

**Neue Testorganismen für die Immissionsüberwachung von  
Fließgewässern mit kontinuierlichen Biotestverfahren –  
Untersuchungen zur Sensitivität von *Daphnia magna*,  
*Eudiaptomus vulgaris* und *Gammarus roeseli* auf Insektizide**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

**DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN**

(Dr. rer. nat.)

an der Fakultät für Chemie und Biowissenschaften der  
Universität Karlsruhe (TH)  
vorgelegte

**DISSERTATION**

von

**Diplom Biologin Christine Werth**

**aus Berlin**

Dekan:	Prof. Dr. H. Puchta
Referent:	Prof. Dr. H. Taraschewski
Koreferent:	Prof. Dr. N. Leist
Tag der mündlichen Prüfung:	15.02.2006



# INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
1.1	Begriffsdefinition kontinuierliches Biotestverfahren	2
1.2	Geschichte und Stand des Einsatzes kontinuierlicher Biotestverfahren in der Immissionsüberwachung deutscher Fließgewässer	4
1.3	Sensitivität und Funktionsfähigkeit der eingesetzten Biotestverfahren	10
1.4	Konzeption der im Rahmen der Dissertation durchgeführten Studie	15
1.4.1	Auswahl der Testspezies	15
1.4.2	Auswahl der Giftstoffe (Modellsubstanzen)	18
1.4.3	Stand der toxikologischen Forschung	19
1.4.4	Zielsetzung der Arbeit	22
2.	MATERIAL & METHODEN	24
2.1	Eingesetzte Biota	24
2.1.1	Vorstellung der drei Testspezies	24
2.1.2	Hälterungs- und Zuchtmethoden	28
2.1.2.1	<i>Daphnia magna</i> STRAUS, 1820	28
2.1.2.2	<i>Eudiaptomus vulgaris</i> (SCHMEIL, 1898)	28
2.1.2.3	<i>Gammarus roeseli</i> GERVAIS, 1835	29
2.1.2.4	<i>Desmodesmus subspicatus</i> (CHODAT, 1926)	30
2.2	Giftstoffe (Modellsubstanzen)	31
2.3	Messtechnik	35
2.3.1	bbe-Daphnientoximeter	35
2.3.1.1	Geräteaufbau	35
2.3.1.2	Datenaufnahme	37
2.3.1.3	Geräteinterne Datenauswertung	39
2.3.1.4	Software und Geräteeinstellungen	42
2.3.2	Driftmesser	44
2.3.2.1	Geräteaufbau	44
2.3.2.2	Geräteinterne Datenauswertung	46
2.3.3	Chemische Analytik	46
2.4	Durchführung der Messungen	47
2.4.1	bbe-Daphnientoximeter – Durchflussuntersuchungen	47
2.4.2	bbe-Daphnientoximeter – Giftstofftests	47
2.4.3	Driftmesser – Giftstofftests	49
2.4.4	Statische Tests	49

---

2.5	Methoden der Datenauswertung	51
2.5.1	bbe-Daphnientoximeter	51
2.5.1.1	Normalverhalten	51
2.5.1.2	Giftstofftests	52
2.5.2	Driftmesser	53
2.5.2.1	Normalverhalten	53
2.5.2.2	Giftstofftests	53
2.5.3	Statische Tests	53
3.	ERGEBNISSE	54
3.1	Verfahrenstechnische Überprüfungen	54
3.1.1	Durchfluss durch die Messküvetten (bbe-Daphnientoximeter)	54
3.1.2	Detektion im Driftmesser	55
3.1.3	Chemische Analytik	56
3.2	Aufzeichnung des Normalverhaltens	57
3.2.1	<i>D. magna</i> und <i>E. vulgaris</i> im bbe-Daphnientoximeter	57
3.2.2	<i>G. roeseli</i> im Driftmesser	61
3.3	Die Toxizität der ausgewählten Insektizide auf die drei Testspezies, ermittelt anhand ihrer Immobilisierung in statischen Tests (EC <sub>50</sub> – Werte)	62
3.3.1	Lindan	62
3.3.2	Dimethoat	63
3.3.3	Carbofuran	63
3.3.4	Carbaryl	64
3.3.5	Cypermethrin	65
3.3.6	Zusammenfassung der Ergebnisse aus den statischen Tests	66
3.4	Die Beeinflussung des Schwimmverhaltens von <i>D. magna</i> und <i>E. vulgaris</i> durch Insektizide, aufgenommen mit dem bbe-Daphnientoximeter	67
3.4.1	Lindan	68
3.4.2	Dimethoat	75
3.4.3	Carbofuran	82
3.4.4	Carbaryl	88
3.4.5	Cypermethrin	95
3.4.6	Zusammenfassung der Ergebnisse von den kontinuierlichen Tests mit <i>D. magna</i> und <i>E. vulgaris</i> im bbe-Daphnientoximeter	102

---

3.5	Die Beeinflussung des Driftverhaltens von <i>G. roeseli</i> durch Insektizide, aufgenommen mit dem Driftmesser	102
3.5.1	Lindan	102
3.5.2	Carbofuran	104
3.5.3	Carbaryl	106
3.5.4	Cypermethrin	107
3.5.5	Zusammenfassung der Ergebnisse von den kontinuierlichen Tests mit <i>G. roeseli</i> im Driftmesser	109
3.6	Ergebnisse der statischen und kontinuierlichen Tests im Vergleich	110
3.6.1	<i>D. magna</i> und <i>E. vulgaris</i>	110
3.6.2	<i>G. roeseli</i>	113
3.6.3	Zusammenfassung	114
4.	DISKUSSION	116
4.1	Verfügbarkeit der Testorganismen	116
4.2	Sensitivität in den statischen Tests	118
4.3	Möglichkeiten und Grenzen der eingesetzten Messverfahren	126
4.3.1	Das bbe-Daphnientoximeter	126
4.3.2	Der Driftmesser	128
4.4	Ansprechempfindlichkeit in den kontinuierlichen Tests	129
4.4.1	Abgrenzung des Normalverhaltens vom Stressverhalten	129
4.4.2	Wirkschwellen mit <i>D. magna</i> und <i>E. vulgaris</i> im bbe-Daphnientoximeter	132
4.4.3	Wirkschwellen mit <i>G. roeseli</i> im Driftmesser	139
4.5	Bedeutung der Labordaten für den Einsatz am Gewässer	141
4.6	Abschließende Diskussion zur Eignung der drei Testspezies für die Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren	145
5.	ZUSAMMENFASSUNG	149
6.	LITERATUR	152
7.	DANKSAGUNG	175

## ABKÜRZUNGEN

ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
bbe-:	biological biophysical engineering (Firmenname bbe-Moldaenke)
CKW	Chlorierte Kohlenwasserstoffe
DIN:	Deutsches Institut für Normung
DF:	Delayed Fluorescence
EC:	Effect Concentration
EHC:	Environmental Health Criteria
EN ISO:	European Norm International Organization for Standardization
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GC-MS:	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GKI:	Geschwindigkeitsklassenindex
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography
IPCS:	International Programme on Chemical Safety
IKSR:	Internationale Kommission zum Schutz des Rheins
kdr	knockdown resistance
LAWA:	Länderarbeitsgemeinschaft Wasser
LC:	Lethal Concentration
LfU:	Landesanstalt für Umweltschutz Baden Württemberg
MFB:	Multispecies Freshwater Biomonitor
MFO	Multi-Function Oxidase
NOEC	No Observed Effect Concentration
PAN:	Pesticide Action Networks North America
UBA:	Umwelt Bundes Amt
WIR:	Wirkungstest Rhein
WRC:	Water Research Centre
WRRL:	Wasserrahmenrichtlinie

## 1. EINLEITUNG

„Anthropogene Stoffeinträge beeinflussen die chemische Qualität der Gewässer und können dadurch die Nutzungen beeinträchtigen und die aquatischen Lebensgemeinschaften schädigen“ (UBA 2001). Es wäre allerdings eine Utopie zu glauben, eine anthropogene Gewässerbelastung ließe sich gänzlich ausschließen (OTTERPOHL 2000). Daher ist „oberstes Ziel die Sicherung der Bereitstellung von Wasser in angemessener Menge und guter Qualität für die gesamte Weltbevölkerung bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der hydrologischen, biologischen und chemischen Funktionen der Ökosysteme mit Anpassung der Aktivität des Menschen an die Belastungsgrenzen der Natur“ (AGENDA 21 KAP. 18 RIO DE JANEIRO 1992).

Die zahlreichen nationalen und internationalen Bemühungen der vergangenen Jahrzehnte, der punktuellen Gewässerbelastung durch die Regulierung von industriellen Schadstoffemissionen und den Bau von Kläranlagen entgegen zu wirken, zeigen inzwischen deutliche Wirkung (FRIEDRICH 1998). Der Bereich diffuser Einträge, wie sie bei der Anwendung von Pflanzenschutzmitteln entstehen, lässt sich dahingegen nur schwer kontrollieren (WOGRAM 2001). Beispielsweise konnte die Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (IKSR) mit einem 70 bis 100-prozentigen Rückgang der meisten auf der „prioritären Liste“ geführten Schadstoffe eine positive Bilanz verzeichnen. Für manche Substanzen, unter anderem einige Pestizide wie Diuron und Lindan, wurden dagegen die Zielvorgaben des IKSR noch nicht erreicht (UMWELT 2003). In Deutschland liegt der Gesamteintrag von Pflanzenschutzmitteln in die Gewässer bei etwa 30 t pro Jahr, was ungefähr 0,1 % der angewandten Menge entspricht (UBA 2002). Überschreitungen der Zielvorgaben zum Schutz der aquatischen Lebensgemeinschaft oder der Trinkwasserverordnung wurden häufig nachgewiesen. In den Jahren 2000 bis 2002 lagen nur bei neun von 38 an LAWA-Messstellen untersuchten Pestiziden die Konzentrationen unterhalb ihrer Zielvorgaben ([http://www.pestizidreduktion.de/pestizide\\_im\\_wasser/oberflaechengewaesser.htm](http://www.pestizidreduktion.de/pestizide_im_wasser/oberflaechengewaesser.htm)). Vereinzelt traten Fälle mit Handlungsbedarf auf, wie beispielsweise

produktionsbedingte Einleitungen der Insektizide Dimethoat und Lindan im Raum Bitterfeld-Wolfen und Merseburg-Halle (UBA 2001).

Aufgrund der Vielzahl möglicher Schadstoffe und ihrem häufig zeitlich begrenzten Auftreten im Gewässer können die Daten des chemischen Monitoring nur einen Ausschnitt der tatsächlichen Schadstoffbelastung wiedergeben. Der ergänzende Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren, mit Biota der verschiedenen trophischen Ebenen kann Schadstoff-Stoßbelastungen anzeigen und damit sachdienliche Hinweise für das chemische Monitoring liefern. Dies gilt insbesondere für die Frühwarnung im Falle von Unfällen. Unter Beweis stellte sich dies beim Großbrand in der Firma Sandoz am 01.11.1986, als mit dem Löschwasser rund 10-30 Tonnen biozider Wirkstoffe in den Rhein gelangten. In der Wasserkontrollstation Bad-Honnef konnte der Eintritt der Schadstoffwelle mit dem Dynamischen-Daphnientest verfolgt werden (VON DANWITZ 2000). Die WRRL (2000) sieht Systeme vor, die zur frühzeitigen Entdeckung derartig unvorhersehbarer Vorkommnisse dienen, um das Risiko für die aquatischen Ökosysteme zu verringern. Wesentlich konkreter sind die Empfehlungen zum Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren für die Gewässerüberwachung, die von der LAWA 1996 herausgegeben wurden. Hier werden entsprechend des damaligen Stands der Technik kontinuierliche Biotestverfahren empfohlen, die in Form einer alle trophischen Ebenen (Produzenten, Primärkonsumenten, Sekundärkonsumenten und Destruenten) berücksichtigenden Testbatterie betrieben werden sollen.

### 1.1 Begriffsdefinition kontinuierliches Biotestverfahren

**Bioindikatoren** sind Organismen oder Organismengemeinschaften, die auf Umwelteinflüsse mit Veränderungen ihrer Lebensfunktionen derart reagieren, dass ihr Vorkommen oder Fehlen in einer Biozönose Umweltfaktoren charakterisiert. Zu unterscheiden ist zwischen Reaktionsindikatoren, die mit spezifischen Symptomen reagieren und Akkumulationsindikatoren, die Substanzen signifikant über das Umgebungsniveau anreichern. **Biomonitoring** bezeichnet die Kontrolle des Zustandes der belebten Umwelt mit Hilfe von Bioindikatoren, entweder durch

Untersuchung von Bioindikatoren an ihrem natürlichen Standort (passives Biomonitoring) oder durch Exposition von standardisiertem biologischen Material (aktives Biomonitoring). Im Gegensatz dazu ist ein statischer **Biotest** eine standardisierte Prüfmethode zur Untersuchung der Wirkung von Testsubstanzen auf **Testorganismen** unter Laborbedingungen (ZIMMERMANN 1996).

In **kontinuierlichen Biotestverfahren** werden im Gegensatz zu statischen Biotests die Testorganismen kontinuierlich oder semikontinuierlich (im Takt weniger Minuten) mit frischem Medium in Kontakt gebracht und stoffwechsel- oder verhaltensphysiologische Parameter als Folge subletaler Effekte gemessen (LAWA 1996). Ein Haupteinsatzgebiet ist die Immissionsüberwachung an Gewässern, weshalb die kontinuierlichen Biotestverfahren früher als **Biomonitore** bezeichnet wurden (LAWA 1996). Somit sind kontinuierliche Biotestverfahren Biotests, deren Einsatz in den meisten Fällen nicht im Labor erfolgt, sondern dem des aktiven Biomonitoring am Gewässer, mit einem gewissen Grad an technischer Standardisierung entspricht (Abb. 1).

