Einzelbelastung des Insektizids liegt die  $NOEC_{Community}$  der Zooplanktongesellschaft bei 10 ng a.i./L (GIDDINGS ET AL. 2009) bzw. 25 ng a.i./L KaZ (ROESSINK ET AL. 2005). Die ermittelte  $NEC_{Zooplankton}$  der Mesokosmenstudie I von 143,8 ng a.i./L KaZ liegt weit über diesen Konzentrationen. Dies zeigt deutlich, dass auch die Gesellschaft des Zooplanktons im Vergleich zur Einzelbelastung des Insektizids verstärkte Effekte bei zeitgleicher Applikation beider PSM zu verzeichnen hat. Jedoch schwankt die Stärke der Effekte auf die Zooplanktongesellschaft bereits nach alleiniger Applikation des Insektizids stark, wie die angeführten Beispiele belegen.

Hauptsächlich werden die Effekte auf die Zooplanktongesellschaft durch die sensitiven Taxa der Copepoda dargestellt. Wie bereits für die Einzelbelastung des Insektizids aufzuzeigen war, sind Individuen der **Cyclopoida** die empfindlichsten Vertreter der Gesellschaft gegenüber der Insektizidkomponente. Toxische Effekte treten für diese Population bereits in der niedrigsten Konzentrationsstufe (Z1) auf. Während diese noch zur Kategorie der sporadisch auftretenden Kurzzeiteffekte (Klasse 2) gezählt werden können, sind deutliche Effekte bei 50 und 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (Klasse 3) bis hin zu deutlichen Langzeiteffekten der Klasse 5A für 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C zu verzeichnen. Juvenile Stadien der Copepoda werden durch eine Pyrethroidbelastung stärker beeinträchtigt als ihre Copepodit- und Adultstadien (MEDINA ET AL. 2004). Der Carapax, welcher den letzt genannten Stadien als natürliche Schutzbarriere dient, ist für die jüngsten Stadien, welche unter dem Taxon **Nauplia** zusammengefasst sind noch, unvollständig ausgebildet. Aufgrund dessen sind juvenile Stadien der Copepoda der Wirkung eines PSM Eintrags deutlich stärker

ausgesetzt (HUTCHISON ET AL. 1998). Dies bestätigt sich in den Beobachtungen der Mesokosmenstudie II: Toxische Effekte auf die Copepoden-Larve Nauplia fallen bereits ab einer PSM-Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C mit Langzeiteffekten der Klasse 5A stärker aus als die Abundanzrückgänge der älteren Cyclopoida-Stadien. Gegen Ende der Studie lassen sich des Weiteren indirekte Effekte für alle Stadien der Cyclopoida in Form einer signifikanten Abundanzzunahme in der höchsten Konzentrationsstufe (Z4) feststellen. Eine NOEC konnte für die Taxa Cyclopoida und Nauplia nicht ermittelt werden, da diese jeweils unterhalb der getesteten Mischungskonzentrationen liegt.

Für die Gruppe der **Cladocera** treten in der Population der *Alona affinis* toxische Effekte aufgrund der PSM-Mischung auf. Mit einer NOEC von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C sind für *Alona affinis* ab einer Insektizidkonzentration von 50 ng ai./L KaZ Abundanzrückgänge zu verzeichnen. Diese Auswirkungen auf die Populationsdynamik steigen mit ansteigender Insektizidkomponente, so dass der Einfluss des Pyrethroids innerhalb der Mischung für die auftretenden toxischen Effekte verantwortlich ist. Deutliche Kurzzeiteffekte (Klasse 3) treten für KaZ-Konzentrationen von 50 und 100 ng a.i./L auf, während bei einer Belastung von 250 ng a.i./L mit Langzeiteffekten (Klasse 5A) zu rechnen ist.

Indirekte Effekte auf Taxa der Cladocera und Rotifera konnten innerhalb der Mesokosmenstudie II bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM nicht festgestellt werden, wengleich diese für die Einzelbelastung des Insektizids ab einer Konzentration von 100 ng a.i./L KaZ nachgewiesen wurden (vgl. Pkt. 4.1.1).

### Makrophyten (II)

Die Schadwirkung des Herbizid-Wirkstoffs Mesotrione konnte anhand der Blattmetamorphosen in allen belasteten Kompartimenten nachgewiesen werden. Diese traten zwei bis drei Wochen nach Applikation der PSM-Mischung, insbesondere für die submerse Art *Potamogeton natans*, in Form von Chlorosen auf. Aufgrund seiner Schwimmblätter, welche starker Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind, ist *Potamogeton natans* gegenüber emersen Makrophytenarten vermehrt auf seine intakten Lichtschutzmechanismen angewiesen (POTT & REMY 2000). Durch den direkten Angriff des Herbizidwirkstoffs Mesotrione auf die Carotinoidbiosynthese werden diese Schutzmechanismen der Pflanzen zerstört. Aufgrund der

beschriebenen Eigenschaften der Gattung fallen die Effekte durch Mesotrione für Potamogeton am deutlichsten aus. Veränderungen der Morphologie ließen sich jedoch auch in allen belasteten Testkompartimenten für *Myriophyllum spicatum* und *Elodea canadensis* nachweisen. Die Verfärbungen der Blattoorgane dieser Arten traten im Vergleich zu *P. natans* wesentlich unscheinbarer auf und konnten nur sporadisch beobachtet werden.

### Phytoplanktongesellschaft (II)

Im Vergleich zur Phytoplanktongesellschaft gelten Vertreter der Makrophyten als deutlich sensibler gegenüber dem Herbizidwirkstoff Mesotrione (CEDERGREEN & STREIBIG 2005). CEDERGREEN & STREIBIG (2005) ermittelten EC<sub>10</sub>-Werte von 6.8 µg/L Mesotrione für Lemna, während die Algentoxizität des PSM-Wirkstoffs mit EC<sub>10</sub>-Werten von 977 µg/L deutlich höher liegt. Basierend auf diesen Werten ist bei einer Einzelbelastung von 50 µg/L Mesotrione nicht mit einer akuten Toxizität auf Phytoplankton-Taxa zu rechnen. Des Weiteren wird dies durch die Beobachtungen von PETERS (IN PREP.) bestätigt, welche eine NOEC von 5 mg/L für die Phytoplanktongesellschaft eines Mesokosmos angibt.

Die Ergebnisse der Studie zur zeitgleichen Kombinationsbelastung des Herbizids C mit dem Insektizid KaZ (II) bestätigen diese Erwartungen. Für die Phytoplanktongesellschaft lassen sich keine signifikanten, toxischen Effekte erfassen.

Die Kombinationswirkung zeigt sich jedoch in Form indirekter Effekte in Form eines Anstiegs der Gesamtabundanz ab Tag 15. Dieser spiegelt den Profit der Phytoplanktongesellschaft aufgrund der Kombinationsbelastung wider. Er resultiert zum einen aus dem Rückgang der Fraßfeinde: Insbesondere *Cloeon dipterum*, als auch herbivore Cladocera wie *Alona nana* werden durch die Wirkung des Insektizids stark dezimiert. Zum anderen unterliegt die Gesellschaft des Phytoplanktons im Anschluss an die Herbizidapplikation einer geringeren Nährstoffkonkurrenz, da diese sich schädigend auf die Makrophytengesellschaft auswirkt. Der verzeichnete Anstieg der Abundanz als sekundärer Effekt betrifft insbesondere die Stämme Heterokontophyta und Cyanophyta. Mit ihren kurzen Generationszyklen sind sie schnell in der Lage die gesteigerte Nährstoffverfügbarkeit zu nutzen, um ihren Anteil an der Biomasse der Phytoplanktongesellschaft auszubauen.

Signifikante sekundäre Effekte in Form eines Abundanzrückgangs treten nur für Vertreter der **Cryptophyta**, ab einer Konzentration von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C ( $\text{NOEC}_{\text{Cryptophyta}}$  100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C) auf. Dieser geht mit dem Anstieg der Heterokontophyta und Cyanophyta einher, so dass in diesem Fall von einer direkten Nährstoffkonkurrenz dieser zum Nachteil der Cryptophyta ausgegangen werden kann.

Indirekte Effekte aufgrund einer kombinierten Belastung der beiden PSM KaZ und C wurden durch *JANZ (2012)* ebenfalls bestätigt. Mit einer  $\text{NOEC}_{\text{Phytoplankton}}$  von 100 ng a.i./L KaZ + 10 µg a.i./L C vielen diese hingegen deutlich stärker als in der vorliegende Studie (II) aus.

#### 4.2.2 RISIKOMANAGEMENT (II)

Aufgrund der massiven Schädigung der Chaoboriden-Population bei zeitgleicher Applikation der beiden untersuchten Pflanzenschutzmittel, kann für dieses Szenario weder eine NOEAEC noch eine RAC abgeleitet werden. Bereits in der niedrigsten Konzentrationsstufe (Z1) mit einer Belastung von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C treten für die Larven der Büschelmücke *Chaoborus crystallinus* Effekte der Klasse 5B auf.