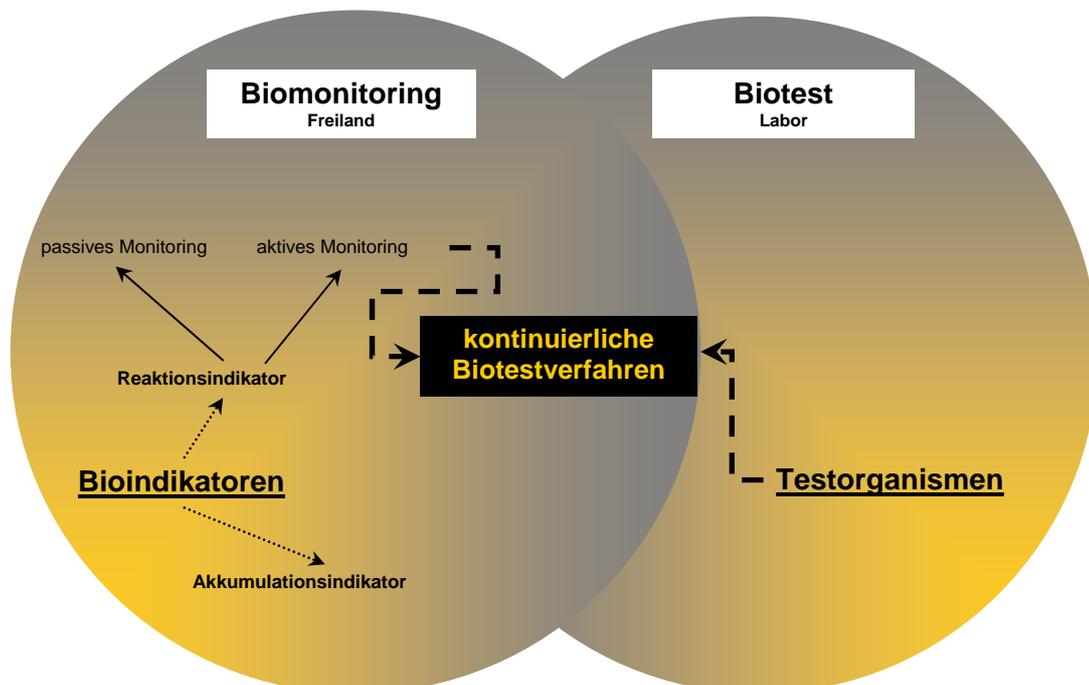


Abb. 1: Bezüge der Fachtermini

### 1.2 Geschichte und Stand des Einsatzes kontinuierlicher Biotestverfahren in der Immissionsüberwachung deutscher Fließgewässer

Bei den ältesten biologischen Testverfahren handelt es sich um statische Tests (ohne Austausch des Testmediums), mit denen Effekt-Konzentrationen (EC) ermittelt werden. Die statischen Tests haben sich über mehrere Jahrzehnte etabliert, wurden genormt (DIN 38 412, EN ISO 5667-16) und sind heute in Deutschland in Gesetzen (Chemikaliengesetz, Wasserhaushaltsgesetz, Pflanzenschutzgesetz) fest verankert. Nach den DIN-Normen werden der Fischeitertest mit *Brachydanio rerio* (HAMILTON-BUCHANAN, 1822), die Schwimmunfähigkeit (Immobilisierung) von *Daphnia magna* STRAUS, 1820, die Fluoreszenzhemmung der Alge *Desmodesmus subspicatus* (CHODAT, 1926) und die Lumineszenzhemmung der Leuchtbakterien *Vibrio fischeri* (BEIJERINCK, 1889) zur toxikologischen Bewertung von Substanzen bzw. Abwässern herangezogen. Im Falle von kontinuierlich anfallenden Abwässern, zum Beispiel in Kläranlagen, können die beschriebenen statischen Tests immer nur eine punktuelle Überprüfung der Toxizität ermöglichen. Zur permanenten Überprüfung wurden daher automatische kontinuierliche Biotests entwickelt (BESCH 1977). Um regulierend einwirken zu können, ist es grundsätzlich im Interesse der Anwender möglichst schnell auf toxische Einflüsse aufmerksam zu werden. Mortalität bzw. Immobilisierung (Fisch- und Daphnientest) treten in aller Regel erst nach einer längeren Einwirkzeit auf, so dass diese, für die statischen Tests gängigen Kriterien, hier keine optimale Bewertung darstellen.

Bei den ersten Bemühungen subletale Effekte als Indikator für einen toxischen Einfluss heranzuziehen, stand der Fisch als Testorganismus im Mittelpunkt. Dazu beigetragen haben sicher die immer wieder aufgetretenen Fischsterben, von denen eines der verheerendsten am 20 Juni 1969, durch in den Rhein bei Bingen eingeleitetes Thiodan (Endosulfan), ausgelöst wurde (<http://www.gein.de/html/calendar/calKatastrophen.html>). Zur kontinuierlichen Kontrolle wurde der statische Fischtest weiterentwickelt zum Rheotaxis-Test, bei dem die vorübergehende oder dauerhafte Schwimmunfähigkeit zur Detektion von Giftwirkung herangezogen wird

(BESCH & al. 1972 & 1977). Daraus resultierte der Kerren-Fischttest (Kerren, Viersen), in welchem Fische während der Testphase einer Strömung ausgesetzt werden. Tiere, die aufgrund einer Schädigung ihre Position in der Strömung nicht halten können, werden gegen ein Messgitter gespült, wodurch sie einen Impuls auslösen. Da ein schwimmunfähiger Fisch in der Regel bereits nachhaltig geschädigt ist, wurden empfindlichere Verfahren entwickelt, wie der WRC-Fischmonitor (Water Research Centre, Medmenham England), der die Frequenz der Kiemenbewegung von Forellen detektiert oder der Koblenzer Verhaltensfischttest, bei dem mit Hilfe des Bildverarbeitungssystems BehavioQuant (Metacom, München) Videoaufzeichnungen des Schwimmverhaltens ausgewertet werden können (BLÜHBAUM-GRONAU & al. 1992 & 1994, SPIESER & al. 1994). Seit einigen Jahren wird das bbe-Fischtoximeter (bbe-Moldaenke, Kiel) angeboten, das ebenfalls auf der Basis von Videoaufzeichnungen der Schwimmbahnen arbeitet.

GELLER & MÄCKLE (1976) waren die ersten, die für den Einsatz in kontinuierlichen Biotestverfahren *Daphnia magna* als Testorganismus vorschlugen und den Einsatz von Algen (*Haematococcus pulvialis*) für sinnvoll erachteten (BESCH 1977). Bei den Versuchen mit Algen wurde von Geller und Mäckle der Sauerstoffgehalt in den Testkammern gemessen. Bei *Daphnia magna* verwendeten sie als Messparameter die Bewegungsfähigkeit der Tiere und detektierten diese anhand des Durchschwimmens der Testorganismen durch einen Lichtstrahl. Dieses Messprinzip kam später im Dynamischen-Daphnientest (Elektron, Krefeld) zum Einsatz, bei dem in zwei Messkammern mit Hilfe von Lichtschranken die Bewegungsaktivität von Wasserflöhen aufgenommen wird (KNIE, 1988). Der Dynamische-Daphnientest sollte, neben dem Dreissena-Monitor, bei dem das Schalenöffnungsverhalten von Dreikantmuscheln (*Dreissena polymorpha*) beobachtet wird (BORCHERDING 1992), zu einem der meist eingesetzten Biotestverfahren in der Immissionsüberwachung deutscher Fließgewässer werden.

Obwohl bereits in den 70er Jahren eine Vielzahl unterschiedlicher Verfahren publiziert wurde (BESCH 1977), kamen sie lange Zeit in der Immissionsüberwachung an Fließgewässern nur sporadisch zum Einsatz. Dies änderte sich

drastisch nach dem Sandozstörfall 1986, bei dem wie bereits erwähnt, in der Wasserkontrollstation Bad-Honnef der Eintritt der Schadstoffwelle mit dem Dynamischen-Daphnientest verfolgt werden konnte. Die IKSR wurde beauftragt, die nationalen Untersuchungsprogramme im Rheineinzugsgebiet, unter Berücksichtigung des Einsatzes biologischer Testverfahren, zu überprüfen. In diesem Zusammenhang wurde eine Bund-Länder-Projektgruppe "Wirkungstest Rhein" (WIR) gegründet, die ein "Rahmenkonzept für ein Forschungsvorhaben zur Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins" erarbeitete. Basierend auf dem Forschungskonzept wurden zwischen 1989 und 1993 22 kontinuierliche Biotestverfahren (Tab. 1) erprobt. Analog zu den statischen Tests sollte eine für die Immissionsüberwachung geeignete Testbatterie, bestehend aus Produzenten, Primärkonsumenten, Sekundärkonsumenten und Destruenten selektiert werden.

**Tab. 1:** Auflistung der im Rahmen des Verbundforschungsvorhabens zwischen 1989 und 1993 entwickelten und erprobten Biotests (UBA 1995).

<b>Trophiestufe</b>	<b>Testgerät</b>	<b>Testorganismen</b>	<b>Messgröße</b>
<b>Produzenten</b>	<b>FluOx-Testsystem</b>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Fluoresz./O <sub>2</sub> Entwickl.
	<b>Biosens- Argentoximeter</b>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	spontane Fluoreszenz
	<b>IfW-Fluorometer</b>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Spontane Fluoresz.
	<b>DF-Algentest</b>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Verzögerte Fluoresz.
	<b>EuCyanobakterien-Elektrode</b>	<i>Synechococcus spec.</i>	Elektronentransport
	<b>Protoplastenbiotest</b>	<i>Vicia vabia</i>	O <sub>2</sub> -Entwicklung
<b>Primärkonsumenten</b>	<b>Dynamischer-Daphnientest</b>	<i>Daphnia magna</i>	Schwimmaktivität
	<b>Dreissena-Monitor</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	Schalenbewegung
	<b>Mosselmonitor</b>	<i>Dreissena polymorpha</i>	Schalenbewegung
<b>Sekundärkonsumenten</b>	<b>Kerren-Fischtest</b>	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	Schwimmaktivität
	<b>Fischwarntest</b>	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	Schwimmaktivität
	<b>Koblenzer Verhaltensfischtest</b>	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	Schwimmverhalten
	<b>WRC-Fischmonitor</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Kiemendeckelschlag
<b>Destruenten</b>	<b>Toxiguard</b>	Aufwuchsorganismen	O <sub>2</sub> -Verbrauch
	<b>Biox 1000 T</b>	Aufwuchsorganismen	O <sub>2</sub> -Verbrauch
	<b>Toxalarm</b>	<i>Pseudomonas putida</i>	O <sub>2</sub> -Verbrauch
	<b>Stiptox-norm</b>	<i>Pseudomonas putida</i>	O <sub>2</sub> -Verbrauch
	<b>EuCyano-Bakt.- Elektrode</b>	<i>Escheria coli</i>	Elektronentransport
	<b>Lumino2000</b>	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Lichtemission
	<b>RBT</b>	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Lichtemission
	<b>Biotoximeter</b>	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Lichtemission
	<b>Auto-Microtox</b>	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	Lichtemission

Auf Grundlage der hier gewonnenen Forschungsergebnisse und den Erfahrungen in den einzelnen Bundesländern wurde 1996 die Empfehlung der LAWA "zum Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren in der Gewässerüberwachung" herausgegeben (LAWA 1996). Nach dem damaligen Kenntnisstand wurde vom Arbeitskreis der LAWA empfohlen, einen Fluoreszenz-Algentest und einen Daphnientest oder Muschelmonitor einzusetzen. Hinsichtlich der Fischttestverfahren wurde der Strömungsfischttest als den Anforderungen nicht genügend erachtet, während der Koblenzer Verhaltensfischttest als vielversprechend bewertet wurde. Bezüglich der Bakterientestverfahren kam der Arbeitskreis zu der Erkenntnis, dass keines der damals auf dem Markt erhältlichen Verfahren für die Fließgewässerüberwachung geeignet war.

Bei den 45 derzeit (Stand Juli 2003) in der Immissionsüberwachung an Fließgewässern eingesetzten kontinuierlichen Biotestverfahren handelt es sich um 12 Algentests, 11 Muscheltests, 19 Daphnientests, 1 Fischttest und 2 Bakterientests (Abb. 2). Neben drei im Verbundforschungsvorhaben getesteten Verfahren (DF-Algentest, Dreissena-Monitor und Dynamischer-Daphnientest) und dem zu dieser Zeit noch in der Entwicklung befindenen Regensburger Leuchtbakterientest, konnten sich drei weitere Biotestgeräte (bbe-Algentoximeter, bbe-Daphnientoximeter und bbe-Fischttoximeter) der Firma bbe-Moldaenke in der Fließgewässerüberwachung etablieren. So stellt das bbe-Daphnientoximeter, welches die Schwimmbahnen der Daphnien aufzeichnet und Verhaltensauffälligkeiten anhand von Alarmalgorithmen detektiert und bewertet (vgl. 2.3.1), inzwischen rund die Hälfte aller eingesetzten Daphnientestgeräte.

Derzeit verfügen lediglich die Messstationen von Bad Abbach und Karlsruhe in ihrer Testbatterie über einen Bakterientest. Zum Einsatz kommt hier der Regensburger Leuchtbakterientest, der im Auftrag des UBA an der Universität Regensburg entwickelt wurde (GERHARDT & PUTZGER 1999). Der Test beruht auf der Hemmung der bakteriellen Biolumineszenz von *Vibrio fischeri* bei Schadstoffeinwirkung und entspricht einer Automatisierung des statischen Tests nach DIN. Der ebenfalls an der Universität Regensburg entwickelte DF-Algentest, beruht auf

der Hemmung der verzögerten Fluoreszenz von einzelligen Grünalgen (GERHARDT & PUTZGER 1992). Der DF-Algentest wurde in der Anwendung zur Funktionsreife weiterentwickelt (MARTEN 1996, MARTEN & SCHWÖRER 2000) und ist aktuell an vier Messstationen im Betrieb. Beim Regensburger Leuchtbakterientest und dem DF-Algentest handelt es sich um semikontinuierliche Testverfahren, also Verfahren, die vollautomatisch im Abstand einiger Minuten einen neuen Test ansetzen und auswerten. Zur Quantifizierung der Hemmung von Biolumineszenz bzw. Fluoreszenz wird die Differenz zwischen der Probemessung und einer Referenzmessung ausgewertet. Im Bereich der Produzenten werden neben dem DF-Algentest derzeit noch acht bbe-Algentoximeter eingesetzt, die ebenfalls die Hemmung der Fluoreszenz als Maß für die Beeinträchtigung der Photosynthese bei Intoxikation messen, wobei hier nicht die verzögerte Fluoreszenz im Dunkeln, sondern die prompte Fluoreszenz, ausgelöst durch einen Lichtpuls, aufgenommen wird.

An den meisten Messstationen werden mit Algentests und / oder Muschel- bzw. Daphnientests nur ein bis zwei trophische Ebenen abgedeckt. Die momentan einzige Messstation in Deutschland, in welcher ein Fischttest (bbe-Fischttoximeter) betrieben wird, ist die Rheingütemessstation in Karlsruhe. Damit ist Karlsruhe die erste Messstation in Deutschland, die der Empfehlung der LAWA (1996) alle vier trophischen Ebenen in einer Testbatterie abzudecken, nachkommt.



Abb. 2: Übersicht der aktuell (Stand Juli 2003) eingesetzten kontinuierlichen Biotestverfahren zur Immissionsüberwachung an Fließgewässern in Deutschland.

### 1.3 Sensitivität und Funktionsfähigkeit der eingesetzten Biotestverfahren

Von den Anwendern wird eine Liste gepflegt, die über die bislang anhand von Giftstoffuntersuchungen ermittelten Alarmschwellen-Konzentrationen Aufschluss gibt (Tab. 2).

Die bisher ermittelten Alarmschwellen-Konzentrationen (Tab. 2) zeigen, dass im Bereich der **Produzenten** mit dem DF-Algentest und bbe-Algentoximeter zwei kontinuierliche Biotestgeräte zur Verfügung stehen, mit denen Herbizide mit hoher Empfindlichkeit (0,5 µg/L für Terbutylazin bis 10 µg/L für Chloridazon) detektiert werden können. Die im Bereich der **Primärkonsumenten** mit dem Dreissena-Monitor und den beiden Daphnientestgeräten (Dynamischer-Daphnientest und bbe-Daphnientoximeter) ermittelten Alarmschwellen-Konzentrationen lagen für Neurotoxine zumeist über 100 µg/L. Lediglich für vier Stoffe, darunter zwei Giftgase (Sarin und Soman) und zwei Insektizide (Trichlorfon und Esfenvalerat), war mit dem bbe-Daphnientoximeter eine Detektion bei Konzentrationen unter 10 µg/L möglich. Für Fische (**Sekundärkonsumenten**) liegen nur wenige Daten vor, so dass hier lediglich eine hohe Ansprechempfindlichkeit für Endosulfan (LOEC = 0,8 µg/L) im Koblenzer Verhaltensfischtest festgehalten werden kann. Der Regensburger Leuchtbakterientest (**Destruenten**) wurde für die Immissionsüberwachung entwickelt, empfiehlt sich jedoch bevorzugt für die Emissionsüberwachung, was im Wesentlichen auf seine eher geringe Sensitivität zurückzuführen ist.

Aus der von den Anwendern gepflegten Liste (Tab. 2) geht allerdings nichts über die Versuchsdurchführung hervor. So bleibt unklar, ob eine ansteigende Giftstoffwelle simuliert (z.B. LEWANDOWSKA 2004) oder ein spontaner Effekt untersucht wurde. In einigen Fällen wurde mit Flusswasser gemessen (z.B. SCHLINK 1999) in anderen mit Zuchtmedium (z.B. SCHWÖRER 1999b). Darüber hinaus bleibt unklar, welche Datenbasis der angegebenen Alarmschwellen-Konzentration zugrunde liegt. Beispielsweise beruht die Angabe zur Wirkung von L-Cyhalothrin im bbe-Daphnientoximeter auf einer einmaligen Messung mit der hier angegebenen Konzentration von 500 µg/L (GRESENS 2000).

**Tab. 2:** Von den Anwendern gepflegte Liste über ermittelte Alarmschwellen-Konzentrationen (µg/L) von kontinuierlichen Biotestverfahren (abgewandelt und ergänzt). UBA = Umweltbundesamt, B = Wehrwissenschaftl. Institut für Schutztechnologie der Bundeswehr, W = Rheingütestation Worms, H = Umweltbehörde Hamburg, K = Landesanstalt für Umweltschutz Karlsruhe, S = Sonstige. Entsprechend ihrer Anwendung sind betreffende Substanzen gekennzeichnet mit (F) = Fungizid (G) = Giftgas (chemisches Kampfmittel), (H) = Herbizid und (I) = Insektizid.

Gerätetyp	Substanz	Alarmkonz.	Quelle					
			UBA	B	W	H	K	S
DF-Algentest	Atrazin (H)	> 3 > 2 > 5						
	Chloridazon (H)	> 10						
	Diuron (H)	> 1						
	Isoproturon (H)	> 1-2						
	Paraquat (H)	> 5						
	Pentachlorphenol (F)	> 20						
	Simazin (H)	> 2						
	Terbutylazin (H)	> 0,5-5						
	bbe-Algentoximeter	Diuron (H)	> 2 > 0,5					
Glyphosat (H)		> 2						
Isoproturon (H)		> 1 > 1 > 0,5-1						
Simazin (H)		> 2						
Terbutylazin (H)		> 0,5 > 1						
Trichlorfon (I)		> 10						
Dreissena-Monitor		Ammoniumsulfat	> 61000					
	Atrazin (H)	> 3000						
	Lindan (I)	130						
	Kupfersulfat (F)	> 114						
	Na-Pentachlorphenol (F)	130 > 163						
	2- Nitrophenol	270						
	Pentachlorphenol (F)	15 > 79 > 150						
Dynamischer-Daphnientest	Atrazin (H)	50000						
	Diazinon (I)	> 100						
	Lindan (I)	500						
	Malathion (I)	> 100						
	Parathion-ethyl (I)	> 100						
bbe-Daphnientoximeter	Chloroform	> 10000						
	Cyclosarin (G)	> 10						
	l-Cyhalothrin (I)	> 500						
	Diazinon (I)	> 100						
	Endosulfan (I)	> 100						
	Esfenvalerat (I)	1						
	Lindan (I)	> 30						
	Malathion (I)	> 100						
	Parathion-ethyl (I)	> 100						
	Pendimethalin (H)	> 100						
	Pentachlorphenol (F)	> 1000						
	Propetamphos (I)	> 100						
	Sarin (G)	> 6,4						
	Soman (G)	> 6,4						
	Tabun (G)	> 35,5						
	Terbutylazin (H)	> 250						
	Trichlorfon (I)	> 2						
Xylol	> 1000							
Koblenzer Verhaltensfischtest	Endosulfan (I)	0,8						
	Na-Pentachlorphenol (F)	> 120						
Regensburger Leuchtbakterientest	Cetyltrimethylammoniumbromid	> 100						
	3,5-Dichlorphenol	> 500						
	Zn <sup>2+</sup>	> 5000						

Im Falle der Algentests kamen unterschiedliche Testspezies zum Einsatz, so vergleicht SCHLINK (1999) die Sensitivität des DF-Algentests unter Verwendung von *Chlamydomonas reinhardtii* DANGEARD, 1899 mit dem bbe-Algentoximeter unter Verwendung von *Chlorella vulgaris* BEIJERINCK, 1890. Nicht selten kommt hinzu, dass verschiedene Geräte bzw. Software-Versionen zum Einsatz kamen. So ist das bbe-Daphnientoximeter als ein- und zweikanalige Ausführung im Betrieb (Abb. 2), was unterschiedlich empfindlich eingestellte Auswertemodi zur Folge hat. Darüber hinaus wurden bei einzelnen Biotestgeräten Nachbesserungen vorgenommen. Die verwendeten Biotestgeräte in den Messstationen unterscheiden sich folglich in ihrem Aufbau und Messablauf (SCHWÖRER 1999a).

### Produzenten

Im **DF-Algentest** traten anfänglich Verunreinigungen der Algenkultur mit Fremdalgen auf, es kam zu Fehlmessungen durch Mängel bei der Pumpenförderung und durch die schnelle Verschmutzung der Photomultiplier ergaben sich starke Schwankungen in den Messergebnissen (MARTEN 1996, HERBST 1997, RICHTER 1998, MARTEN & SCHWÖRER 2000). Nach der Beseitigung der technischen Mängel wurde der DF-Algentest mit einer dynamischen Alarmbewertung nachgerüstet, so dass er jetzt auf einem hohen Entwicklungsniveau angekommen ist (MARTEN 2003).

Zu dem seit 1995 auf dem Markt erhältlichen **bbe-Algentoximeter** liegen unterschiedliche Erfahrungen vor. SCHLINK (1999) kam nach Vergleichsmessungen mit Herbiziden im DF-Algentest und im bbe-Algentoximeter zu dem Resultat, dass das bbe-Algentoximeter empfindlicher detektiert als der DF-Algentest. Bei Untersuchungen mit dem bbe-Algentoximeter im Laborbetrieb der Landesanstalt für Umweltschutz Baden Württemberg (LfU) wurde ein hohes Grundrauschen und eine starke Drift in den Messwerten festgestellt, mit der Folge dass die Empfindlichkeit deutlich unter der des DF-Algentests lag. Erst nach wiederholter Überarbeitung des Gerätes durch den Hersteller misst das Gerät nun mit guter Stabilität und Sensitivität (MARTEN persönliche Mitteilung).

## Primärkonsumenten

Mit dem **Dreissena-Monitor** wurden im zweijährigen Betrieb in Bad Honnef keine Fehlalarme und nur ein schwacher Gewässeralarm registriert (NEUMANN & BORCHERDING 1993), wohingegen im Routinebetrieb der Messstation Karlsruhe innerhalb von 10 Monaten (Oktober 1995 – Juli 1996) 25 Gewässeralarme gemeldet wurden, die in den Sommermonaten durch einen regulären Tagesgang der Muscheln ausgelöst wurden, also Fehlalarme darstellten (MARTEN 1996). In Folge dessen, war in der Messstation Karlsruhe die Einsatzfähigkeit des Dreissena-Monitors nur in den Nachmittagsstunden, zur filtrieraktiven Zeit der Muscheln, gewährleistet. Eine Ursache für unterschiedliche Verhaltensmuster der Muscheln kann im Nahrungsangebot am jeweiligen Standort liegen, da das Nahrungsangebot entscheidenden Einfluss auf die Ausprägung des tagesrhythmischen Aktivitätsverhaltens der Dreikantmuschel *Dreissena polymorpha* (PALLAS, 1771) besitzt (SCHNELL 1999).

Das Nahrungsangebot ist ein Aspekt, welcher sich auch im Betrieb des **Dynamischen-Daphnientests** auswirkte (DEVENTER 1991). Die fehlende Fütterung führte je nach Aufstellungsort zur schlechten Konstitution der Tiere (MOLDAENKE 1997) oder bewirkte in den Sommermonaten bereits nach 4-5 Tagen einen Anstieg der Impulsrate, durch die Zunahme an Testorganismen (Jungtiere) (UBA 1995). Eine Vielzahl weiterer Schwachpunkte, wie die fehlende Temperierung und häufiges Zusetzen der Küvettensiebe (MATTHIAS & PUZICHA 1990) führten zu stark rauschenden Daten, die nur schwer ausgewertet werden konnten. Es hat sich gezeigt, dass sich der Dynamische-Daphnientest zur Mortalitätskontrolle eignet, jedoch nicht zum Aufzeigen subletaler Wirkungen einsetzbar ist (CASPER 1988, SCHWÖRER 2000). Die beschriebenen Schwachstellen des Dynamischen-Daphnientests dürften maßgeblich dazu beigetragen haben, dass inzwischen rund die Hälfte der eingesetzten Daphnientestgeräte von dem neueren bbe-Daphnientoximeter gestellt werden.

Das **bbe-Daphnientoximeter** verfügt über eine kontinuierliche Algenzufütterung und gewährleistet mittels Peltierelementen eine konstante Versuchstemperatur von 20°C. Durch Erfassung der Anzahl der Versuchstiere können Effekte durch Vermehrung abgefangen werden. Hinsichtlich seiner Alarmauswertung mit Hilfe von mathematischen Alarmalgorithmen wie Sprungerkennung (Hinkley-Detektor) und Steigungsalarm (vgl. 2.3.1.3) ist das bbe-Daphnientoximeter eines der am weitesten entwickelten Biotestgeräte, das derzeit im Messbetrieb eingesetzt wird.

### Sekundärkonsumenten

Der seinerzeit von der LAWA als viel versprechend eingestufte **Koblenzer Verhaltensfischtest** hat sich über mehrere Jahre bewährt, konnte aber nicht käuflich erworben werden. Inzwischen wird der Prototyp in Koblenz aus betriebswirtschaftlichen Gründen nicht mehr betrieben. Das ebenfalls auf der Auswertung von Videoaufzeichnungen des Schwimmverhaltens basierende **bbe-Fischtoximeter** ist dem Koblenzer Verhaltens Fischtest nachempfunden und wurde in Zusammenarbeit mit der LfU speziell für den Einsatz in Messstationen konfiguriert. Es befindet sich nunmehr seit über einem Jahr mit Elritzen *Phoxinus phoxinus* (LINNAEUS, 1758) im Probelauf in der Rheingütemessstation Karlsruhe. Das bbe-Fischtoximeter entspricht hinsichtlich des Messverfahrens und der Auswertung weitestgehend dem bbe-Daphnientoximeter, das sich bereits bewährt hat.

### Destruenten

Der **Regensburger Leuchtbakterientest** wird nur an zwei Messstationen (Bad Abbach und Karlsruhe) zur Immissionsüberwachung eingesetzt, was im Wesentlichen darin begründet liegen dürfte, dass „nach Einschätzung aller Biotest-anwender der Test vorrangig für die Emissionsüberwachung zu empfehlen ist“ (MARTEN 1996). Hinsichtlich der Wartung und der Betriebszuverlässigkeit hat sich der Regensburger Leuchtbakterientest im Karlsruher Messbetrieb als das unkomplizierteste Biotestverfahren dargestellt.

## 1.4 Konzeption der im Rahmen der Dissertation durchgeführten Studie

Kontinuierliche Biotestverfahren besitzen eine junge, noch nicht abgeschlossene, Entwicklungsgeschichte (vgl. 1.2). Während im Bereich der Produzenten bereits mit einer hohen Empfindlichkeit überwacht werden kann, besteht im Bereich der Konsumenten und Destruenten noch Verbesserungsbedarf (vgl. 1.3). Die vorliegende Arbeit befasst sich speziell mit dem Bereich der Primärkonsumenten. Im kontinuierlichen Biotest ist immer das Zusammenspiel zwischen Datenaufnahme (Gerätetechnik), Testspezies und Datenauswertung, für die Sensitivität und die Stabilität (Reproduzierbarkeit) der Messungen verantwortlich. Von der LAWA (1996) wurden diesbezüglich Bewertungskriterien für kontinuierliche Biotestverfahren aufgestellt. Viele der hier aufgeführten Kriterien (Standzeit, Störanfälligkeit, Betriebsfreundlichkeit, Wartungsbedarf, Materialeinsatz...) beziehen sich auf den technischen Betrieb. Da der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit auf der Eignung von unterschiedlichen Testspezies für ihren Einsatz in kontinuierlichen Biotestverfahren lag, wurden hier eigene, speziell auf diese Frage ausgerichtete, Bewertungskriterien aufgestellt. Dies sind:

- ganzjährige Verfügbarkeit der Testspezies
- hohe Sensitivität für neurotoxische Substanzen
- technische Messbarkeit der Verhaltensänderungen
- hohe Kontinuität im Normalverhalten (ohne Toxin)
- deutliche Abweichung des Stressverhalten (Toxineinfluss) vom Normalverhalten

### 1.4.1 Auswahl der Testspezies

Bislang in der Immissionsüberwachung eingesetzte Primärkonsumenten sind die Dreikantmuschel *Dreissena polymorpha* und der Große Wasserfloh *Daphnia magna*, wobei die Problematik der Tagesperiodik bei *Dreissena polymorpha* in der Rheingütemessstation Karlsruhe bereits angesprochen wurde (vgl. 1.3). Aufgrund der hier gewonnenen Erfahrungen, hinsichtlich der mangelnden Kontinuität des Normalverhaltens von Muscheln, wurden sie nicht in der weiteren Auswahl der Testspezies berücksichtigt.