### **4.3 MESOKOSMOS III**

#### **KOMBINATIONSBELASTUNG BEI VERSETZTER APPLIKATION**

##### **4.3.1 BEWERTUNG DER ERGEBNISSE (III)**

###### Wasserqualität (III)

Der Einfluss der Chemikalienmischung auf die belasteten Testsysteme bei zeitversetzter Applikation der beiden Pflanzenschutzmittel entspricht größtenteils den Beobachtungen der Mesokosmenstudie II zur zeitgleichen Applikation. Zwei Wochen nach der Herbizidapplikation lassen sich erste Effekte im Bereich der physikalischen Parameter detektieren. Wenngleich diese nicht signifikant sind, zeigen sie sich zunächst in einem starken Abfall der PRC-Kurven (Abb. 50). Aufgrund der einheitlichen Applikationsmenge von 50 µg a.i./L C fallen diese Effekte in allen belasteten Enclosures ähnlich aus. Diese Beobachtungen spiegeln sich in den species scores der PRC, sowie in den einzelnen Entwicklungsverläufen der physikalischen Parameter wider. Die erfassten Effekte auf die physikalischen Parameter Sauerstoff, pH und Leitfähigkeit gehen mit dem Eintreten der toxischen Effekte des Herbizids auf die Gesellschaft der Makrophyten einher. Zwei bis drei Wochen nach Applikation des Herbizids C zeigen sich die Effekte des Wirkstoffes Mesotrione in allen belasteten Kompartimenten. Diese treten in Form deutlicher morphologischer Veränderungen der Makrophytengesellschaft auf. Sie wirken sich direkt auf die erwähnten physikalischen Parameter aus. Die Schädigung der pflanzlichen Biomasse hat einen Rückgang der Photosyntheseleistung der pflanzlichen Organismen zur Folge, welcher direkt über die Messung der Sauerstoffkonzentrationen innerhalb der Testsysteme zu erfassen ist. Im vorliegenden Fall konnte nach Applikation des Herbizids in allen Belastungsstufen ein Abfall der Sauerstoffkonzentrationen verzeichnet werden. Auch eine Erniedrigung der gemessenen pH-Werte lässt sich ab Tag 20, noch vor der Insektizidapplikation zeigen. Diese Effekte beruhen ausschließlich auf der Herbizidkomponente der PSM-Mischung. Der signifikante Anstieg der Leitfähigkeit ab Tag 49 ist ebenfalls auf diese Wirkung des Herbizids zurückzuführen und spiegelt die ablaufenden Zersetzungsprozesse abgestorbener Pflanzenmaterialien wider.

Die Auswirkungen der PSM-Mischung auf chemische Parameter der Wasserqualität treten weniger deutlich zum Vorschein: signifikante Veränderungen aufgrund der Chemikalienmischung lassen sich nicht nachweisen, wenngleich sich für die gemessenen Konzentrationen des Ammoniums ab einer Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C ansteigende Tendenzen zeigen.

### Makroinvertebratengesellschaft (III)

Für die Makroinvertebratengesellschaft können keinerlei Auswirkungen aufgrund der Herbizidbelastung an Tag 0 festgestellt werden. Erst aufgrund der zusätzlichen Applikation des Insektizids an Tag 21 wird ein toxischer Einfluss der PSM auf die Taxa der Gesellschaft sichtbar. Vergleichbar mit der Einzelwirkung des Insektizids KaZ können bereits 24h nach dessen Applikation Effekte auf Gesellschaftsebene festgestellt werden. Diese zeigen sich bereits deutlich auf Gesellschaftsniveau, so dass die NOEC der Makroinvertebratengesellschaft der niedrigsten Konzentrationsstufe V1 mit 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C entspricht. Innerhalb der Makroinvertebratengesellschaft treten die Taxa *Chaoborus crystallinus* und *Plea leachi* als empfindlichste Organismen gegenüber der zeitversetzt kombinierten PSM-Mischung auf. Die NOEC beider Arten beträgt entsprechend der Makroinvertebratengesellschaft 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C.

Für die Büschelmückenlarve *Chaoborus crystallinus* zeigen sich kurzzeitige Effekte für eine kombinierte Konzentration von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (Effektklasse 2), deutliche Effekte über einen Zeitraum von drei Wochen hinweg treten innerhalb der Enclosures der Belastungsstufen V3 und V4 mit 75 bzw. 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C (Klasse 3) auf. Langzeiteffekte (Klasse 5B) sind ab einer Konzentration von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C zu belegen. Aufgrund der Schlüsselfunktion der Art als Topprädator in fischlosen aquatischen Systemen muss ab dieser Konzentrationsstufe mit schwerwiegenden Auswirkungen auf das aquatische Ökosystem gerechnet werden. Die Beeinträchtigung der natürlichen Strukturen und Funktionen der betroffenen Ökosysteme können aufgrund dessen zu einer langfristigen Verschiebung des Artgefüges führen, so dass die Erhaltung des natürlichen Zustands im Sinne des Umweltschutzes nicht mehr gegeben ist. Die ermittelte NOEC für *Chaoborus crystallinus* liegt mit 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C im Bereich der



berichteten NOEC für eine Einzelbelastung des Insektizids von  $\leq 10$  ng a.i./L KaZ in der Literatur (ROESSINK ET AL. 2005, SCHROER ET AL. 2004, VAN WIJNGAARDEN ET AL. 2006). Verglichen mit den ermittelten Effekten auf die Art *Chaoborus crystallinus* bei zeitgleicher Belastung der Testsysteme mit beiden PSM (II), reagiert *Chaoborus* bei versetzter Anwendung der PSM-Mischung deutlich weniger sensitiv. Dies deutet darauf hin, dass insbesondere für diese Schlüsselart aquatischer Systeme der Applikationszeitpunkt der Mischungs-Komponenten entscheidend ist.

*Plea leachi*, der Zwergrückenschwimmer lebt vorwiegend an der Gewässeroberfläche und ist aufgrund dieser Lebensweise (SCHWAB 2006) einer PSM-Belastung gegenüber deutlich exponiert. Aufgrund seiner geringen Abundanzzahlen innerhalb ökotoxikologischer Testsysteme ist ein Nachweis toxischer Beeinträchtigungen aufgrund von Umweltchemikalien für diese Art schwierig nachweisbar. Des Weiteren sind die Individuen dieser Art bedingt flugfähig (SCHWAB 2006), so dass eine Fluktuation der Tiere zwischen den einzelnen Enclosures als auch den umliegenden Ponds möglich ist. Trotz dieser Problematik kann *Plea leachi* innerhalb der zeitversetzten Kombinationsstudie als empfindlicher Organismus festgehalten werden. Bereits ab Konzentrationen von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C treten ausgeprägte Effekte (Klasse 3) in Form von Abundanzrückgängen auf. Ein toxischer Einfluss des Insektizid-Wirkstoffs Lambda-Cyhalothrin lässt sich anhand langanhaltender Effekte (Klasse 5B) ab einer Konzentration von 75 ng a.i./L KaZ belegen.

### Zooplanktongesellschaft (III)

Die Zooplanktongesellschaft der Testsysteme wird durch die PSM-Mischung sowohl indirekt als auch direkt beeinflusst. Effekte durch die alleinige Herbizidapplikation an Tag 0 lassen sich nicht feststellen. Erst nach der Applikation des Insektizids an Tag 21 zeigen sich Effekte auf die Gesellschaftsstruktur. Ausgeprägte Effekte treten mit ansteigenden Konzentrationen der Insektizidkomponente, insbesondere in der höchsten Konzentrationsstufe mit einer Applikationsmenge von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C auf. Mit einer NOEC von 75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C ist die Zooplanktongesellschaft dieser Mesokosmenstudie (III) deutlich weniger empfindlich als die Gesellschaft des Zooplanktons der Studie bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM (Mesokosmos II, vgl. Pkt. 4.2.1). Während sich die

Beobachtungen der PRC auch in der Vielfalt der Zooplanktontaxa niederschlagen, lässt sich in Bezug auf die Gesamtabundanz keine dosisabhängige Effektstärke erkennen.

Positive indirekte Effekte des Insektizids auf Taxa der Rotifera, insbesondere *Polyarthra sp.* und *Keratella sp.* sind für die Zunahme der Gesamtabundanz maßgeblich verantwortlich. Signifikante Effekte treten für beide Taxa nur in der höchsten Konzentrationsstufe (V5) auf. Eine NOEC konnte nur für *Keratella sp.* ermittelt werden. Diese liegt bei 100 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C und entspricht der NOEC der Rotatorie *Polyarthra sp.* der Einzelbelastungsstudie des Insektizids (Mesokosmos I). Direkte toxische Effekte treten auch bei zeitversetzter Applikation der beiden PSM auf Vertreter der Copepoda und Cladocera auf. Ähnlich der Beobachtungen zur Einzelwirkung des Insektizids KaZ zeigen sich die Vertreter der **Cyclopoida** mit einer NOEC von 50 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C sensitiver als Vertreter der **Calanoida** (NOEC<sub>Calanoida</sub> 75 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C). Während die Effekte, insbesondere in Bezug auf eine deutlich verzögerte Recovery bei zeitgleicher Applikation gegenüber der Einzelbelastung von KaZ deutlich verstärkt sind, gleichen die Copepodit- und Adultstadien bei versetzter Applikation denjenigen der Einzelbelastung des Insektizids (NEC<sub>Calanoida</sub> = 76,1 ng a.i./L) bzw. liegen deutlich höher (NEC<sub>Cyclopoida</sub> = 10,7 ng a.i./L). Obgleich eine verzögerte Recovery zu verzeichnen ist, tritt eine Erholung der Populationen jedoch innerhalb kurzer Zeit ein.

Die NOEC der Copepodenlarven **Nauplia** lässt sich hingegen nicht ermitteln, da diese deutlich sensitiver reagiert und unterhalb der getesteten Konzentrationen liegt. Deutliche Kurzzeiteffekte treten für die Larvalpopulation innerhalb der Kompartimente V1-V4 auf (Effektklasse 3). Innerhalb der höchsten Konzentrationsstufe V5 zeigt sich bis zum Ende der Studie keine eintretende Erholung (Effektklasse 5). Für Nauplia lassen sich auf diese Weise verstärkte Effekte aufgrund der kombinierten Anwendung der beiden PSM erfassen, welche jedoch im Vergleich zur zeitgleichen Applikation der PSM geringer ausfallen.