Einige potentiell für Tests vorgesehene Spezies scheiterten bereits an der Hürde ihrer Verfügbarkeit. So konnten in den eigenen Studien Süßwassergarnelen der Art *Limnomysis benedeni* CZERNIAVSKY, 1882 weder in Leitungswasser, M4-Medium noch im Entnahmewasser länger als 3-6 Wochen im Labor gehältert werden. Auch die Idee das Spektrum der Testorganismen mit der Eintagsfliege *Ephoron virgo* (OLOVIER, 1791) um einen Vertreter aus der Klasse der Insekten zu erweitern, scheiterte. Zwar bestand die Möglichkeit Eier von *E. virgo* bei 4°C in Diapause zu halten, so dass zu jedem Zeitpunkt durch Temperaturerhöhung Larven zum Schlupf animiert werden konnten, jedoch erwies sich die Aufzucht der Larven, auf die für die Messungen erforderliche Größe als schwierig.

Mit dem bbe-Daphnientoximeter steht für den Bereich der Primärkonsumenten ein technisch sehr weit entwickeltes Gerät zur Verfügung (vgl. 1.3). Das Gerät ist für Messungen mit dem Große Wasserfloh *Daphnia magna* konstruiert (bbe-MOLDAENKE 2002) und in der deutschen Immissionsüberwachung weit verbreitet (Abb. 2). Es war naheliegend bei der Entwicklung kontinuierlicher Biotestverfahren auf einen Testorganismus wie *D. magna* zurückzugreifen, der bereits seit der Mitte des letzten Jahrhunderts in toxikologischen Studien eingesetzt wird (NAUMANN 1933, ANDERSON 1944). Durch die Etablierung von *D. magna* als Standardlabororganismus in statischen Tests (vgl. 1.2) stehen genormte Zuchtmethoden zur Verfügung und die Tiere können aus einer Klonzucht beim Umweltbundesamt Berlin bezogen werden. Inwieweit sich die Sensitivität von *D. magna* in statischen Tests auf den Einsatz in kontinuierlichen Biotestgeräten übertragen lässt, war ein zu betrachtender Aspekt der vorliegenden Arbeit.

Da das bbe-Daphnientoximeter also der derzeit am weitesten entwickelte kontinuierliche Biotest ist, war es sinnvoll ihn bei Untersuchungen zur Eignung neuer Testspezies einzusetzen. Das bbe-Daphnientoximeter setzt für den verwendeten Testorganismus eine permanente Schwimmaktivität im Normalverhalten voraus. Eigene Voruntersuchungen umfassten auch Vertreter der Ostracoda und Amphipoda, also Testorganismen, die in ihrem Normalverhalten nur zeitweise Ortsbewegungen vollziehen. Diese konnten mit dem bbe-Daphnien-

toximeter nicht zufriedenstellend aufgenommen werden. Wohingegen mit dem Ruderfußkrebs *Eudiaptomus vulgaris* (SCHMEIL, 1898) ein zweiter Plankton-Organismus ermittelt wurde, dessen Schwimmverhalten sich mit dem bbe-Daphnientoximeter aufzeichnen lässt. Dadurch war ein direkter Vergleich zwischen *D. magna* und *E. vulgaris*, hinsichtlich der Kontinuität im Normalverhalten und der Ausprägung des Stressverhaltens möglich. Für beide Spezies (*D. magna* und *E. vulgaris*) wurden Laborzuchten angelegt und ihre Sensitivität auf ausgewählte Neurotoxine (vgl. 1.4.2) in statischen und kontinuierlichen Tests untersucht.

Neben den planktisch lebenden Kleinkrebsen sollte die Eignung von in Fließgewässern heimischen Makrozoobenthos-Organismen für den Einsatz in Biotestverfahren untersucht werden. Der in der Fließgewässerüberwachung in Deutschland bisher nicht eingesetzte Multispecies-Freshwater-Biomonitor (MFB) ist für diesen Zweck gebaut worden (GERHARDT & al. 1994). Das Messprinzip des MFB beruht auf der Detektion von Bewegungen der unterschiedlichen aquatischen Testorganismen anhand von Spannungsänderungen in einem elektrischen Feld. An der LfU in Karlsruhe wurde die Technik unter Verwendung von neun unterschiedlichen Makrozoobenthos-Organismen getestet (SCHWÖRER 1999b). Beim MFB handelt es sich um den Prototyp eines Biotestgerätes, welches vor einem Einsatz in der Gewässerüberwachung noch erheblichen Entwicklungsbedarf hat (MARTEN persönliche Mitteilung). Unter den neun von SCHWÖRER (1999b) im MFB getesteten Makrozoobenthos-Spezies hat sich der Bachflohkrebs *Gammarus roeseli* GERVAIS, 1835 hinsichtlich der Kontinuität seines Verhaltens im Tagesgang und der Robustheit der Tiere bei der Hälterung als der geeignetste Organismus herausgestellt. Auch bei anderen Studien, die mit dem MFB durchgeführt wurden, kamen häufig Amphipoden als Testorganismen zum Einsatz (GERHARDT 1996, GERHARDT & al. 1998 & 2000). Es wurde nach einer alternativen Messmethode gesucht, mit der sich das Verhalten von Amphipoden beobachten lässt. Wie für zahlreiche Fließgewässerbewohner, ist für Amphipoden bekannt, dass sie sich bei Störungen mit der Wasserströmung aktiv wegdriften lassen (MÜLLER 1954 & 1963, ELLIOTT 1965, 1967, 2002a, b & c, LEHMANN 1967, MEIJERING 1972, LANCASTER 1996). Zur Untersuchung ob sich das Driftverhalten von *Gammarus*

*roeseli* als Messgröße in einem kontinuierlichen Biotestverfahren eignet, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit ein Driftmesser gebaut (vgl. 2.3.2). Neben den Studien des Driftverhaltens wurden die Gammariden in statischen Tests auf ihre Sensitivität für die eingesetzten Neurotoxine (vgl. 1.4.2) untersucht.

### **1.4.2 Auswahl der Giftstoffe (Modellsubstanzen)**

Zur Untersuchung der Sensitivität der Spezies wurden in vorliegender Arbeit Tests mit Modellsubstanzen durchgeführt. Wie eingangs beschrieben, sollen kontinuierliche Biotestgeräte als Testbatterie mit Organismen der verschiedenen trophischen Ebenen betrieben werden, wobei die hier untersuchten Primärkonsumenten schwerpunktmäßig den Bereich neurotoxisch wirkender Substanzen abdecken sollen. Besondere ökotoxikologische Bedeutung kommt dabei den Substanzen zu, die aufgrund ihrer toxischen Eigenschaften bereits als Insektizide im Freiland zum Einsatz gekommen sind. Weniger als 5 Prozent der als Insektizide eingesetzten Substanzen greift in die Entwicklung, beispielsweise in der Chitinbiosynthese ein, wohingegen der bei weitem größte Teil neurotoxisch wirkt (BECKMANN & HAACK 2003). Im Falle der fünf ausgewählten Modellsubstanzen handelt es sich durchweg um Neurotoxine, d.h. die Substanzen wirken unmittelbar auf das Nervensystem. Da es sich bei den Insektiziden um eine Vielzahl chemisch sehr unterschiedlicher Stoffe handelt und es wünschenswert war mit der Auswahl ein möglichst breites Spektrum an Wirkweisen abzudecken, wurden Modellsubstanzen aus jeder der vier im Bereich der Insektizide etablierten Stoffgruppen (chlorierte Kohlenwasserstoffe, organische Phosphorsäureester, Carbamate und Pyrethroide) ausgewählt.

Für die Gruppe der chlorierten Kohlenwasserstoffe wurde Lindan untersucht, ein Stoff für den, obwohl seit 1984 in Deutschland nicht mehr hergestellt und als Insektizid seit Juni 2002 nicht mehr zugelassen, noch Überschreitungen der Zielvorgaben festgestellt werden (UMWELT 2003).

Als Vertreter der organischen Phosphorsäureester wurde Dimethoat in die Untersuchungen aufgenommen. Dimethoat sorgte 2004 im Landkreis Karlsruhe für rege Diskussionen, als der Wirkstoff zur Maikäferbekämpfung im Hardtwald zwischen Graben und Karlsruhe ausgebracht wurde (SCHANOWSKI 2005).

Bezüglich der Carbamate sind mit Carbaryl und Carbofuran zwei Wirkstoffe untersucht worden, von denen einer (Carbofuran) in Deutschland unter dem Namen Carbosip im Acker- und Zierpflanzenbau zum Einsatz kommt (INDUSTRIEVERBAND AGRAR 2000).

Als Stellvertreter der Pyrethroide wurde Cypermethrin untersucht. Ausschlaggebend für die Stoffauswahl war die Beobachtung eines Massensterbens von Arthropoden im Breitenbach, verursacht durch Arbeiter, die nach der Borkenkäferbekämpfung mit Cypermethrin ihre Handschuhe und Gummistiefel im Gewässer abspülten (ZWICK 1992). Wegen der geringen Toxizität für Wirbeltiere werden Cypermethrin und andere Pyrethroid-Wirkstoffe auch vorzugsweise in Produkten für den Privathaushalt verarbeitet, wobei in jüngster Zeit über Gesundheitsschäden durch chronische Belastungen diskutiert wird (KOLACZINSKI & CURTIS 2004).

### **1.4.3 Stand der toxikologischen Forschung**

Es liegen umfassende wissenschaftliche Abhandlungen über die Wirkung von Pestiziden auf aquatische Organismen vor (BROCK & al. 2000, MUNN & GILLIOM 2001, UBA 2001, ACKERBLOM 2004, VAN WIJNGAARDEN & al. 2005). Einige Autoren setzen sich gezielt mit ökotoxikologischen Auswirkungen von Pestiziden auf die Fließgewässer-Lebensgemeinschaft (SCHULZ, 1997) oder auf das Süßwasser-Zooplankton (HANAZATO 2001) auseinander. Informationen zu den ausgewählten Modellsubstanzen wurden im Zuge von Risikoabschätzungen zusammengetragen, beispielsweise von MENCONI & GRAY (1992) zur Wirkung von Carbofuran auf aquatische Organismen. Besonders umfassend sind die im Rahmen des "International Programme on Chemical Safety" (IPCS) angefertigten Dokumente (Environmental Health Criteria), die den Wissensstand zum Einsatz, der

Verbreitung und der von den Wirkstoffen ausgehenden Gefährdung für Mensch und Natur zusammenfassen. Im Bezug auf die in vorliegender Studie eingesetzten Insektizide liegen Environmental Health Criteria (EHC) für Lindan (EHC 124 1991), Dimethoat (EHC 90 1989), Carbaryl (EHC 153 1994) und Cypermethrin (EHC 82 1989) vor. Die spezielle Frage nach der Eignung von Crustacea als Bioindikatoren erörtern RINDERHAGEN & al. (2000) und referieren hier zum Stand der toxikologischen Forschung mit Cladocera, Copepoda und Amphipoda. Für die drei ausgewählten Arten *D. magna*, *E. vulgaris* und *G. roeseli* war die Ausgangsdatenlage sehr unterschiedlich.

### *Daphnia magna*

Entsprechend der Bedeutung von *D. magna* als Standardlabortier gibt es für diesen Organismus Kenntnisse zur Wirkung zahlreicher Substanzen. In der Datenbank des Pesticide Action Networks North America (PAN) sind derzeit 12.358 Ergebnisse aus toxikologischen Untersuchungen mit *D. magna* gelistet (<http://www.pesticideinfo.org/Index.html>). Die Mehrzahl der Untersuchungen bezieht sich auf die in statischen Tests ermittelte akute Toxizität. Es finden sich hinsichtlich der in vorliegender Arbeit eingesetzten Insektizide, relevante Studien zur Wirkung von Lindan (CANTON & al. 1975, RANDALL & al. 1979, DE COEN & al. 1998), Dimethoat (SLOOF & CANTON 1983, BEUSEN & NEVEN 1989), Carbofuran (JOHNSON 1986), Carbaryl (RAWASH & al. 1975, HATAKEYAMA & SUGAYA 1989, WERNERSSON & DAVE 1997, HANAZATO 1999) und Cypermethrin (RUPARELIA & al. 1995). Über toxisch beeinflusste Veränderungen des Schwimmverhaltens von *D. magna* liegen neben den von den Anwendern kontinuierlicher Biotestverfahren (UBA 1995, SCHWÖRER 1999b, GRESENS 2000, GREEN & al. 2003, LUCKAS 2002 & 2003, LEWANDOWSKA 2004) gesammelten Erkenntnissen weitere Studien von DODSON & HANAZATO (1995), BAILLIEUL & BLUST (1999) und SCHMIDT & al. (2005) vor.

### *Eudiaptomus vulgaris*

Zwar gibt es für die Ordnung der Copepoda zahlreiche Untersuchungen zur Wirkung von Xenobiotika, jedoch beziehen sich diese zu einem großen Teil auf Vertreter des marinen Planktons. Genannt seien hier die Arbeiten von FORGET & al.

(1998), in der die Mortalität von *Tigriopus brevicornis* für Carbofuran und 6 weitere Substanzen getestet wurde und von WILLIS & LING (2004) über die Toxizität von Cypermethrin für vier Spezies mariner Copepoda. Für zwei weitere der untersuchten Insektizide (Lindan und Carbaryl) wurde die akute Toxizität an einer zu den Calanoida zu zählenden Süßwasserspezies (*Spicodiantomus chelospinus*) untersucht (KADER & al. 1976). Toxikologische Studien zu Arten der Gattung *Eudiaptomus*, liegen zur Wirkung anderer Pestizide (PRÉSING & PONYI 1986, MUSKO 1987), zur Toxizität von Metallen (BAUDOUIN & SCOPPA 1974) und der chronischen Wirkung von Dichloranilinen (BEYERLE-PFNUR & al. 1991) vor, wobei in keiner dieser Arbeiten die Art *E. vulgaris* Studienobjekt war. Neben den Untersuchungen einzelner Spezies gibt es Kenntnisse über den Einfluss von Toxinen auf die Zooplanktongemeinschaft. DAY (1990) fasst in einem Review die Studien zum Einfluss von Pestiziden auf das marine und limnische Zooplankton zusammen. Von den bei DAY (1990) nicht berücksichtigten Studien betreffen einige die in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Insektizide. Hierzu zählen Veröffentlichungen über den Einfluss von Lindan (LAY & al. 1987, NEUGEBAUER-BÜCHLER & al. 1991, PEITHER & AL 1996, VAN DEN BRINK & al. 2001), Dimethoat (BAEKKEN & AANES 1994, HESSEN & al. 1994), Carbaryl (HANAZATO & YASUNO 1987, 1989 & 1990) und Cypermethrin (CROSSLAND & al. 1982, MEDINA & al. 2004). Veränderungen im Schwimmverhalten bei Copepoda wurden von WONG (1996) für mechanische Einflüsse untersucht, für chemische Stimuli liegen keine Daten zur Beeinflussung des Schwimmverhaltens vor.

### ***Gammarus roeseli***

Für *G. roeseli* wurden einige wenige toxikologische Studien angefertigt. Daraus resultieren Kenntnisse zu LC-Werten für Metalle (SCHWEIGER 1957) und Angaben zu EC<sub>50</sub>-Werten für eine begrenzte Zahl anderer Toxine, darunter einige Insektizide (PRÉSING 1989, MATTHIAS 1990). Über die in der vorliegenden Studie eingesetzten Stoffe fehlen Angaben für *G. roeseli*. Es gibt allerdings zahlreiche Untersuchungen mit anderen Arten der Gattung *Gammarus*, bevorzugt *Gammarus pulex*, für den die akute Toxizität für Lindan (BLUZAT & SEUGE 1979, ABEL 1980a & b, GREEN & al. 1986, TAYLOR & al. 1991, CUPPEN & al. 2002), Carbofuran (MATTHIESSEN & al.

1995), Carbaryl (BLUZAT & SEUGE 1979) und Cypermethrin (STEPHENSON 1982, SHIRES 1983) ermittelt wurde. Inwieweit die Wasserhärte, die Temperatur und die Größe der eingesetzten Testorganismen Einfluss auf diese Ergebnisse haben, wird von STEPHENSON (1983) diskutiert. Weitere Daten über die akute Toxizität der hier verwendeten Gifte liegen für *G. italicus* (PANTANI 1997), *G. pseudolimnaeus* (WOODWARD & MAUCK 1980), *G. lacustris* (MCDONALD 1962, SANDERS 1969, JOHNSON & FINLEY 1980) und *G. fasciatus* (SANDERS 1972) vor. Freilanduntersuchungen in Teichanlagen über die Wirkung von Carbofuran (WAYLAND & BOAG 1990, WAYLAND 1991), Carbaryl (GIBBS & al. 1984) und Cypermethrin (CROSSLAND 1982, SHIRES 1983, FARMER & al. 1995) geben weitere Hinweise auf die Empfindlichkeit von Amphipoden.

Von besonderem Interesse für die hier vorgestellten Untersuchungen war die Frage nach dem Einfluss von Insektiziden auf das Driftverhalten von Gammariden. Eine "Katastrophendrift" von Invertebraten, verursacht durch die Einleitung von Schadstoffen in ein Gewässer wurden zahlreich beschrieben (WALLACE & HYNES 1975, DERMOTT & SPENCE 1984, ZWICK 1992, DAVIES & COOK 1993). Darüber hinaus wurden gezielte Studien zur Beeinflussung der Drift nach dem Einsatz von Pestiziden im Freiland (CROSSLAND & al. 1982, BEYERS & AL 1995, LIESS 1995, SCHULZ 1997, SCHULZ & LIESS 1999), sowie Experimente zum Schwimmverhalten von Amphipoden unter dem Einfluss von Xenobiotika (BORLAKOGLU & KICKUTH 1990, THURÉN & WOIN 1991, TAYLOR & al. 1994, LAWRENCE & POULTER 1998, GIRLING & al. 2000, BLASIUS & MERRITT 2002) angefertigt.

### **1.4.4 Zielsetzung der Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, neue Primärkonsumenten für den Einsatz in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren zu ermitteln. Kriterien für die Eignung einer Testspezies waren ihre ganzjährige Verfügbarkeit, eine möglichst hohe Sensitivität für Toxine, die Möglichkeit ihr Verhalten automatisiert aufzuzeichnen, eine hohe Kontinuität in ihrem Normalverhalten und ein Stressverhalten, das sich möglichst deutlich vom Normalverhalten absetzt.

Nach Vorauswahl (vgl. 1.4.1) wurden mit dem Ruderfußkrebs *E. vulgaris* und dem Bachflohkrebs *G. roeseli* zwei in kontinuierlichen Biotestverfahren erstmals eingesetzte Vertreter der Crustacea eingehend auf ihre Eignung untersucht und mit *D. magna* als etabliertem Standardorganismus verglichen. Dazu wurde die Wirkung von fünf ausgewählten Insektiziden (vgl. 1.4.2) in statischen und kontinuierlichen Tests untersucht.

In den statischen Tests wurde die Immobilisierung der Tiere, angegeben als EC<sub>50</sub>-Werte, ermittelt. Als kontinuierliches Testverfahren kam der etablierte bbe-Daphnientoximeter für die Messungen mit den Planktonorganismen (*D. magna*, *E. vulgaris*) zum Einsatz. Die kontinuierlichen Messungen mit *G. roeseli* erfolgten im so benannten Driftmesser, einem für die vorliegende Arbeit gebauten Gerät, das mittels Lichtschrankentechnik die Aufnahme von driftenden Gammariden ermöglicht.

Die Ergebnisse aus den durchgeführten Untersuchungen eröffnen neue Perspektiven zur Erhöhung der Sensitivität in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren.

## 2. MATERIAL & METHODEN

### 2.1 Eingesetzte Biota

#### 2.1.1 Vorstellung der drei Testspezies

##### *Daphnia magna* STRAUS, 1820

Stamm:	Arthropoda (Gliederfüßer)
Klasse:	Crustacea (Krebstiere)
Unterklasse:	Phyllopoda (Blattfußkrebse)
Ordnung:	Diplostraca (Zweischaler)
Unterordnung:	Cladocera (Wasserflöhe)
Familie:	Daphniidae
Gattung / Art:	<i>Daphnia magna</i>



Abb. 3: *D. magna*

Es werden rund 440 Arten der Unterordnung Cladocera unterschieden, von denen ca. 100 in Deutschland nachgewiesen wurden (FLÖBNER 1972). Die meisten Vertreter besiedeln den limnischen Lebensraum, nur wenige kommen marin vor (WAGLER 1957). Die für die Crustacea übliche Segmentierung ist bei den meisten Spezies nicht mehr zu erkennen, da eine Schale (Carapax) ihren Körper vollständig bedeckt. Bei Filtrierern wie *D. magna* sind die Extremitäten im Rumpfabschnitt zu beborsteten Blattfüßen ausgebildet, mit denen sie Nahrungspartikel aus dem Wasser aussieben können (GRUNER 2000). Die Fortbewegung erfolgt durch das Schlagen mit den beiden Antennenpaaren, wodurch eine ruckartige Bewegung entsteht.

Unter günstigen Lebensbedingungen vermehren sich viele Arten, so auch *D. magna*, ausschließlich durch Parthenogenese (FLÖBNER 1972). Die daraus resultierende hohe Reproduktionsrate und die genetische Ähnlichkeit der Individuen, dürften maßgeblich dazu beigetragen haben, dass sich *D. magna* als Standardlabororganismus etablieren konnte. Unter optimalen Bedingungen können die Weibchen von *D. magna* bis zu 6 mm groß und mehrere Monate alt werden (FLÖBNER 1972).

***Eudiaptomus vulgaris* (SCHMEIL, 1898)**

Stamm:	Arthropoda (Gliederfüßer)
Klasse:	Crustacea (Krebstiere)
Ordnung:	Copepoda (Ruderfüßer)
Unterordnung:	Calanoida (Schwebekrebschen)
Familie:	Diaptomidae
Gattung / Art:	<i>Eudiaptomus vulgaris</i>

**Abb. 4:** *E. vulgaris*

Zur Unterordnung der Calanoida werden rund 2000 Arten gerechnet (<http://www.-crustacea.net/crustace/calanoida/index.htm>). Die Unterordnung Calanoida hat ihren Namen nach der Gattung *Calanus* erhalten, deren zahlreiche Arten in allen Meeren einen beträchtlichen Anteil am Zooplankton stellen. Zur deutschen Binnenfauna zählen 20 Arten calanoider Copepoda, von denen 6 Arten der Familie Temoridae und 14 Arten der Familie der Diaptomidae angehören (KIEFER 1960). Die bis zu 2,5 mm große Art *E. vulgaris* ist in ganz Mitteleuropa weit verbreitet, wo sie in kleineren temporären und ausdauernden Gewässern vorkommt (EINSLE 1993).

Entsprechend dem allgemein für Crustacea gültigen Organisationsschema lässt sich der Copepodenkörper in Cephalothorax, Thorax und Abdomen gliedern, wobei der Cephalothorax die beiden Antennenpaare, die Mundwerkzeuge und das erste Schwimmbeinpaar trägt. Bei den Calanoida sind Maxillula und Maxilla mit Borstenkämmen als wirkungsvolle Filtrierorgane ausgestattet, was der überwiegend herbivoren Lebensweise der Tiere entspricht. NAUWERCK (1962) macht jedoch auf die starke Ausprägung der Mandibeln aufmerksam, womit die Tiere auch größere Nahrungspartikel aufnehmen können. An den anschließenden vier Thoraxsegmenten befindet sich jeweils ein Schwimmbeinpaar. Durch Erschlaffen der Antennen und anschließendem Ruderschlag mit den fünf Schwimmbeinpaaren können die Tiere plötzlich nach oben hüpfen, sodann halten sie ihre Antennulae gespannt und sinken mit ihnen wie an einem Fallschirm nach unten (GRUNER 2000).

Copepoda sind getrenntgeschlechtlich. Die männlichen Tiere bilden Spermatothoren, welche während der Kopulation an den Genitalöffnungen der Weibchen befestigt werden. Bei den weiblichen Diaptomidae wandern die im Ovarium gebildeten Eier zur Befruchtung aus den beiden nahe beieinander liegenden Genitalöffnungen heraus und gleiten zur weiteren Entwicklung in ein Eisäckchen, das am Genitalsegment angeheftet ist. In dem Eisäckchen vollzieht sich in durchschnittlich 2-5 Tagen die Embryonalentwicklung (KIEFER 1960). Die Zahl der Eier pro Ballen variiert zwischen den Arten und ist darüber hinaus vom Lebensalter und den Lebensbedingungen der Tiere abhängig (CZECZUGA 1959). Die Copepoda durchlaufen sechs Naupliusstadien, danach erhalten die Larven eine den adulten Copepoda ähnelnde Gestalt und werden als Copepodid bezeichnet. Vier solcher Copepodid-Stadien müssen bis zum adulten Copepoden durchlaufen werden (EINSLE 1993). Die Entwicklungsdauer der Larven steht mit äußeren Faktoren, wie Temperatur und Lichtverhältnissen in Beziehung. Unter den in vorliegender Studie gewählten Zuchtbedingungen (vgl. 2.1.2.2) lag sie für *E. vulgaris* bei etwa 3-4 Wochen. Die Gesamtlebenserwartung variiert bei den Copepoda zwischen den Arten stark und wird für *E. vulgaris* von KIEFER (1960) mit 10-13 Monaten angegeben.

### ***Gammarus roeseli* GERVAIS, 1835**

Stamm: Arthropoda (Gliederfüßer)  
Klasse: Crustacea (Krebstiere)  
Ordnung: Amphipoda (Flohkrebse)  
Unterordnung: Gammaridea  
Familie: Gammaridae  
Gattung / Art: *Gammarus roeseli*



**Abb. 5:** *G. roeseli*

Zur Ordnung der Amphipoda werden rund 6300 Arten gezählt. Der Name Amphipoda weist darauf hin, dass die Beine in alle Richtungen ausstrahlen, was ungenauerweise oft als Krebse mit zweifachen Beinarten (Gegensatz zu Isopoda = Gleichfüßler) verstanden wird (SCHELLENBERG 1942). Zur Familie der Gammaridae gehören rund 250 Arten, von denen 120 zur Gattung *Gammarus* gezählt werden. In

den Deutschen Binnengewässern sind unter Berücksichtigung zahlreicher Neozoen 24 Arten von Süßwasser-Amphipoden anzutreffen (EGGERS & MARTENS 2001 & 2004). Die drei häufigsten einheimischen Fließgewässerarten sind *G. fossarum*, *G. roeseli* und *G. pulex*, wobei *G. fossarum* eher im Bereich der Oberläufe und Quellen, *G. roeseli* in den Flussunterläufen und *G. pulex* in den dazwischen liegenden Abschnitten anzutreffen ist (FOECKLER & SCHRIMPF 1985, PÖCKL 1993).

Die Amphipoda sind getrenntgeschlechtlich. Das Weibchen sondert einen Lockstoff ab, den das Männchen durch chemische Sinnesorgane an den Fühlern wahrnimmt (BOROWSKY 1991). Das Männchen ergreift das Weibchen noch vor dessen Häutung und hält dieses mit Hilfe der Gnathopoden fest (Präkopula). Die Dauer der Präkopula liegt im Fall von *G. roeseli* bei 2- 4 Tagen (SCHWEDHELM 1984). Sobald sich das weibliche Tier gehäutet hat, wird es mit der Bauchseite nach oben gedreht, damit das Männchen seine Pleopoden zwischen die Brutplatten des Weibchens einführen und die Spermaflüssigkeit über die Genitalpapillen in das Marsupium (Brutbeutel) einfließen lassen kann. Das Weibchen löst sich sodann vom Männchen und legt noch vor der Aushärtung seiner Cuticula die Eier in das Marsupium (HYNES 1955). Die Anzahl der Eier ist von der Spezies und von der Größe des Weibchens abhängig. Bei *G. roeseli* werden durchschnittlich 35 Eier in das Marsupium abgegeben (PÖCKL 1993). Die Entwicklungszeit vom Ei bis zum schlüpfungsfähigen Jungtier nimmt mit sinkender Temperatur zu. Bei *G. roeseli* dauert es zwischen 10 Tagen bei 24°C und 222 Tagen bei 4°C bis die Brutentwicklungszeit abgeschlossen ist (PÖCKL 1993). Zahlreiche Studien (HEINZE 1932, HYNES 1955, MEIJERING & TEICHMANN 1978, SCHWEDHELM 1982) belegen eine Reproduktionspause in den Wintermonaten. Auch das Wachstum der Jungtiere ist stark temperaturabhängig (SUTCLIFFE & al. 1981). *G. roeseli* benötigt 125 Tage bei 16°C bzw. 86 Tage bei 20°C bis zum geschlechtsreifen Tier (PÖCKL 1993). Die Lebenserwartung der Gammariden liegt zwischen 1 und 3 Jahren (PÖCKL 1993). In dieser Zeit wachsen die Tiere auf eine Größe von bis zu 20 mm heran, wobei männliche Tiere etwas größer werden können als ihre weiblichen Artgenossen (SCHELLENBERG 1942).