Toxische Effekte auf die Population der Cladocera *Daphnia longispina* mit einer NOEC von 10 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C in den höheren Belastungsstufen (V2 – V5) sind hingegen nur von kurzer Dauer (Effektklasse 2).

### Makrophyten (III)

Die visuell erfassten direkten Effekte auf die Gesellschaft der Makrophyten sind für beide Kombinationsstudien identisch. Auch bei zeitversetzter Applikation der beiden PSM konnten erste Effekte in Form von Blattverfärbungen 2 - 3 Wochen im Anschluss an die Herbizidbelastung detektiert werden (vgl. Pkt. 4.2.1).

### Phytoplanktongesellschaft (III)

Auswirkungen der PSM-Mischung auf die Phytoplanktongesellschaft wurden in Form indirekter Effekte in der höchsten Konzentrationsstufe mit einer Mischungskonzentration von 250 ng a.i./L KaZ + 50 µg a.i./L C verzeichnet. Diese traten zeitversetzt mit der Wirkung des Herbizidwirkstoffs Mesotrione auf die Makrophytengesellschaft vierzehn Tage nach Applikation auf. Der Anstieg des Chlorophyll-Gehalts spiegelt einen Anstieg der Phytoplanktonbiomasse zu diesem Zeitpunkt in den betreffenden belasteten Kompartimenten (V5a und V5b) wider. Dieser ist auf den Rückgang der Nährstoffkonkurrenten zurückzuführen.

### **4.3.2 RISIKOMANAGEMENT (III)**

Aus den Ergebnissen der Kombinationsbelastung bei versetzter Applikation lässt sich eine **NOEAEC<sub>Insektizid</sub>** (no observed environmental adverse effect concentration) basierend auf der Effektklasse 3 von **50 ng a.i./L KaZ** für die Insektizidkomponente ermitteln. Diese basiert auf den empfindlichsten Taxa der Makroinvertebraten- (*Chaoborus crystallinus*, *Plea leachi*) und Zooplanktongesellschaft (*Nauplia*, *Daphnia longispina*). Sie entspricht damit der ermittelten NOEAEC der Einzelbelastungsstudie der Insektizidkomponente KaZ, welche in dieser Studie direkt als RAC (Regulatory Acceptable Concentration) übernommen wurde. In Bezug auf die Insektizidkomponente kann die **NOEAEC<sub>Insektizid</sub>** von **50 ng a.i./L KaZ** ebenfalls ohne weiteren Sicherheitsfaktor als **RAC<sub>Insektizid</sub>** übernommen werden. Die Risikobewertung der Einzelsubstanz Karate® Zeon deckt in diesem Fall auch eine zeitversetzte Applikation im Anschluss an eine Applikation des Herbizids C ab.

Für die Herbizidkomponente C kann aufgrund der langfristigen Schädigung der Makrophytengesellschaft, für welche bis zum Ende der Studie keine Erholung verzeichnet werden konnte (Klasse 5B), keine **NOEAEC<sub>Herbizid</sub>** ermittelt werden.

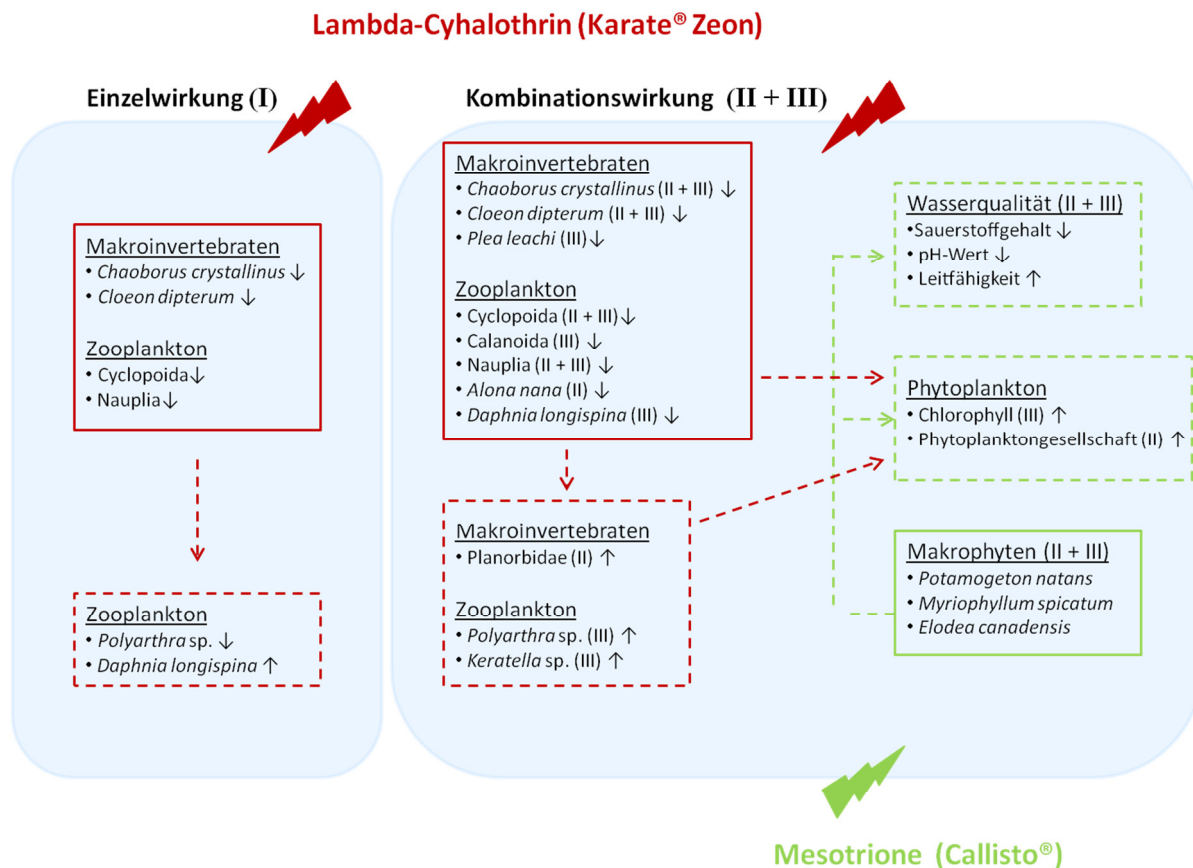
#### 4.4 EXTRAPOLATION DER EFFEKTE DER EINZELSUBSTANZEN AUF KOMBINATIONSEFFEKTE

Aufgrund der Ergebnisse der drei Mesokosmenstudien zur Wirkung des PSM KaZ alleine, sowie in Kombination mit C werden die Möglichkeiten und Grenzen der Extrapolation von Effekten der Einzelsubstanzen auf potentielle Kombinationseffekte deutlich.

Für die kombinierte Anwendung der beiden untersuchten PSM wird eine unabhängige Wirkung erwartet, da sie aufgrund ihrer Wirkmechanismen auf unterschiedliche Zielorganismen und Angriffspunkte abzielen. Um die erfassten signifikanten Effekte der drei Mesokosmenstudien zu vergleichen, wurden diese in Form einer grafischen Übersicht dargestellt (Abb. 74).

Deren Betrachtung zeigt deutlich, dass das Insektizid KaZ nach alleiniger Applikation (I) die aquatische Biozönose über das Ende der Nahrungskette (top down) reguliert (LAMPERT & SOMMER 1999). Sein Angriff auf den Sekundärkonsumenten und Topprädator *Chaoborus crystallinus* wirkt sich indirekt auf Vertreter des Zooplanktons, wie *Polyarthra* sp. und *Daphnia longispina* aus. Ferner treten direkte Effekte auf weitere Makroinvertebraten (*Cloeon dipterum*) und Zooplanktontaxa (Cyclopoida, Nauplia) auf.

Der direkte Angriffspunkt des Herbizids C auf Vertreter der Primärproduzenten, insbesondere Makrophyten liegt im Anwendungsfeld dieses Produktes begründet und konnte in weiteren ökotoxikologischen Testverfahren bestätigt werden (CEDERGREEN & STREIBIG 2005, JANZ 2012). Mesotrione, als Wirkstoff des Herbizids greift somit am Anfang der Nahrungskaskade an und beeinflusst auf diese Weise die aquatische Biozönose durch eine Limitierung des Nährstoffangebots (bottom up) (LAMPERT & SOMMER 1999).



**Abb. 74:** Darstellung der signifikanten Effekte der Mesokosmenstudien zur Einzelwirkung (I) des Insektizids Karate® Zeon und der Kombinationswirkung mit dem Herbizid Callisto® bei zeitgleicher (II) und versetzter (III) Applikation beider PSM. Durchgezogene Linien/Rahmen stellen direkte toxische Effekte dar. Gestrichelte Linien/Rahmen zeigen indirekte Effekte der PSM auf. Gestrichelte Pfeile stellen den Einfluss der direkten Effekte auf die indirekten Effekte dar.

Trophische Ebenen, bis hin zu einzelnen Taxa, welche direkt durch die Applikation der beiden PSM betroffen sind, können somit sehr gut aus der Kenntnis der jeweiligen Einzeltoxizitäten abgeleitet werden.

Eine derartige Einschätzung von Kombinationswirkungen stößt jedoch bereits bei dem Versuch der Vorhersage des Ausmaßes eintretender Kombinationseffekte an ihre Grenzen.