### 2.1.2 Hälterungs- und Zuchtmethoden

#### 2.1.2.1 *Daphnia magna* STRAUS, 1820

Die Zucht von *D. magna* wurde mit Tieren aus der Klonzucht des Bundesgesundheitsamtes Berlin gestartet. Als Zuchtwasser wurde M4-Medium, ein synthetisches Verdünnungswasser nach Elendt-Schneider (ELENDET 1990), verwandt. Der Einsatz von M4-Medium entsprach den Vorgaben zur Zucht von *D. magna* für statische Abwasseruntersuchungen nach DIN 38 412 – L30. Die genaue Zusammensetzung des M4-Mediums kann dem AQS – Merkblatt P – 9/2 „zu den Rahmenempfehlungen der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) für die Qualitätssicherung bei Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchungen“ entnommen werden. Für die Zuchtansätze wurden Glasgefäße Volumen 2 Liter verwendet. Jedes Gefäß wurde mit 30 Tieren bestückt. Bei Bedarf an definiert alten Tieren für laufende Untersuchungen, mindestens jedoch zweimal wöchentlich, wurden die Jungtiere von den Alttieren durch Absieben getrennt. Die im Sieb verbliebenen Alttiere wurden im Anschluss in ein neues Zuchtgefäß mit frischem M4-Medium umgesetzt. Wenn Zuchttiere ein Alter von 4-6 Wochen erreichten, wurden sie durch jüngere Tiere ersetzt. Die Zucht erfolgte zunächst bei Raumtemperatur (20 +/- 2 °C), im Verlauf der Sommermonate im Kühlbrutschrank (20 °C), jeweils mit künstlicher Beleuchtung im Tag- Nachtrhythmus von 12 Stunden. Gefüttert wurden fünfmal wöchentlich einzellige Grünalgen der Art *Desmodesmus subspicatus* (vgl. 2.1.2.4).

#### 2.1.2.2 *Eudiaptomus vulgaris* (SCHMEIL, 1898)

Die Zucht von *E. vulgaris* wurde mit Tieren aus einer Teichanlage der Universität Karlsruhe gestartet. Als Zuchtwasser kam M4-Medium zum Einsatz. In jedes Zuchtgefäß (2 Liter Becherglas) wurden 40 weibliche und 10 männliche Tiere eingesetzt. Die Zuchtgefäße befanden sich in einem auf 20 °C temperiertem Wasserbad unter künstlicher Beleuchtung im Tag- Nachtrhythmus von 12 Stunden. Einmal wöchentlich wurden die Larvalstadien durch Absieben über 0,25 mm Gaze von den adulten Tieren getrennt. Die im Sieb verbliebenen Alttiere kamen in neue

Zuchtgefäße mit frischem M4-Medium, während die Larven aus den 3-5 Zuchtgefäßen, zusammen mit dem eine Woche alten M4-Medium, in einem 10 Liter Glasaquarium gesammelt wurden. Die Reproduktionsrate wies starke Schwankungen auf. Um gleich bleibende Aufzuchtbedingungen zu gewährleisten, war es erforderlich in Zeiten mit sehr hoher Reproduktionsrate nur die Larven eines Zuchtgefäßes in ein 10 Liter Nachzuchtbecken zu überführen und dieses mit M4-Medium aufzufüllen. In diesen Fällen wurden die überzähligen Larven der anderen Zuchtgefäße einer Art Massenzucht (150 Liter Vollglasaquarium) zugeführt. In den Nachzuchtbecken benötigten die Larven bei 20 +/- 2 °C und künstlicher Beleuchtung im Tag- Nachtrhythmus von 12 Stunden, 3-4 Wochen für die Entwicklung zum adulten Tier. Gefüttert wurden fünfmal wöchentlich einzellige Grünalgen der Art *Desmodesmus subspicatus* und einmal wöchentlich in M4-Medium suspendierte Backhefe.

### 2.1.2.3 *Gammarus roeseli* GERVAIS, 1835

Die Gammariden wurden aus der Alb, im Bereich der Günter-Klotz-Anlage in Karlsruhe entnommen und über mehrere Monate im Labor gehältert. In dieser Zeit wurden zahlreiche Jungtiere freigesetzt. Da die Jungtiere nicht separiert wurden, liegen über eine erfolgreiche Aufzucht keine Erkenntnisse vor. Die Hälterung erfolgte in zu zwei Dritteln mit Kies unterschiedlicher Korngrößen befüllten 150 Liter Vollglasaquarien (Abb. 6). Als Zuchtwasser wurde beim Erstbesatz Wasser vom Entnahmeort verwendet. In wöchentlichen Abständen wurden ca. 5 Liter Wasser pro Aquarium durch Leitungswasser erneuert. Durch den Einsatz von Eheim-Außenfiltern konnte das Wasser gereinigt und in leichter Strömung gehalten werden. Die Temperatur wurde mittels Tauchkühler auf 17°C reguliert und die Becken wurden im Tag- Nachtrhythmus von 12 Stunden beleuchtet. Gefüttert wurde Erlenlaub, das als Falllaub im Herbst gesammelt, portioniert und tief gefroren wurde. Vor der Fütterung verblieben die Erlenblätter für mindestens 4 Wochen in Wasser, so dass sich ein Biofilm an der Oberfläche ausbildete und Gerbstoffe herausgelöst wurden. Um den Kannibalismus gering zu halten, wurden zusätzlich Fischfutter (Tetra-Flocken) und lebende Daphnien dargeboten.



**Abb. 6:** Hälterung von *G. roeseli*. Zu sehen ist das mit Kies unterschiedlicher Korngrößen befüllte 150 Liter Aquarium, der Eheim-Auenfilter (links) und das Kühlgerät (rechts).

### 2.1.2.4 *Desmodesmus subspicatus* (CHODAT, 1926)

Die Zucht wurde mit *Desmodesmus subspicatus* von einem Kulturröhrchen aus der Algenkultursammlung der Universität Göttingen gestartet. Als Zuchtmedium diente Hedlich-Algen-Nährlösung, die wie folgt angesetzt wurde:

Stammlösung 1:

NaCl		24,000 g/l
CaCl <sub>2</sub>	* 2H <sub>2</sub> O	0,672 g/l
MgSO <sub>4</sub>	* 7H <sub>2</sub> O	12,000 g/l
MnCl <sub>2</sub>	* 4H <sub>2</sub> O	0,010 g/l
ZnSO <sub>4</sub>	* 7H <sub>2</sub> O	0,060 g/l

Stammlösung 2:

KNO <sub>3</sub>		40,000 g/l
------------------	--	------------

Stammlösung 3:

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	* 2 H <sub>2</sub> O	8,944 g/l
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	* H <sub>2</sub> O	22,600 g/l

Stammlösung 4:

FeSO <sub>4</sub>	* 7H <sub>2</sub> O	6,950 g/l
Titriplex 3		9,300 g/l

Zum Ansetzen der HEDLICH Algen-Nährlösung wurden zu einem Liter Aqua dest. jeweils 10 ml der Stammlösungen 1, 2 und 3 sowie 0,8 ml der Stammlösung 4 zugegeben.

Die Nährlösung wurde in Glasflaschen (Volumen 2 Liter) abgefüllt und anschließend autoklaviert. Nach dem Beimpfen mit *Desmodesmus subspicatus* erfolgte die Anzucht bei dauerhafter Beleuchtung und Belüftung (Abb. 7). Um die Hedlich-Algen-Nährlösung vor der Verfütterung zu entfernen, wurden die Algen zentrifugiert (10 min bei 4200 rpm => 3392 x g) und in M4-Medium resuspendiert.



Abb. 7: Zucht der Futteralgen (*Desmodesmus subspicatus*).

## 2.2 Giftstoffe (Modellsubstanzen)

Primär lassen sich bei den Insektiziden zwei neurotoxische Wirkweisen unterscheiden, wovon eine die Wirkung als Natriumkanal-Modulator ist. Spannungsaktivierte Natriumkanäle, die in den Membranen von Nervenzellen sehr zahlreich exprimiert sind, stellen Transmembranproteine dar, welche zur Zeit eines Ruhepotenzials geschlossen sind. Durch Änderungen des Potentialunterschieds zwischen den beiden Membranseiten kann die Konformation des Proteins geändert

werden, so dass die Kanäle für Natrium-Ionen durchlässig werden. Die aus dem Extrazellulärraum in die Zelle einströmenden Natrium-Ionen bewirken die Erniedrigung des Membranpotentials (Depolarisation), was letztlich bei Erreichen des Schwellenpotenzials zur Auslösung eines Aktionspotentials führt. Ohne die Einwirkung eines Toxins werden die Natriumkanäle innerhalb weniger Millisekunden wieder verschlossen (ECKERT & al. 1993). Natriumkanal-Modulatoren, wie Lindan und Cypermethrin, bewirken einen länger anhaltenden Einstrom von Natrium in die Nervenzelle, indem sie das Schließen der Natriumkanäle verzögern und führen so zu einer erhöhten Impulsrate (HASSALL 1982, EHC 82 1989).

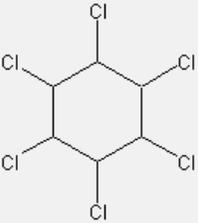
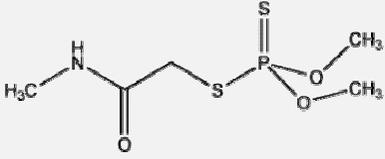
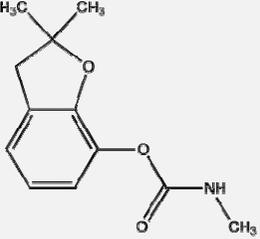
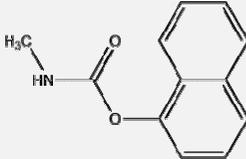
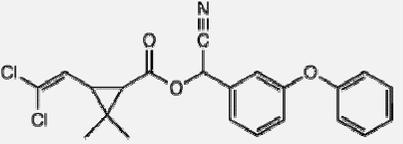
Demgegenüber stellen die meisten Vertreter der organischen Phosphorsäureester und Carbamate, zu denen die drei restlichen Modellsubstanzen zählen (Dimethoat, Carbofuran und Carbaryl), Inhibitoren der Acetylcholinesterase (AChE) dar. Der Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) wird zur Reizweiterleitung aus Vesikeln an den Nervenenden freigesetzt, bindet an Rezeptoren in der postsynaptischen Membran, wodurch Ionenkanäle aktiviert werden und ein postsynaptisches Aktionspotential entstehen kann. Zur Beendigung der Reizweiterleitung wird ACh durch AChE zu Cholin und Acetat hydrolysiert (ECKERT & al. 1993). Inhibitoren der AChE reagieren mit dem Enzym, unterbinden dadurch seine katalytische Wirkung, wodurch ACh als Transmitter aktiv bleibt und eine anhaltende Erregung der Nervenzelle bewirkt. Während zwischen Carbamaten und AChE eine reversible Komplexbildung vorliegt und das Substrat mit dem Inhibitor um die Bindung konkurriert, ist die Phosphorylierung zwischen AChE und organischen Phosphorsäureestern ungleich stabiler (FEST & SCHMIDT 1973, HASSALL 1982, EHC 64 1986, MORETTO & JOHNSON 1987). Daraus resultiert vielfach eine gegenüber den Carbamaten höhere Toxizität der organischen Phosphorsäureester.

Neben den beiden beschriebenen Wirkweisen als Natriumkanal-Modulator und AChE-Inhibitor gibt es zahlreiche weitere physiologische Angriffsstellen, welche für die Neurotoxizität der Insektizide entscheidend sein können. Beispielsweise ist für einige Natriumkanal-Modulatoren wie Lindan bekannt, dass sie die Rezeptoren

der  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA), dem wichtigsten inhibitorischen Neurotransmitter der Arthropoden und Vertebraten, beeinflussen können (ACKERBLOM 2004). Ähnliche Blockierungen der GABA-Rezeptoren, mit der Folge, dass der Chloridionentransport in die Nervenzelle blockiert wird, sind auch für einige Pyrethroide bekannt. Ebenso kann der Calciumionenstrom durch Pyrethroide gestört werden, beispielsweise durch die Inhibition des calciumbindenden Proteins Calmodulin (ACKERBLOM 2004). Ein weiterer Aspekt, der Einfluss auf die Toxizität besitzen kann, liegt in der Wirkweise von Zwischenprodukten, die bei der Metabolisierung der Toxine entstehen. Zwischenprodukte, die selbst wesentlich toxischer wirken als das eingesetzte Ausgangsprodukt, treten häufig beim Abbau organischer Phosphorsäureester durch Cytochrom P-450 Monooxygenase auf. So ermittelte HASSAN & al. (1969) für Dimethoxon, eine gegenüber dem Ausgangsprodukt Dimethoat, bis zu 100-fach stärkere Inhibition von AChE bei Versuchen mit Ratten (EHC 90 1989).

Kenndaten zu den fünf eingesetzten Insektiziden können Tabelle 3 entnommen werden. Für Lindan, Carbaryl und Cypermethrin war es aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit erforderlich, Aceton als Lösungsvermittler einzusetzen. Durch Vortests wurde dabei sichergestellt, dass bis zur maximal eingesetzten Acetonkonzentration (125  $\mu$ l/l im bbe-Daphnientoximeter bzw. 250  $\mu$ l/l im Driftmesser) der Lösungsvermittler alleine keinen messbaren Einfluss auf das Verhalten der Testorganismen hatte.