Zum einen lassen sich Effektstärken für einzelne Organismengruppen nur spärlich einschätzen: beide Mesokosmenstudien zur Kombinationswirkung der PSM KaZ und C nach zeitgleicher (II) bzw. zeitversetzter Applikation (III) zeigen höhere Toxizitätswerte für sensitive Taxa, wie *Chaoborus crystallinus*, *Cloeon dipterum* oder Cyclopoida und Nauplia an. Zum anderen decken beide Kombinationsstudien eine deutliche, zum Teil schwerwiegende Verzögerung des Erholungspotentials der betroffenen Arten gegenüber der Einzelwirkung der PSM auf.

Indirekte Effekte lassen sich ebenfalls nur marginal aus dem Wissen der Einzelwirkungen prophezeien. Auftretende indirekte Effekte wurden durch die Wechselwirkungen der Vertreter der einzelnen Hauptgruppen der aquatischen Biozönose zum Teil verstärkt.

Dies führt zu dem Schluss, dass sich eine Vorhersage auftretender Kombinationseffekte aufgrund der Kenntnis der Einzelwirkung der Substanzen und der spezifischen Interaktionen des natürlichen Ökosystems nur bedingt treffen lässt.

Angriffspunkte und sensitive Taxa können durch die Kenntnis der Einzelwirkungen identifiziert werden. Komplexere biologische Vorgänge, wie das Erholungspotential der betroffenen Arten, oder indirekte Effekte aufgrund des Beziehungsgefüges lassen sich hingegen nicht 1:1 durch die Einzeltoxizität der PSM auf eine kombinierte Anwendung übertragen.

#### **4.5 ZEITGLEICHE VS. VERSETZTE KOMBINATIONSBELASTUNG**

Die Ergebnisse der Mesokosmenstudien II und III decken des Weiteren gravierende Unterschiede zwischen zeitgleicher (II) und zeitversetzter (III) Applikation der beiden PSM auf.

Während die Ergebnisse bei zeitversetzter Applikation weitestgehend mit der Einzeltoxizität des Insektizids auf Primär- und Sekundärkonsumenten vergleichbar ist, treten bei zeitgleicher Applikation deutlich verstärkte, langanhaltende toxische Effekte auf. Diese betreffen insbesondere den Topprädator der Testsysteme, *Chaoborus crystallinus*, dessen Empfindlichkeit gegenüber PSM mehrfach belegt wurde (BROCK ET AL. 2000A, GRÜNWALD 2003, DAWO 2005). Die Ursache der auftretenden synergistischen Effekte bei zeitgleicher Applikation der beiden PSM kann im Zuge der vorliegenden Studie nur vermutet werden. Aus weiteren ökotoxikologischen Kombinationsstudien von PSM ist bekannt, dass synergistische Effekte auf toxikokinetischer Ebene auftreten können. Eine Erklärung der synergistischen Effekte stellen somit chemische Wechselwirkungen der beiden PSM-Wirkstoffe dar, welche sich in Form einer verzögerten Adsorption des Insektizid-Wirkstoffs Lambda-Cyhalothrin, aufgrund der Anwesenheit des Herbizid-Wirkstoffs Mesotrione zeigen. Die daraus resultierende längere Bioverfügbarkeit des Insektizids, insbesondere für pelagische Organismen, zu denen auch *Chaoborus crystallinus* zählt, führt zu einer erhöhten Toxizität

des PSM. Einzeln appliziert hingegen nimmt die Konzentration von Lambda-Cyhalothrin aufgrund seiner hohen Adsorptionsfähigkeit in der Wassersäule schnell ab. Dies müsste jedoch in weiteren Fate-Studien belegt werden, zumal aufgrund fehlender analytischen Messdaten sich nicht ausschließen lässt, dass die nominalen PSM-Konzentrationen der Mesokosmenstudie II nicht genau mit den berechneten Konzentrationen übereinstimmen. Dieser Umstand muss bei der Interpretation der Daten berücksichtigt werden.

Des Weiteren wird die Bioverfügbarkeit des Insektizidwirkstoffes durch den Anteil der Makrophyten-Biomasse beeinflusst. Makrophyten-dominierte Systeme weisen einen deutlich schnelleren Abbau des Insektizids KaZ auf, als vergleichbare Teichsysteme mit geringerem Makrophytenbestand (*ROESSINK ET AL. 2005*). So kann davon ausgegangen werden, dass sich die Schädigung der Makrophytengesellschaft durch den Einsatz des Herbizids C indirekt auf die Bioverfügbarkeit des Insektizids KaZ auswirkt.



## 5 FAZIT

Die vorliegenden Daten zur aquatischen Ökotoxizität einer kombinierten Anwendung der PSM Karate® Zeon (Insektizid) und Callisto® (Herbizid) zeigen deutliche Risiken einer PSM-Mischung für die Umwelt auf. Sie lassen den Schluss zu, dass das Risikomanagement basierend auf der Einzelwirkung der Substanzen nicht protektiv für alle Anwendungsszenarien einer kombinierten PSM-Belastung ist. Im Falle einer Mischung der PSM KaZ und C ist das aufgrund der Einzelwirkung des Insektizids getroffene Risikomanagement bspw. nur für eine zeitversetzte Anwendung ausreichend.

Treffen beide PSM jedoch zeitgleich aufeinander, treten deutlich höhere, synergistische Effekte auf die aquatische Biozönose auf.

Sie bestätigen die Notwendigkeit eines geeigneten Risikomanagement für derartige Mischungen. Insbesondere der Umstand, dass verschiedene Anwendungsszenarien (zeitgleiche vs. zeitversetzter Kombinationsbelastung) unterschiedliche Effekte hervorrufen, untermauert die Komplexität der Thematik.

Innerhalb der derzeitigen Zulassungsverfahren wird dieses aufgedeckte Gefährdungspotential durch eine kombinierte Anwendung von PSM nicht berücksichtigt. Um langfristig gangbare Richtlinien zum Umgang mit solchen PSM-Mischungen zu schaffen sind weitere Schritte in der Forschung und Entwicklung nötig.

Zunächst ist es jedoch sinnvoll, bestehende Umwelt- und Biomonitoringdaten von Gewässersystemen im Hinblick auf ihre multiple PSM-Belastung zu analysieren. Hierbei sind insbesondere Gewässer in der Nähe intensiv bewirtschafteter Agrarflächen von primärem Interesse. Eine Erhebung weiterer Freilanddaten unter dem Aspekt potentieller Kombinationsbelastungen, wäre an diesen Standpunkten von Vorteil. Mit Hilfe solcher Daten sollte es zum einen möglich sein, häufige PSM-Kombinationen zu ermitteln und zum anderen die tatsächlichen Effekte auf die Biozönose in betroffenen Gebieten zu beschreiben. Des Weiteren liefern derartige Datenerhebungen weitere Grundlagen für das derzeitige Bestreben, Kombinationswirkungen in Form anwendungsrelevanter Biotests in die Zulassungsverfahren zu integrieren.

Zur weiteren Identifikation von Kombinationsmechanismen sollten weitere empirische Studien durchgeführt werden, als auch die Forschung und Entwicklung praxisrelevanter Biotests vorangetrieben werden. Insbesondere innerhalb der unterschiedlichsten Testverfahren (Lower- bis Higher-Tier), lassen sich auf diese Weise bereits beschriebene Kombinationseffekte weiter erforschen und auf ihre Reproduzierbarkeit hin überprüfen.

Ein zukunftsorientiertes Risikomanagement zum Umgang mit PSM-Mischungen könnte auf diese Weise langfristig Formen annehmen.

Bis dahin scheint es durchaus angebracht, sensitive Organismen in weniger aufwendigen Lower-Tier-Testverfahren innerhalb der PSM-Regulierung, auch in Form gängiger Mischungen zu berücksichtigen. Insbesondere PSM, welche eine große Aufwand- und Absatzmenge aufweisen, sollten bei dieser Auswahl im Fokus stehen.

## **DANKSAGUNG**

An dieser Stelle danke ich allen, die mich während der Zeit meiner Dissertation begleitet und in vielfältiger Weise, sowohl beruflich als auch privat unterstützt haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Wilfried Huber, der es mir ermöglichte auf seiner langjährigen Mesokosmos-Freilandanlage zum letzten Mal ein Dissertationsthema zu bearbeiten.

Vielen Dank an Herrn Prof. Hermann Mattes für die Einbindung meiner Arbeit in die AG Biozönologie, sowie die fachlichen Anregungen zu meiner Dissertation.

Herrn Prof. Klaus Peter Ebke danke ich herzlich für die Aufnahme in sein Team, sowie für sein Engagement und seine Unterstützung in zahlreichen, fachlichen Diskussionen.

Ebenso möchte ich mich herzlich bei Dr. Ursula Dawo bedanken. Sie hat durch ihr Engagement mein Interesse für die aquatische Ökotoxikologie geweckt und stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite. Britta Riedel-Löschenbrand und Sabine Eser danke ich für Ihre Mithilfe im Zuge ihrer Diplomarbeiten. Vielen Dank auch an alle weiteren Mitarbeiter des Fachgebietes für Ökotoxikologie: Dr. Franz-Joachim Zieris, Maria Asbeck, Magdalena Schmidt, Mona Feiner und Karla Peters.

Dem Team der Mesocosm GmbH: Prof. Dr. Klaus Peter und Marlene Ebke, Friederike Breuer, Ayla Delibas, Dr. László Dören, Sigrid Geiss, Philipp Janz und Petra Stegger danke ich für das tolle Arbeitsklima, die fachlichen Diskussionen und die moralische Unterstützung, insbesondere in den letzten Zügen meiner Arbeit.

Meinen Freunden danke ich dafür, dass sie mir des Öfteren „den Rücken frei gehalten haben“ und sich nicht davor scheuten, ab und an in „die fremde Welt“ der Biologie einzutauchen.

Von ganzem Herzen möchte ich meinen Eltern danken, sie haben mich auf meinem Weg in vielerlei Hinsicht unterstützt und immer an mich geglaubt.



## QUELLEN

- ALTENBURGER, R., BACKHAUS, T., BOEDEKER, W., FAUST, M., SCHOLZE, M., GRIMME, L.H. (2000):* Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: Mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19(9): 2341-2347.
- AUTENGRUBER (2008):* Die ökotoxikologische Bewertung der Auswirkung einer Herbstapplikation eines Pyrethroids (alpha-Cypermethrin) auf die aquatische Biozönose (mit Schwerpunkt Zooplankton) in einem Freilandmesokosmos. Diplomarbeit, Technische Universität München.
- BACKHAUS, T. & FAUST, M. (2012):* Predictive Environmental Risk Assessment of Chemical Mixtures: A Conceptual Framework. *Environ. Sci. & Technol.*, 46: 2564 – 2573.
- BACKHAUS, T., SCHOLZE, M., GRIMME, L.H. (2000):* The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Aquatic Toxicology*, 49 (1-2): 49-61.
- BANKE NOORGARD, K. & CEDERGREEN, N. (2010):* Pesticide cocktails can interact synergistically on aquatic crustaceans. *Environ. Sci. Pollut. Res*, 17: 957-967.
- BAUER (2010):* Ecotoxicological assessment of the pyrethroid ( $\lambda$ -Cyhalothrin) on aquatic biocenosis in an artificial outdoor pond-system with main focus on zooplankton. Diplomarbeit, Technische Universität München.
- BELDEN J.B., GILLION, R.J., MARTIN, J.D., (2007):* How Well Can We Predict the Toxicity of Pesticide Mixtures to Aquatic Life? *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(3): 364-372.
- BERENDONK, T. U. AND BONSALL, M. B. (2002):* The phantom midge and a comparison of metapopulation structures. *Ecology*, 83: 116–129.
- BERENDONK, T.U. (1999):* Influence of fish kairomones on the ovipositing behavior of *Chaborus imagines*. *Limnology and Oceanography* 44 (2): 454-458.
- BODEMER, U. (2004):* Variability of phycobiliproteins in cyanobacteria detected by delayed fluorescence excitation spectroscopy and its relevance for determination of phytoplankton composition of natural water samples. *Journal of Plankton Research*, 26 (10): 1147-1162.
- BOESTEN, J.J.T.I, KÖPP, H., ADRIAANSE, P.I., BROCK, T.C.M., FORBES, V.E. (2007):* Conceptual model for improving the link between exposure and effects in the aquatic risk assessment of pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66: 291-308.
- BLISS, C.I. (1939):* The toxicity of poisons applied jointly. *Ann. J. Appl. Biol.*, 26: 585-615.

*BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ (BMELV) (2011):* Bericht des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und

Verbraucherschutz zur Sitzung des Staatssekretärausschusses für nachhaltige Entwicklung am 31. Oktober 2011. Berlin.

*BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ*

*(BMELV) (2010):* Broschüre „Pflanzenschutzmittel – sorgfältig geprüft, verantwortungsvoll zugelassen“. Erscheinungsdatum 18.10.2010.

[http://www.bvl.bund.de/DE/08\\_PresseInfothek/04\\_Publikationen/01\\_Broschueren/02\\_Publikat\\_ausgewaehlte\\_Themen/broschuere\\_psm.pdf;jsessionid=427346E5D6B34854A3C98BBE7A2B9CB8.1\\_cid332?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](http://www.bvl.bund.de/DE/08_PresseInfothek/04_Publikationen/01_Broschueren/02_Publikat_ausgewaehlte_Themen/broschuere_psm.pdf;jsessionid=427346E5D6B34854A3C98BBE7A2B9CB8.1_cid332?__blob=publicationFile&v=2)

(abgerufen am 12.12.2012).

*BUNDESAMT FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ UND LEBENSMITTELSICHERHEIT (BVL) (2013):*

[http://www.bvl.bund.de/DE/04\\_Pflanzenschutzmittel/01\\_Aufgaben/03\\_EUWirkstoffpruefung/01\\_rechtliche\\_Regelungen/psm\\_euWirkstoffpruefung\\_rechtl\\_regel\\_node.html](http://www.bvl.bund.de/DE/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/03_EUWirkstoffpruefung/01_rechtliche_Regelungen/psm_euWirkstoffpruefung_rechtl_regel_node.html)

(abgerufen am 20.06.2013)

*BUNDESAMT FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ UND LEBENSMITTELSICHERHEIT (BVL) (2012):*

Absatz an Pflanzenschutzmitteln in der Bundesrepublik Deutschland. Ergebnisse der Meldungen gemäß § 64 des Pflanzenschutzmittelgesetzes für das Jahr 2011.

[http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04\\_Pflanzenschutzmittel/meld\\_par\\_19\\_2011.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=4](http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/meld_par_19_2011.pdf?__blob=publicationFile&v=4) (abgerufen am 19.11.2012).

*BRETSCHKO, G. (1965):* Zur Larvalentwicklung von Cloeon dipterum, Cloeon simile, Centropilum luteolum und Baetis rhodani, Zeitschr. Wiss. Zool. 172: 17 – 36.

*BROCK, T.C.M., ARTS, G.H.P., TEN HULSCHER, T.E.M., DE JONG, F.M.W., LUTTIK, R., ROEX, E.W.M., SMIT, C.E, VAN VLIET, P.J.M. (2012):* Aquatic affect assessment for plant protection products. Alterra Report 2235, ISSN 1566-7197.

*BROCK, T. C. M., LAHR, J., VAN DEN BRINK, P. J. (2000A):* Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems. Part 2: Insecticides. *Alterra-Rapport 089*. Alterra Green World Research, Wageningen, Niederlande.

*BROCK, T. C. M., LAHR, J., VAN DEN BRINK, P. J. (2000B):* Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems. Part 1: Herbicides. *Alterra-Rapport 088*. Alterra Green World Research, Wageningen, Niederlande.

*BÜNS, M. & RATTE, H.T. (1991):* The combined effects of temperature and food consumption on body weight, egg production and developmental time in Chaoborus crystallinus De Geer (Diptera: Chaoboridae). Some new evidence for the adaptive value of vertical migration. *Oecologia* 88: 470-476.

- CALOW, P. (1975): The respiratory strategies of two species of freshwater gastropods (*Ancylus fluviatilis* müll and *Planorbis contortus* linn) in relation to temperature, oxygen concentration, body size and season. *Physiological Zoology*, 48 (2): 114-129.
- CAMPBELL, P.J., ARNOLD, J.S., BROCK, T.C.M., GRANDY, N.J., HEGER, W., HEIMBACH, F., MAUND, S.J., STRELOKE, M. (1999): Guidance document on Higher-tier Aquatic Risk Assessment for Pesticides (HARAP). Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC Europe), Brussels, Belgium.
- CEDERGREEN, N., STREIBIG, J. C. (2005): The toxicity of herbicides to non-target plants and algae: assessment of predictive factors and hazards. *Pest Management Science*, 61(12):1152-1160.
- CHÈVRE, N. & ESCHER, B. (2006): Welches Risiko stellen Pestizide für die Gewässer dar? *Eawag News* 59.
- CRANE, M. & GIDDINGS, J.M. (2004): Risk around the world: "Ecologically Acceptable Concentrations" when assessing the environmental risks of pesticides under European Directive 91/414/EEC. *Human and Ecological Risk Assessment*, 10: 733-747.
- CUPPEN, J.G.M., CRUM, S.J.H., VAN DEN HEUVEL, H.H., SMIDT, R.A., VAN DEN BRINK, P.J. (2002): Effects of a mixture of two Insecticides in freshwater microcosms: I. Fate of Chlorpyrifos and Lindane and responses of macroinvertebrates. *Ecotoxicology*, 11: 165-180.
- DAWO, U. (2005): Die ökotoxikologische Bewertung multipler Pestizideinträge in aquatische Ökosysteme: Der Vergleich einer einmaligen mit einer mehrmaligen Pyrethroidbelastung, Dissertation, Technische Universität München.
- DE JONG, F.M.W., BROCK, T.C.M., FOEKEMA, E.M., LEEUWANGH, P. (2008): Guidance for summarizing and evaluating aquatic micro- and mesocosm studies. RIVM Report 601506009.
- ESER, S. (2010): Erfassung und ökotoxikologische Bewertung der Auswirkungen einer Kombinationsbelastung von Mesotrione und Lambda-Cyhalothrin auf die Zooplankton-Gesellschaft in einem Freiland-Mesokosmos. Diplomarbeit, Technische Universität München.
- ESER, S. (2001): Ecotoxicological investigations of Periphyton communities using HPLC pigment analysis; Dissertation, Technische Universität München.
- EUROPEAN COMMISSION (EU) (2003): Review report for the active substance mesotrione. [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/newactive/list1-20\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/newactive/list1-20_en.pdf) (abgerufen am 01.04.2012)