**Tab.: 3:** Kenndaten der eingesetzten Insektizide, entsprechend den Angaben in den Environmental Health Criteria (EHC) für Lindan (EHC 124 1991), Dimethoat (EHC 90 1989), Carbaryl (EHC 153 1994) und Cypermethrin (EHC 82 1989) sowie dem WHO- Datenblatt 56 für Carbofuran. Die Zulassung in Deutschland und die gewerblich eingesetzten Produkte sind der online Datenbank über zugelassene Pflanzenschutzmittel des Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit entnommen: [http://www.bvl.bund.de/cln\\_027/nn\\_492012/DE/04\\_Pflanzenschutzmittel/02\\_ZugelassenePflanzenschutzmittel/02\\_OnlineDatenbank/onlineDB\\_node.html\\_nnn=true](http://www.bvl.bund.de/cln_027/nn_492012/DE/04_Pflanzenschutzmittel/02_ZugelassenePflanzenschutzmittel/02_OnlineDatenbank/onlineDB_node.html_nnn=true)

	<b>Lindan</b>	<b>Dimethoate</b>	<b>Carbofuran</b>	<b>Carbaryl</b>	<b>Cypermethrin</b>
					
<b>Chemische Gruppe</b>	Chlorierter Kohlenwasserstoff	Organischer Phosphorsäureester	Carbamat	Carbamat	Pyrethroid
<b>Formel</b>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> C <sub>12</sub> NO <sub>3</sub>
<b>CAS-NO.:</b>	58-89-9	60-51-5	1563-66-2	63-25-2	52315-07-8
<b>Molekülmasse</b>	290,8 g/Mol	229,2 g/Mol	221,3 g/Mol	201 g/Mol	416,3 g/Mol
<b>Wasserlöslichkeit</b>	10 mg/L (20°C)	39 g/L (21°C)	700 mg/L (25°C)	40 mg/L (30°C)	9 µg/L (20°C)
<b>Persistenz</b>	Persistenz sehr hoch Halbwertszeit in Teichwasser ca. 50 d, in A. dest. sehr stabil keine Photolyse hohe Adsorption Sediment	Persistenz gering Halbwertszeit in Flusswasser ca. 8 d Photolyse vernachlässigbar schlechte Adsorption Sediment	Persistenz mäßig Halbwertszeit in Wasser pH abhängig => pH7 ca. 8 Wochen Photolyse gering	Persistenz gering Halbwertszeit in Wasser pH abhängig => pH7 ca. 10 d Photolyse gering	Persistenz mäßig Halbwertszeit in Wasser pH abhängig => pH7 ca. 50 d photolyseempfindlich hohe Adsorption Sediment
<b>Zulassung Deutschland</b>	nein seit 2002	ja	ja	nein seit 1986	ja
<b>Produkte Deutschland (gewerblicher Einsatz)</b>		Bi 58 / Danadim Progress / Roxion / Jaguar / Perfekthion / Rogor 40L	Carbosip		IRO / Fastac SC Super Contact
<b>Wirkweise</b>	Natriumkanal-Modulator	AChE-Inhibitor	AChE-Inhibitor	AChE-Inhibitor	Natriumkanal-Modulator
<b>Eingesetzte Substanzen von Sigma-Aldrich GmbH</b>	Produktnr.: 45548 Batch: 2274x	Produktnr.: 45449 Batch: 3209x	Produktnr.: 45370 - 10187051 Batch: 3036x	Produktnr.: 45367 Batch: 3268x	Produktnr.: 36128 Batch: 3023x

## 2.3 Messtechnik

### 2.3.1 bbe-Daphnientoximeter

Das bbe-Daphnientoximeter wird als kontinuierliches Biotestgerät von der Firma bbe-Moldaenke mit Sitz in Kiel vertrieben. Als Testorganismus ist der Große Wasserfloh *Daphnia magna* vorgesehen. Die Methodik basiert auf der Beobachtung des Schwimmverhaltens der Tiere, welches mittels Videokamera aufgezeichnet wird.

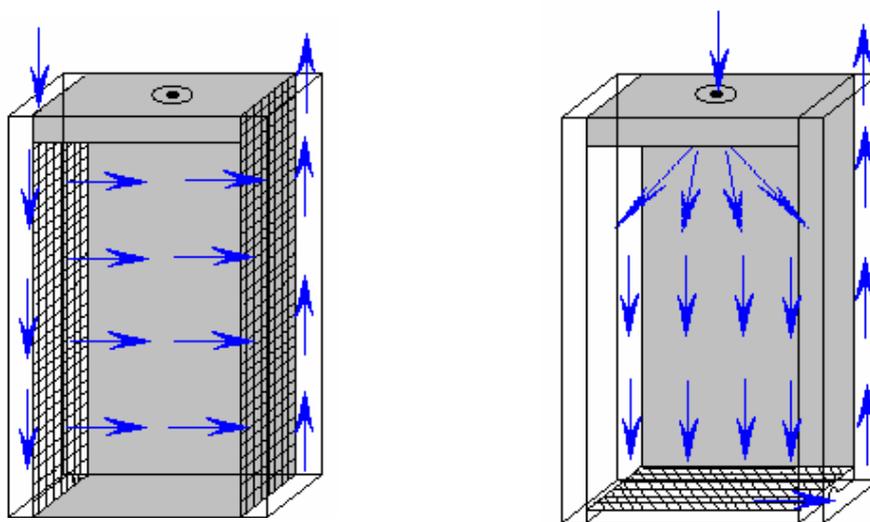
#### 2.3.1.1 Geräteaufbau



**Abb. 8:** Frontansicht des bbe-Daphnientoximeter. 1= LCD- Farbdisplay, 2 = Algenfermenter, 3 = Dosierpumpen für Futteralgen und Algennährlösung, 4 = Probenwasserpumpe, 5 = Peltierelemente, 6 = Gehäuse der Messkammern

Mit Hilfe einer Schlauchpumpe wird das Testwasser kontinuierlich durch die Messkammern gepumpt. Vor dem Durchfluss durch die Messkammern erfolgt die Temperierung des Wassers auf 20 °C mittels Peltierelementen. Die an die Wärmetauscherblöcke der Peltierelemente abgegebene Wärme oder Kälte wird durch einen externen Wasserstrom abgeführt. Um eine gleichbleibende Konstitution der Testorganismen während des gesamten Messzeitraums zu gewährleisten, ist eine regelmäßige Zufütterung von Algen aus einem eingebauten Fermenter vorgesehen (Abb. 8).

Als Messkammer dienen Glasküvetten (7 cm hoch, 5 cm breit und 2,5 cm tief) mit Kunststoff-Einsätzen, in die ca. 10 Tiere eingesetzt werden. Die Kunststoffeinsätze limitieren den Schwimmraum auf 5,4 cm Höhe, 3 cm Breite und 1 cm Tiefe. Es standen zwei verschiedene Typen von Küvetteneinsätzen zur Verfügung, die in unterschiedlicher Weise vom Probenwasser durchflossen werden (Abb. 9 Durchfluss grob schematisch). Mit beiden Typen von Küvetteneinsätzen wurden Durchflusstests durchgeführt. Für die Giftstoffuntersuchungen wurden Küvetteneinsätze des Typ-A verwendet. Um eine für die Videoaufzeichnung ausreichende Beleuchtung der Tiere zu gewährleisten, war es für Untersuchungen mit *E. vulgaris* erforderlich die beidseitig angebrachte Metallgaze gegen eine Kunststoffgaze (Maschenweite 335 µm) zu ersetzen.



**Abb. 9:** Darstellung der beiden Typen von Küvetteneinsätzen (Typ-A links und Typ-B rechts).

Das Gerät ist als ein- oder zweikanalig Ausführung erhältlich. Für die vorliegende Arbeit kam die zweikanalige Geräteversion zum Einsatz, somit wurden immer zwei Testansätze (Küvetten) parallel (im einminütigen Wechsel) aufgenommen und ausgewertet.

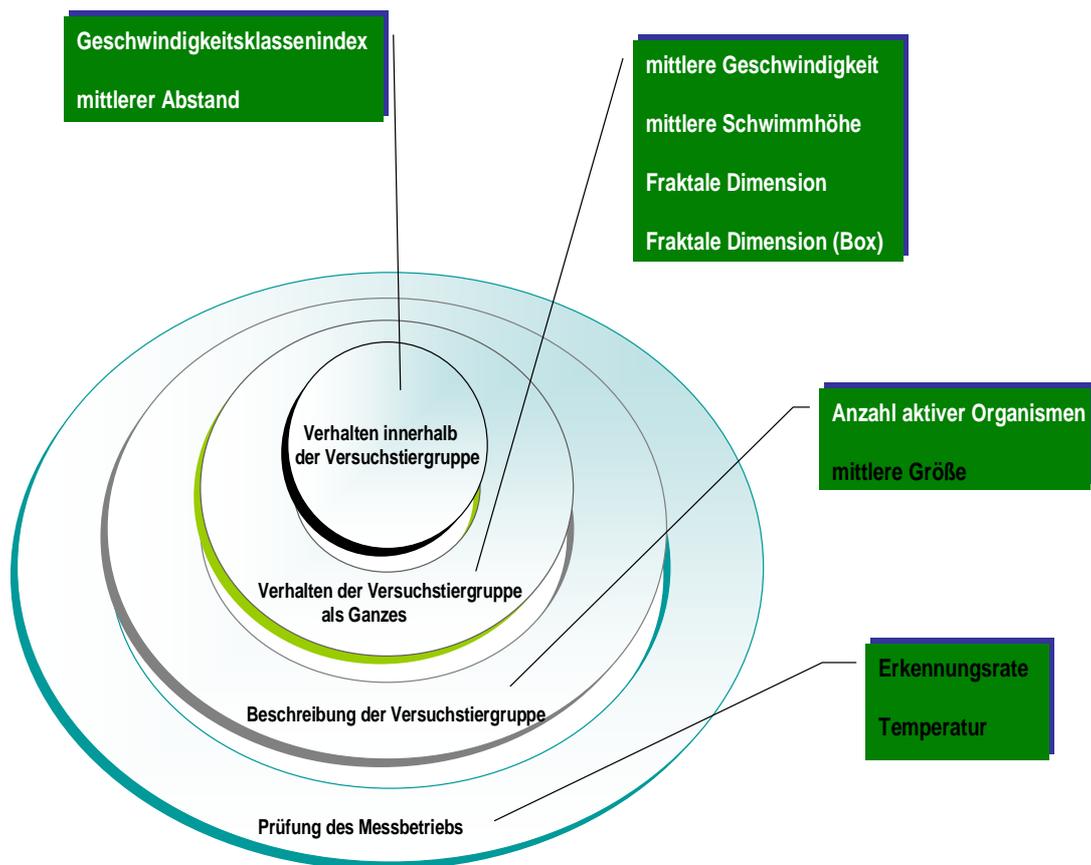
Um die Bildaufnahme der Videokamera zu ermöglichen, sind zur gleichmäßigen Ausleuchtung beiderseits der Messkammern Reihen mit Infrarot-Leuchtdioden angebracht. Dieses Infrarotlicht ( $\lambda > 700 \text{ nm}$ ) wird von den Testorganismen nicht wahrgenommen. Zur Orientierung der vom Tageslicht abgeschlossenen Testorganismen sind oberhalb der Messkammern jeweils drei gelbe Leuchtdioden ( $\lambda = 590 \text{ nm}$ ) angebracht.

### 2.3.1.2 Datenaufnahme

Das von einer Videokamera aufgenommene Küvettenbild mit den schwimmenden Daphnien wird mit Hilfe einer so genannten Frame-Grabber-Karte in ein Pixelbild umgewandelt. Um störende Elemente wie z. B. Verunreinigungen zu eliminieren, erfolgt ein Hintergrundabzug. Die Differenz zwischen Originalbild und Hintergrundabzug wird binärisiert, das heißt aus einem Graustufenbild ein reines schwarz/weiß Bild erzeugt. Um die derart bearbeiteten Einzelbilder einer Messreihe in Bezug miteinander zu setzen, erfolgt die so genannte Blobanalyse, bei der jedem Objekt eine Fläche und ein Schwerpunkt zugeordnet werden, so dass eine dreidimensionale Beobachtungsebene entsteht. Ortsveränderungen der Testorganismen können dadurch verfolgt und als Schwimmbahn für jedes Tier dargestellt werden. Diese Schwimmbahnen sind die Grundlage für die Berechnung verschiedener Verhaltensparameter.

Bei der Messung im bbe-Daphnientoximeter werden 10 unterschiedliche Parameter aufgezeichnet, wovon drei als Kontrollparameter angesehen werden können. Hierzu zählt die **Temperatur** des Probenwassers, die im störungsfreien Betrieb konstant bei 20°C liegt. Schwankungen der Temperatur weisen auf Defekte, beispielsweise Störungen des Probenflusses hin und haben direkten Einfluss auf das Verhalten der

Testorganismen. Ein weiterer Kontrollparameter ist die **Erkennungsrate**, die den prozentualen Anteil an erkannten Punkten der Schwimmbahnen wiedergibt und damit ein Maß für die statistische Zuverlässigkeit der Messergebnisse ist. Darüber hinaus ermöglicht der Parameter **mittlere Größe** Rückschlüsse über das Wachstum der Daphnien und kann damit Hinweise über die Konstitution der Testorganismen geben.



**Abb. 10:** Kategorisierte Darstellung der vom bbe-Daphnientoximeter aufgenommenen Parameter. Parameter mit weißer Schriftfarbe können einer Alarmbewertung zugeführt werden.

Die anderen 7 Parameter können zur toxischen Bewertung des Probenwassers herangezogen werden (Abb. 10). Dazu zählt im Sinne eines Immobilisierungs- oder Mortalitätskriteriums der Verlust an Testorganismen, festgehalten durch den Parameter **Anzahl aktiver Organismen**, sowie 6 Verhaltensparameter, die sich aus den Schwimmbahnen berechnen. Zu den Verhaltensparametern zählen die **mittlere Schwimmgeschwindigkeit** (cm/s), die **mittlere Schwimmhöhe** (cm) und die

Kurvigkeit der Schwimmbahnen (D), wobei letztere von der Software auf zwei verschiedene Arten berechnet werden kann (**Fraktale Dimension** und **Fraktale Dimension Boxcounting**). Dazu kommen zwei weitere Verhaltensparameter, die im Gegensatz zu den bereits genannten nicht das Verhalten der Versuchstiergruppe als Ganzes sondern Unterschiede innerhalb der Versuchstiergruppe beschreiben. Hierzu zählt der **mittlere Abstand** (cm) zwischen den Tieren, ein Parameter, der das Gruppenverhalten der Daphnien wiedergeben soll und der **Geschwindigkeitsklassenindex (GKI)**. Beim Geschwindigkeitsklassenindex handelt es sich um ein Maß, mit dem die nicht als Einzelwert darstellbare Verteilung unterschiedlicher Schwimgeschwindigkeiten innerhalb der Testtiergruppen, indirekt gemessen werden kann. Das Grundprinzip des Geschwindigkeitsklassenindex basiert auf der Aufsummierung des prozentualen Anteils an auffällig schnellen und langsamen Tieren. Was als auffällig gewertet wird hängt, von der gewählten Geräteeinstellung ab.

Zur Vereinfachung wird in den folgenden Abschnitten auf die Bezeichnung mittlere bei den Parametern mittlere Schwimgeschwindigkeit, mittlere Schwimmhöhe und mittlerer Abstand verzichtet.

### 2.3.1.3 Geräteinterne Datenauswertung

Durch die einzelnen für die Verhaltensparameter aufgenommenen Datenpunkte wird nach einer Mittelung über eine festzulegende Anzahl zurückliegender Datenpunkte (Fittmesspunkte) eine Kurve gelegt (Abb. 11). Veränderungen, die im weiteren Kurvenverlauf eine Bewertungsgrenze überschreiten, werden durch Alarmalgorithmen erkannt. Bewertungsgrenzen können für die Steigung der Kurve festgelegt werden, wobei eine Grenze für kurzfristige und eine für langfristige Steigungen angegeben werden kann. Zusätzlich können die Kurven, mit dem adaptiven Hinkleydetektor auf plötzlich auftretende Sprünge untersucht werden. Beim adaptiven Hinkleydetektor handelt es sich um eine Dynamisierung des klassischen Hinkleydetektors, wodurch der Einsatz bei driftenden Datenreihen ermöglicht wird.