- EUROPEAN COMMISSION (EU) (2002)*: Working Document. Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC, SANCO/3268/2001 rev.4 (final). [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/guidance/wrkd0c10\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/guidance/wrkd0c10_en.pdf) (abgerufen am 02.04.2012).
- EUROPEAN COMMISSION (EU) (2001)*: Review report for the active substance lambda-cyhalothrin. [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list1-24\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list1-24_en.pdf) (abgerufen am 01.04.2012).
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2013)*: DRAFT Guidance Document on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters, EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR), Parma, Italy. <http://www.efsa.europa.eu/en/consultationsclosed/call/121214.pdf> (abgerufen am 02.01.2013).
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2012)*: Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees) [www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2668.pdf](http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2668.pdf) (abgerufen am 02.01.2013).
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2010)*: Scientific Opinion on the development of specific protection goal options for environmental risk assessment of pesticides, in particular in relation to the revision of the Guidance Documents on Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology (SANCO/3268/2001 and SANCO/10329/2002) EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR). <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1821.pdf> (abgerufen am 20.04.2012).
- ENGELMANN, H.D. (1987)*: Zur Dominanzklassifizierung von Bodenarthropoden. *Pedobiologia* 18: 378-380.
- FARMER, D., HILL, I.R., MAUND, S.J. (1995)*: A comparison of the fate and effects of two pyrethroid insecticides (lambda-cyhalothrin and cypermethrin) in pond mesocosms. *Ecotoxicology*, 4: 219-244.
- FAUST, M., ALTENBURGER, R., BACKHAUS, T., BLANCK, H., BOEDEKER, W., GRAMATICA, P., HAMER, V., SCHOLZE, M., VIGHI, M., GRIMME, L.H. (2003)*: Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquatic Toxicology*, 63: 43-63.
- FAUST, M., ALTENBURGER, R., BACKHAUS, T., BOEDEKER, W., SCHOLZE, M., GRIMME L.H. (2000)*: Predictive assessment of the aquatic toxicity of multiple chemical mixtures. *Journal of Environmental Quality*, 29: 1063-1068.
- FAIRCHILD, J.F., LA POINT, T.W., SCHWARTZ, T.R. (1994)*: Effects of an Herbicide and Insecticide Mixture in Aquatic Mesocosms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 527-533.



- FENT, K. (2007): Ökotoxikologie. 3. Auflage. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- FINIZIO, A., VILLA, S., VIGHI, M. (2005): Predicting pesticide mixtures load in surface waters from a given crop. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 111: 111-118.
- FISCHER, B.B., RÜFENACHT, K., DANNENHAUER, K., WIESENDANGER, M., EGGEN, R.I. (2010): Multiple stressor effects of high light irradiance and photosynthetic herbicides on growth and survival of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Toxicology*, 29 (10): 2211-2219.
- FORUM OF THE CO-ORDINATION OF PESTICIDE FATE MODELS AND THEIR USE (FOCUS) (1997): Surface Water models and EU registration of plant protection products. 24.2.97.
- GEBAUER, S. (2007): Effekte eines Pyrethroids auf verschiedene aquatische Ökosysteme – Ökotoxikologische und genetische Untersuchungen. Dissertation, Technische Universität München.
- GERHARDT, V., BODEMER, U., ECKERT, W. (2005): Determination of phytoplankton colour classes: Online excitation spectroscopy of the delayed fluorescence (DF) of algae. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 29: 306-309.
- GERHARDT, V. & BODEMER, U. (2000): Delayed fluorescence excitation spectroscopy: a method for determining phytoplankton composition. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. Limnol.* 55: 101-119.
- GERHARDT, V. & BODEMER, U. (1998): Delayed fluorescence spectroscopy: a method for automatic determination of phytoplankton composition of freshwaters and sediments (interstitial) and of algae composition of benthos. *Limnologica* 28:313-322.
- GIDDINGS, J.M., BARBER, I., WARREN-HICKS, W. (2009): Comparative aquatic toxicity of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its resolved isomer gamma-cyhalothrin. *Ecotoxicol*, 18: 239-249.
- GIDDINGS, J.M., BROCK, T.C.M., HEGER, W., HEIMBACH, F., MAUND, S.J., NORMAN, S.M., RATTE, H.T., SCHÄFERS, C., STRELOKE, M. (2002): Community level aquatic system studies- Interpretation criteria. Pensacola, Florida, USA: Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC).
- GILBERT, J.J. (1988): Suppression of rotifer populations by *Daphnia*: A review of the evidence, the mechanisms, and the effects on zooplankton community structure. *Limnology Oceanography* 33: 1286-1303.
- GILLIOM R.J. (2007): Pesticides in U.S. streams and groundwater. *Environ Sci Technol.* 41 (10): 3407–3413.

- GLYNNE-JONES 2001: Pyrethrum. Pesticide Outlook 2001. <http://www.researchinformation.co.uk/pest/2001/B108601B.PDF> (abgerufen am 10.01.2013).
- GUTSCHE, V. & ROßBERG, D. (1997): Synops 1.1: a model to assess and to compare the environmental risk potential of active ingredients in plant protection products. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 64 (2): 181-188.
- GRIEDER, C., MITTWEG, G., DHILLON, B.S., MONTES, J.M., ORSINI, E., MELCHINGER, A.E. (2011): Determination of methane fermentation yield and its kinetics by near infrared spectroscopy and chemical composition in maize. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 19 (6): 463-477.
- GRÜNWARD, H. (2003): Effects of a pesticide mixture on plankton freshwater Mesocosms – from single substance studies to combination impacts. Dissertation, Technische Universität München.
- HANSON, M.L. & SOLOMON, K.R. (2002): New technique for estimating thresholds of toxicity in ecological risk assessment. *Environmental Science and Technology* 36, 3257-3264.
- HECKMANN & FRIBERG 2005: Macroinvertebrate community response to pulse exposure with the insecticide lambda-cyhalothrin using in-stream mesocosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 24 (3): 582-590.
- HOAGLAND, K.D., DRENNER, R.W., SMITH, D., CROSS, D.R. (1993): Freshwater community responses to mixtures of agricultural pesticides: Effects of atrazine and bifenthrin. *Environmental Toxicology and Chemistry* 12 (4): 627-637.
- HUTCHISON, T.H., SOLBE, J., KLOPPER-SAMS, P.J. (1998): Analysis of the ecetoc aquatic toxicity (EAT) database III – Comparative toxicity of chemical substances to different life stages of aquatic organisms. *Chemosphere* 36 (1): 129-142.
- JACK, J.D. & GILBERT, J.J. (1994): Effects of *Daphnia* on microzooplankton communities. *Journal of Plankton Research* 16 (11): 1499-1512.
- JANZ, P. (2012): Die ökotoxikologische Bewertung einer Pflanzenschutzmittel-Mischung (Mesotrione + Lambda-Cyhalothrin) in einem aquatischen Freilandmesokosmos. Technische Universität München, Masterarbeit.
- KARABIN, A. (1978): The pressure of pelagic predators of the genus *Mesocyclops* (Copepoda, Crustacea) on small zooplankton. *Ekol. Pol.* 26: 241-257.

- KOLPIN D.W., FURLONG, E.T., MEYER, M.T., THURMAN, E.M., ZAUGG S.D., BARBER, L.B., BUXTON, H.T. (2002):* Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol.* 36: 1202–1211.
- KORTENKAMP, A., BACKHAUS, T., FAUST, M. (2009):* State of the Art Report on Mixture Toxicity. Final Report.  
[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report\\_Mixture%20toxicity.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf)  
(abgerufen am 15.12.2012).
- KUNZ, P., KIENLE, C., JUNGHANS, M., WERNER, I. (2011):* Mischungstoxizität: Bedürfnisse der Praxis, Workshop über Auswirkungen von Chemikalienmischungen und ihre Beurteilung. gwa 3/2011. Oekotoxzentrum Schweizerisches Zentrum für Angewandte Oekotoxikologie Eawag/EPFL. CH-Dübendorf.
- LAIR, N. (1990):* Effects of invertebrate predation on the seasonal succession of a zooplankton community: a two year study in Lake Aydat, France. *Hydrobiologia* 198: 1-12.
- LAMPERT, W. & SOMMER, U. (1999):* Limnoökologie, 2. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- LEYER, I. & WESCHE, K. (2007):* Multivariate Statistik in der Ökologie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- LEISTRA, M., ZWEERS, A.J., WARINTON, J.S., CRUM, S.J., HAND, L.H., BELTMAN W.H., MAUND, S.J.(2004):* Fate of the insecticide lambda-cyhalothrin in ditch enclosures differing in vegetation density. *Pest. Manag. Sci.*60 (1): 75-84.
- LICHTENBERG, R. (1972):* Die Entwicklung einiger charakteristischer Benthosorganismen des „Hallateiches“ südlich von Wien, *Ann. Naturhistor. Mus. Wien*, 77: 305-311.
- LIBER, K., KAUSHICK, K.N., SOLOMON, K.E., CAREY, J.H. (1972):* Experimental design for aquatic mesocosm studies: a comparison of the “anova” and “regression” design for assessing the impact of tetrachlorophenol on zooplankton populations in limnocorrals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11: 61-77.
- LINDNER, K. (2010):* Wird der Effekt einer Pyrethroidbelastung durch ein Fungizid verstärkt? Ökotoxikologische Bewertung einer Tankmischung im Freiland. Bachelorarbeit, Technische Universität München.
- LOEWE, S. & MUISCHNEK, H. (1926):* Über Kombinationswirkungen. 1. Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 114: 313-326.
- LOZANO, S.J., O’HALLORAN, S.L., SARGENT, K.W. (1992):* Effects of esfenvalerate on aquatic organisms in littoral enclosures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11: 35-47.

- MAC DONALD, W.W. (1956):* Observations on the biology and behavior of chaoborids and chironomids in Lake Victoria and on the feeding habits of the elephant-snout fish (*Morymyrus kannume* Forsk), *J. Anim. Ecol.* 25: 36-53.
- MANN, H.B. & WHITNEY, D.R. (1947):* On a test of Whether one or two Random Variables is Stochastically Larger than the other. *The annals of Mathematical Statistics*, Vol. 18 (1): 50-60.
- MAUND, S.J., HAMER, M.J., WARINTON, J.S., KEDWARDS, T.J. (1998):* aquatic ecotoxicology of the pyrethroid insecticide Lambda-cyhalothrin: Considerations for higher-tier aquatic risk assessment. *Pesticide Science*, 54: 408-417.
- MEDINA, M., BARATA, C., TELFER, T., BAIRD, D.J. (2004):* Effects of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58 (2): 236-245.
- NEWBOLD, C. (1979):* Herbicides in aquatic systems. *Biological Conservation* 7 (2): 97-188.
- PAULSSON M, NYSTRÖM, B., BLANCK, H. (2000):* Long term toxicity of zinc to bacteria and algae to periphyton communities from river Göta Älv, based on a microcosm study. *Aquatic Toxicology* 47: 243-257.
- PETERS (IN PREP):* Ökotoxikologische Untersuchungen zur Wirkung des Herbizids Callisto auf aquatische Systeme – einzeln und als Komponente einer Mischung mit einem Insektizid. Dissertation, Technische Universität München.
- PETZOLD, R. (2008):* Begriffe im Pflanzenschutz. aid Infodienst Verbraucherschutz, Ernährung, Landwirtschaft e.V. 1237/2008.
- Pflanzenschutzgesetz (PflSchG) Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen  
[http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/pflschg\\_1986/gesamt.pdf](http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/pflschg_1986/gesamt.pdf)  
 (abgerufen am 02.01.2013)
- POTT, R. & REMY, D. (2000):* Gewässer des Binnenlandes, Ökosysteme des Binnenlandes aus geobotanischer Sicht, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim).
- RELYEA, R.A. (2009):* A cocktail of contaminants: How mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia* 159: 363-376.
- RIEDEL-LÖSCHENBRAND, B. (2010):* Die ökotoxikologische Bewertung der Auswirkung einer Kombinationsbelastung zweier Pestizide (Mesotrione und Lambda-Cyhalothrin) auf die aquatische Biozönose (mit Schwerpunkt Makroinvertebraten) in einem Freiland Mesokosmos. Diplomarbeit, Technische Universität München.

- ROESSINK, I., ARTS, G. H. P., BELGERS, J. D. M., BRANSEN, F., MAUND, S. J., BROCK, T. C. M. (2005): Effects of lambda-cyhalothrin in two ditch microcosm systems of different trophic status. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24:1684-1696.
- SANDMANN, E. (2000): Microhabitat field-studies in a natural lake litoral and different mesocosm systems for an ecotoxicological test with Cypermethrin. Dissertation, Technische Universität München.
- SCHROER, A.F.W., BELGERS, J.D.M., BROCK, T.C.M., MATSER, A.M., MAUND, S.J., VAN DEN BRINK P.J. (2004): Comparison of laboratory single species and field population-level effects of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin on freshwater invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46 (3):324-335.
- SCHWOERBEL, J. (1980): Methoden der Hydrobiologie – Süßwasserbiologie. UTB Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 261 Seiten.
- SEVIM, S. (2012): Beurteilung des Wiedererholungs-Potentials emergierender Insekten am Beispiel der Büschelmückenlarve *Chaoborus crystallinus* in Mesokosmenstudien unter Berücksichtigung der Populationsstruktur (Metapopulation) und der Verbreitungsmechanismen. Dissertation, RWTH Aachen.
- SHIRLEY, E. (1977): A non-parametric equivalent of Williams' test for contrasting increasing dose levels of a treatment. *Biometrics* 33 (2): 386-389.  
<http://www.jstor.org/stable/2529789> (abgerufen am 28.11.2012).
- SOLOMON, K.R., BROCK, T.C.M., DE ZWART, D., POSTHUMA, L., RICHARDS, S.M., SANDERSON, H., SIBLEY, P.K., VAN DEN BRINK, P.J. (2008): Ecotoxicological Effect Characterization of Chemicals. SETAC PRESS, Florida.
- SPIEGEL, M. (2010): Die ökotoxikologische Bewertung der Auswirkung des Pyrethroids λ-Cyhalothrin auf die aquatische Biozönose in einem Freilandmesokosmos – Schwerpunkt Makroinvertebraten. Diplomarbeit, Technische Universität München.
- Sicherheitsdatenblatt nach EG-Richtlinie 2001/58/EG für Callisto® (2010): Syngenta Agro GmbH. [http://www.syngenta.de/syngenta\\_infos/pdf\\_dateien/prd\\_sd/sd\\_callisto\\_at.pdf](http://www.syngenta.de/syngenta_infos/pdf_dateien/prd_sd/sd_callisto_at.pdf) (abgerufen am 15.11.2011)
- Sicherheitsdatenblatt nach EG-Richtlinie 2001/58/EG für Karate® Zeon (2010): Syngenta Agro GmbH.  
[http://www.syngenta.de/syngenta\\_infos/pdf\\_dateien/prd\\_sd/sd\\_karate\\_zeon.pdf](http://www.syngenta.de/syngenta_infos/pdf_dateien/prd_sd/sd_karate_zeon.pdf) (abgerufen am 15.11.2011)
- SWIFT, M.C., (1992): Prey capture by the four larval instars of *Chaoborus crystallinus*. *Limnology Oceanography* 37 (1): 14-24.
- SWIFT, M.C. & FEDERENKO, A.Y. (1975): Some aspects of prey capture by *Chaoborus* larvae. *Limnology Oceanography* 20: 418-425.

- SWIFT, M.C. & FORWARD, B. JR. (1988): Absolute light intensity vs. rate of relative change in light intensity: the role of light in the vertical migration of *Chaoborus punctipennis* larvae. *Bulletin of Marine Science* 43 (3): 604-619.
- TAKAHASHI, N., MIKAMI, N., MATSUDA, T., MIYAMOTO, J. (1985): Photodegradation of the pyrethroid insecticide Cypermethrin in water and on soil surface. *Journal of Pesticide Science* 10 (4): 629-642.
- TER BRAAK, C.J.F. & SMILAUER, P. (2002): Canoco Reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, New York. 500 Seiten.
- TÜMPLING, W.V. & FRIEDRICH, G. (1999): Methoden der Biologischen Gewässeruntersuchungen, Band 2. Gustav Fischer Verlag, Jena. 545 Seiten.
- UMWELTBUNDESAMT (UBA) (2012): Bestimmung von stoffbezogenen Umweltqualitätskriterien – Ein Methodenvergleich von nationalen und internationalen Bewertungsgrundlagen. UBA-FB 001631, ISSN 1862-4804, 38/2012. Dessau-Roßlau.
- UNITED NATIONS (UN) (2009): World Population Prospects. The 2008 Revision, Highlights, Working Paper No. ESA/P/WP.210. Department of Economic and Social Affairs, Population Division.  
[http://www.un.org/esa/population/publications/wpp2008/wpp2008\\_highlights.pdf](http://www.un.org/esa/population/publications/wpp2008/wpp2008_highlights.pdf)  
(abgerufen am 27.12.2012).
- UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANISATION (UNESCO) (2012): World Water Assessment Programm – Managing Water under Uncertainty and Risk, The United Nations World Water Development Report 4, Volume 1.  
<http://unesdoc.unesco.org/images/0021/002156/215644e.pdf> (abgerufen am 27.12.2012).
- UTERMÖHL, H. (1932): Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. – *Verh. int. Ver. Limnol.* 5: 567-595.
- UTERMÖHL, H. (1958): Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. – *Mitt. int. Ver. Limnol.* 9: 1-38.
- VAN DEN BRINK, P.J., CRUM, S.J.H., GYLSTRA, R., BRANSEN, F., CUPPEN, J.G.M., BROCK, T.C.M. (2009): Effects of a herbicide-insecticide mixture in freshwater microcosms: Risk assessment and ecological effect chain. *Environmental Pollution* 157: 237-249.
- VAN DEN BRINK, P.J., VAN DEN BRINK, N.W., TER BRAAK, C.J.F. (2003): Multivariate analysis of ecotoxicological data using ordination: Demonstrations of utility on the basis of various examples. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 9: 141-156.

- VAN DEN BRINK, P.J., HARTGERS, E.M., GYLSTRA, R., BRANSEN, F., BROCK, T.C.M. (2002A): Effects of a mixture of two insecticides in freshwater microcosms: II. Responses of plankton and ecological risk assessment; *Ecotoxicology* 11 (3): 181-197.
- VAN DEN BRINK, P.J., ROELSMA, J., VAN NES, E.H., SCHEFFER, M. BROCK, T.C.M. (2002B): Perpest model, a case based reasoning to predict the ecological risks of PESTicides. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21: 2500-2506.
- VAN DEN BRINK, P.J., HATTINK, J., BRANSEN, F., VAN DONK, E., BROCK, T.C.M. (2000): Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. *Aquatic Toxicology* 48: 251-264.
- VAN DEN BRINK, P.J. & TER BRAAK, C.J.F. (1999): Principal Response Curves: analysis of time-dependent multivariate responses of a biological community to stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 138-148.
- VAN DEN BRINK, P.J. & TER BRAAK, C.J.F. (1998): Multivariate analysis of stress in experimental ecosystems by Principal Response Curves und similarity analysis. *Aquatic Ecology*, 32: 163-178.
- VAN DEN BRINK, P.J. & TER BRAAK, C.J.F. (1997): Ordination of responses to toxic stress in experimental exosytsems. *Tox. Ecotox. News* 4: 173-177.
- VAN DEN BRINK, P.J., VAN DEN BRINK, N.W., TER BRAAK, C.J.F. (2003): Multivariate analysis of ecotoxicological data using ordination: Demonstrations of utility on the basis of various examples. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 9: 141-156.
- VAN DEN BRINK, P.J., VAN WIJNGAARDEN, R.P.A., LUCASSEN, W.G H., BROCK, T.C.M., LEEUWANGH, P.(1996): Effects of the insecticide Dursban® 4E (a.i. chlorpyrifos) in outdoor experimental ditches. II. Invertebrate community responses. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15:1143-1153.
- VAN LEEUWEN, L.C., VOS, J.H., MENSINK, B.J.W.G. (2008): Environmental risk limits for Lambda-Cyhalothrin, RIVM Letter report 601716001/2008.
- VAN WIJNGAARDEN ET AL. (2006): Ecological Effects of Spring and Late Summer Applications of Lambda-Cyhalothrin on Freshwater Microcosms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 50 (2): 220-239.
- VERBRUGGEN, E.M.J., VAN DEN BRINK, P.J. (2010): Review of recent literature concerning mixture toxicity of pesticides on aquatic organisms. RIVM report 601400001.
- VOLM, C. (1997): Aquatische Modellökosysteme: Vergleich von aquatischen Modellökosystemen unterschiedlicher Größe und Ausstattung mit einem durch landwirtschaftliche Nutzung beeinflussten Stehgewässer. Lehrstuhl für Botanik. Verlag Dr. Kovac, Hamburg, Dissertation, Technische Universität München.

- VON ENDE, C.N. (1982): Phenology of Four Chaoborus Species. Environmental Entomology 11 (1): 9-16.
- WALTER, H., CONSOLARO, F., GRAMATICA, P., SCHOLZE, M., ALTENBURGER, R. (2002): Mixture Toxicity of Priority Pollutants at No Observed Effect Concentrations (NOECs). Ecotoxicology 11: 299-310.
- WENDT-RASCH, N., VAN DEN BRINK, P.J., CRUM, S.J., WOIN, P. (2004): The effects of a pesticide mixture on aquatic ecosystems differing in trophic status: responses of the macrophyte *Myriophyllum spicatum* and the periphytic algal community. Ecotoxicol. Environ. Saf. 57 (3): 383-398.
- WENDT-RASCH, N. (2003): Ecological effects of pesticides in freshwater model ecosystems. Dissertation, Lund University, Schweden.
- WICKHAM, S.A. & GILBERT, J.J. (1991): Relative vulnerabilities of natural rotifer and ciliate communities to cladocerans: laboratory and field experiments. Freshwater Biol. 26: 77-86.
- WILLIAMS, D.A. (1972): The comparison of several dose levels with a zero dose control. Biometrics 28: 510-531.
- ZIERIS F.J. (1983): Entwicklung und Vergleich dreier Modellökosysteme während einer Vegetationsperiode anhand der Fauna. Diplomarbeit, Technische Universität München.

## Bestimmungsliteratur

- BAYERISCHES LANDESAMT FÜR WASSERWIRTSCHAFT (1988): Bestimmungsschlüssel für die Saprobier-DIN-Arten (Makroorganismen). Informationsberichte Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft 2/88, Loseblattsammlung.
- BAYERISCHES LANDESAMT FÜR WASSERWIRTSCHAFT (1990): Biologische Gewässeranalyse in Bayern- Taxaliste der Gewässerorganismen. Informationsberichte Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft 4/90, Loseblattsammlung.
- BROHMER, P. (1992): Fauna von Deutschland: ein Bestimmungsbuch unserer heimischen Tierwelt. 18. neu bearbeitete und neu gestaltete Auflage von M. Schaefer. Quelle und Meyer Verlag.
- DONNER, J. (1965): Ordnung Bdelloidea, Rotatoria, Rädertiere; Akademie-Verlag, Berlin.
- ENGELHARDT, W. (1989): Was lebt in Tümpel, Bach und Weiher. Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, W. Keller & Co., Stuttgart (Kosmos).



*ETTL, D., GERLOFF, J., HEYNIG, M., MOLLENHAUER, D. (1978-1991):* Die Süßwasserflora von Mitteleuropa, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

- Bd. 3: Xanthophyceae I (1978)
- Bd. 4: Xanthophyceae II (1980)
- Bd. 9: Chlorophyta I (1983)
- Bd. 16: Conjugatophyceae I (1984)
- Bd. 1: Chrysophyceae und Haptophyceae (1985)
- Bd. 14: Chlorophyta VI (1985)
- Bd. 2/1: Bacillariophyceae I (1986)
- Bd. 2/2: Bacillariophyceae II (1988)
- Bd. 10: Chlorophyta II (1988)
- Bd. 6: Dinophyceae (1990)
- Bd. 19/1: Cyanoprokaryota (1990)
- Bd. 2/3: Bacillariophyceae II (1991)
- Bd. 2/4: Bacillariophyceae IV (1991)

*FLÖßNER, D. (1972):* Krebstiere, Crustacea; Kiemen- und Blattfüßer, Branchipoda; Fischläuse Branchiura. Gustav Fischer Verlag Jena.

*GERMAIN, H. (1981):* Flore des diatomées. Eaux douces et saumâtres du Massif Américain et des contrées voisines d'Europe occidentale. Collection « Faunes et Flores actuelles », Société Nouvelles des Éditions Boubée, Paris.

*HERBST, H.V. (1976):* Blattfußkrebse, Phyllopoden. Echte Blattfüßer und Wasserflöhe. Franckh Verlag, Stuttgart (Kosmos).

*HUBER-PESTALOZZI, G. (1950-1983):* Das Plankton des Süßwassers. Die Binnengewässer. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

- Teil 3 (1950): Cryptophyceae, Peridineae
- Teil 4 (1955): Euglenophyceae
- Teil 5 (1961): Chlorophyceae (Volvocales)
- Teil 1 (1962): Blaualgen, Bakterien, Pilze
- Teil 2/1 (1962): Chrysophyceae
- Teil 2/2 (1962): Diatomeae
- Teil 6 (1972): Chlorophyceae (Tetrasporales)
- Teil 8/1 (1982): Conjugatophyceae (Zygnematales und Desmidiiales, excl. Zygnemataceae)
- Teil 7/1 (1983): Chlorophyceae (Chlorococcales)

*HUSTEDT, F. (1965):* Kieselalgen. Franckh Verlag, Stuttgart (Kosmos).

*KIEFER, F. (1973):* Ruderfußkrebse, Copepoden. Franckh Verlag, Stuttgart (Kosmos).

*KIEFER, F. (1978):* Freilebende Copepoda. Das Zooplankton der Binnengewässer, Teil 2. In: Die Binnengewässer, Bd. 26, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

- KRAMER, K. (1986):* Kieselalgen. Biologie, Baupläne der Zellwand, Untersuchungsmethoden. Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, W. Keller & Co., Stuttgart (Kosmos).
- LINNE VON BERG, K.-H., MELKONIAN, M. (2004):* Der Kosmos-Algenführer, Kosmos Verlag, Stuttgart.
- LÖFFLER, H. (1972):* Ostracoda. Das Zooplankton der Binnengewässer, Teil 1. In: Die Binnengewässer, Bd. 26, 235-246. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- LUDWIG, H.W. (1993):* Tiere in Bach, Fluß, Tümpel, See. BLV.
- MIGULA, W. (1897):* Kryptogamenflora. Band II: Algen, Teil 1 a. Hugo Bermühler Verlag, Berlin.
- MÜLLER, T.V. (1995):* Biologie und Bestimmungsschlüssel der Larven der Gattung *Chaoborus* (Diptera: Chaoboridae); Jahreshefte der Gesellschaft für Naturkunde in Württemberg 151, 501-506.
- PRESCOTT, G.W. (1979):* How to know the freshwater algae. The pictured key nature series. Wm. C. Brown Company Publishers Dubuque, Iowa. 3. Auflage.
- RUTTNER-KOLISKO, A. (1972):* Rotatoria. Das Zooplankton der Binnengewässer, Teil 1. In: Die Binnengewässer, Bd. 26, 99-234. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- SAETHER, O.A. (1972):* Chaoboridae. Das Zooplankton der Binnengewässer, Teil 1. In: Die Binnengewässer, Bd. 26, 257-280. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- SAETHER, O.A. (2002):* Insecta: Diptera: Chaoboridae. Vol 21, Issue 10. In: Süßwasserfauna von Mitteleuropa, begr. Von A.Brauer. Hrsg. von J.Schwoerbel und P.Zwick. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin.
- SCHWAB, H. (2006):* Süßwassertiere. Ein ökologisches Bestimmungsbuch. Klett Verlag.
- SKUJA, H. (1965):* Grundzüge der Algenflora und Algenvegetation der Fjeldgedenden um Abisko in Schwedisch-Lappland. Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis, Ser. 4, Vol. 18 (3).
- STREBLE, H., KRAUTER, D. (2002):* Das Leben im Wassertropfen. Stuttgart, Frankh (Kosmos Naturführer).
- VOIGT, M., KOSTE, W. (1978):* Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Ein Bestimmungswerk begründet von Max Voigt; neu bearbeitet von W. Koste. Überordnung Monogonata. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart. 2. Auflage.





Hiermit versichere ich, dass ich bisher noch keinen Promotionsversuch unternommen habe.

09.12.2013

(Ort)

R. Cernstau

(Unterschrift)

Hiermit versichere ich, dass ich die vorgelegte Dissertation selbst und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt, alle in Anspruch genommenen Quellen und Hilfsmittel in der Dissertation angegeben habe und die Dissertation nicht bereits andersweitig als Prüfungsarbeit vorgelegen hat.

09.12.2013

(Ort)

R. Cernstau

(Unterschrift)

Hiermit erkläre ich, nicht wegen einer Straftat rechtskräftig verurteilt worden zu sein, zu der ich meine wissenschaftliche Qualifikation missbraucht habe.

09.12.2013

(Ort)

R. Cernstau

(Unterschrift)