Der klassische Hinkleydetektor berechnet sich nach drei Formeln.

Formel 1: 
$$g(t) = g(t-1) + z(t) - (\mu_1 + \mu_0)/2$$

Formel 2: 
$$g(t) = \begin{cases} g(t) & \text{wenn } g(t) \geq 0 \\ 0 & \text{wenn } g(t) < 0 \end{cases}$$

Formel 3: 
$$g(t) \geq \lambda \Rightarrow \text{Alarm}$$

$g(t)$  = Hinkley-Summe zum Zeitpunkt  $t$

$z(t)$  = Messwert zum Zeitpunkt  $t$

$\mu_0$  = Ausgangsniveau

$\mu_1$  = Sprungniveau

$\lambda$  = Alarmgrenze

Nach jeder Aufnahme eines neuen Messwertes ( $z$ ) zum Zeitpunkt  $t$  wird  $g(t)$  nach Formel 1 berechnet. Findet kein signifikanter Sprung statt, führt der Abzug des halben Sprunges  $(\mu_1 + \mu_0)/2$  zu Werten für  $g(t) < 0$  und  $g(t)$  erhält nach Formel 2 den Wert 0. Findet ein signifikanter Sprung statt, so kann selbst der Abzug des halben Sprunges  $(\mu_1 + \mu_0)/2$  den Anstieg von  $g(t)$  auf Werte  $\geq 0$  nicht verhindern, somit erhält  $g(t)$  nach Formel 2 einen positiven Wert. Überschreitet der Wert für  $g(t)$  die festgelegte Alarmgrenze  $\lambda$  wird nach Formel 3 ein Hinkleyalarm ausgegeben.

Die im bbe-Daphnientoximeter aufgezeichneten Verhaltensparameter unterliegen dynamischen Veränderungen, so dass hier weder das Ausgangsniveau ( $\mu_0$ ) noch das Sprungniveau ( $\mu_1$ ) konstant ist. Um diese Daten dennoch mit Hilfe des Hinkleydetektor auf Sprünge untersuchen zu können, wurde der Hinkleydetektor adaptiert. Sprungniveau und Ausgangsniveau sind danach wie folgt definiert:

Formel 4:  $\mu_0 = 0$

Formel 5:  $\mu_1 = k \times \sigma \times \text{Sprunghöhe}$

**k** = Proportionalitätskonstante => willkürlich auf 20 festgelegt

**$\sigma$**  = Standardabweichung der letzten Messpunkte (Anzahl Werte als Fitnesspunkte einstellbar)

**Sprunghöhe** = empirisch ermittelt und für jeden Parameter einstellbar

Das Festsetzen des Ausgangsniveaus ( $\mu_0$ ) auf 0 entspricht einem Driftabzug und die Berücksichtigung der Standardabweichung ( $\sigma$ ) vorangegangener Messpunkte für die Berechnung des Sprungniveau ( $\mu_1$ ) verhindert Fehllarme bei stark rauschenden Daten.

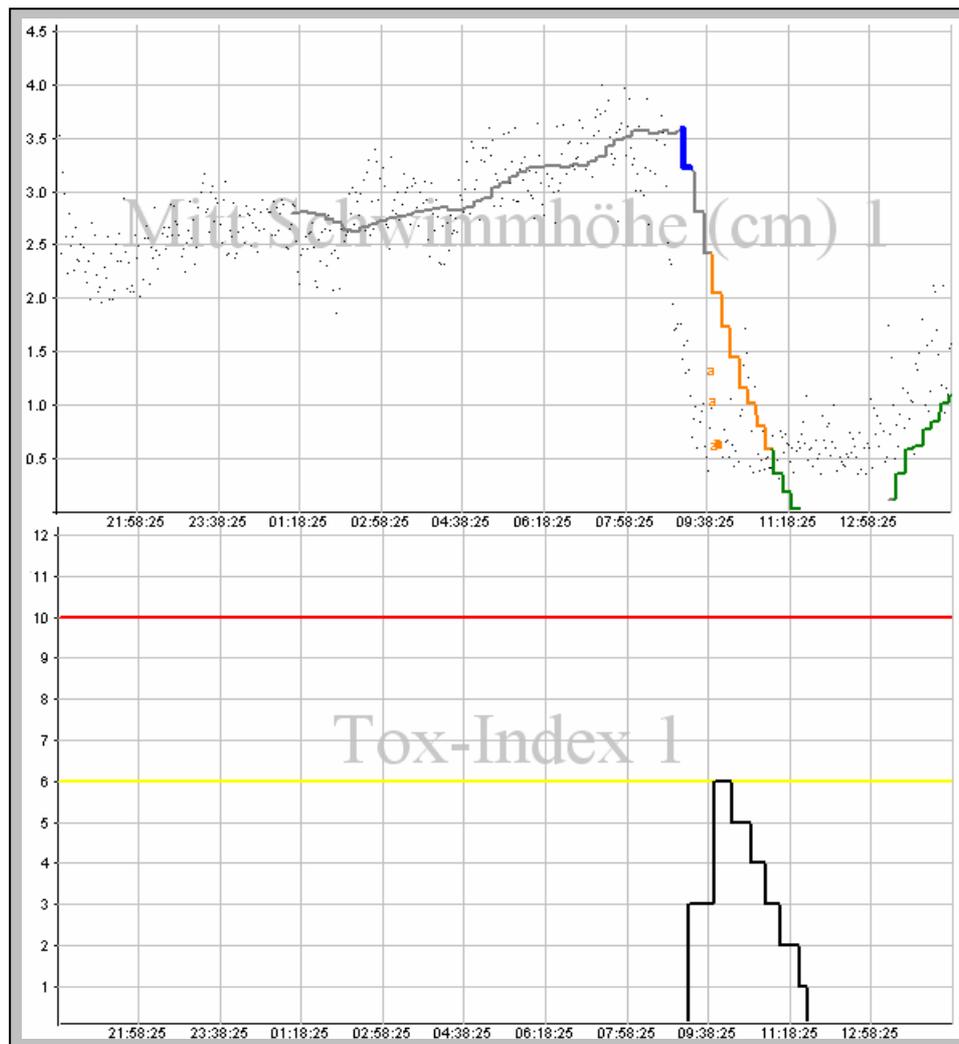
Die Alarmgrenzen ( $\lambda$ ) sind über den so genannten Hinkleyfaktor für jeden Parameter einstellbar. Dabei gilt:

Formel 6:  $\lambda = k_\lambda \times \text{Hinkleyfaktor}$

**$k_\lambda$**  = Proportionalitätskonstante => willkürlich auf 200 festgelegt

**Hinkleyfaktor** = empirisch ermittelt und für jeden Parameter einstellbar

Von den Alarmalgorithmen der Steigungs- und Sprungerkennung (Hinkley) detektierte Verhaltensänderungen werden im Kurvenverlauf farbig markiert und können mit einer festzulegenden Anzahl so genannter Alarmpunkte belegt werden (Abb. 11). Zusätzlich zu den Verhaltensparametern kann der Verlust an aktiven Testorganismen mit Alarmpunkten belegt werden. Aus der Aufsummierung aller innerhalb eines definierten Zeitfensters vergebenen Alarmpunkte resultiert der Toxische Index. Überschreitet der Toxische Index eine zuvor festgelegte Grenze an Alarmpunkten, im Beispiel von Abbildung 11 sind dies 10 Punkte, so wird ein Alarm vom Gerät ausgegeben. Bei zweikanaligen Geräten kann darüber hinaus angegeben werden, ob der Alarm in einem Kanal als Gesamtalarm ausreicht oder die Alarmierung erst im Falle eines Doppelalarms ausgegeben wird (Abb. 12).



**Abb. 11:** Detektion der Algorithmen am Beispiel des Parameters Schwimmhöhe (oben). Zu sehen sind die einzelnen Messpunkte und die anhand der eingestellten Vorlaufzeit (Fitnesspunkte) ermittelte Trendkurve. Von den Algorithmen detektierte Auffälligkeiten im Kurvenverlauf sind farblich markiert. Blau steht für einen Hinkleyalarm, Orange für einen kurzfristigen Steigungsalarm und Grün für einen langfristigen Steigungsalarm. Die in diesem Beispiel vergebenen Alarmpunkte (je 3 für Steigung bzw. Hinkley) werden im Toxischen Index (unten) aufsummiert und erreichen, den bei der gewählten Geräteeinstellung maximalen Wert für den Parameter Schwimmhöhe von 6 Alarmpunkten, was der Stufe eines Voralarmes (gelbe Linie) entspricht.

### 2.3.1.4 Software und Geräteeinstellungen

Die Belegung der Parameter für den Toxischen Index (Abb. 12) und die Einstellungen der Algorithmen (Tab. 4) erfolgten in Anlehnung an den Messbetrieb in der Rheingütemessstation Karlsruhe. Der Parameter Fraktale Dimension Boxcounting wurde nicht bewertet, da es sich hierbei um eine andere Berechnungsvariante des bereits in der Bewertung berücksichtigten Parameters Fraktale Dimension handelt.

Bewertung von	Punkte	Nachlauf
Initiale Anz. d. Organismen 1: <input type="text" value="10"/>	0 pro Organismus	
Initiale Anz. d. Organismen 2: <input type="text" value="10"/>	1 pro Organismus	<input type="text" value="60"/> min
Abfall unter <input type="text" value="3"/> Organismen erzeugt	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="30"/> min
 Hinkley / Steigungsalarms für	Hinkley	Hinkley
	Steigung	Steigung
	Geschwindigkeit: <input type="text" value="4"/> / <input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="240"/> / <input type="text" value="240"/> min
	Fraktale Dimension: <input type="text" value="1"/> / <input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="90"/> / <input type="text" value="30"/> min
	Fraktale Dim. (Box): <input type="text"/> / <input type="text"/>	<input type="text"/> / <input type="text"/> min
Geschw.Klassenindex: <input type="text" value="3"/> / <input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="60"/> / <input type="text" value="120"/> min	
Schwimmhöhe: <input type="text" value="3"/> / <input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="120"/> / <input type="text" value="100"/> min	
Mittlerer Abstand: <input type="text" value="3"/> / <input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="60"/> / <input type="text" value="30"/> min	
Bewertungsgrenzen:		Vorlaufzeit ohne Alarm: <input type="text" value="0"/> min
Grenze für Gelb-Alarm: <input type="text" value="6"/> <span style="color: yellow;">●</span>	Grenze für Rot-Alarm: <input type="text" value="10"/> <span style="color: red;">●</span>	
Modus der Verknüpfung der Kanäle: <input checked="" type="radio"/> UND [erst Rot1+Rot2 = RotGesamt] <input type="radio"/> ODER [Rot1 oder Rot2 = RotGes.]		

**Abb. 12:** Die Abbildung gibt die bei den Messungen zugrunde gelegten Auswertmodi für den Toxischen Index wieder. Angegeben sind die bei Tierverlusten und Auffälligkeiten in den Verhaltensparametern (Hinkley- und Steigungsalarms) zu vergebenden Alarmpunkte und die dazugehörigen Nachlaufzeiten. Nachlaufzeiten sind die Zeiträume, in denen sich einmal vergebene Alarmpunkte sukzessiv wieder abbauen. Darüber hinaus finden sich im unteren Abschnitt der Abbildung die Bedingungen, die zur Ausgabe eines Alarms führen (Bewertungsgrenzen und Verknüpfung der Kanäle).

**Tab. 4:** Auflistung der verwendeten Einstellungen für die Berechnungen der Alarmalgorithmen.

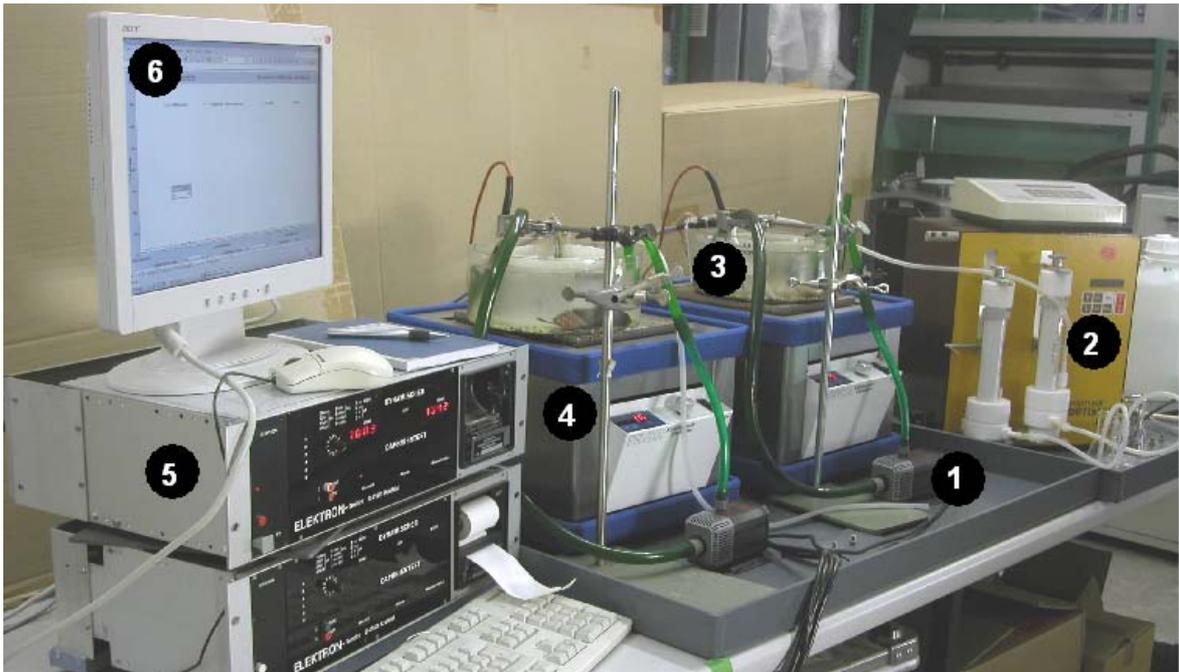
	Steigung 1	Steigung 2	Hinkley
<b>Schwimmgeschwindigkeit</b>	Fitnesspunkte 20 Steigungsgrenze 0,36	Fitnesspunkte 51 Steigungsgrenze 0,5	Fitnesspunkte 27 Sigma Koeffizient 3 Sprunghöhe 1,2 Hinkleyfaktor 0,8 Hinkley 50 v
<b>Schwimmhöhe</b>	Fitnesspunkte 24 Steigungsgrenze 0,36	Fitnesspunkte 51 Steigungsgrenze 0,2	Fitnesspunkte 27 Sigma Koeffizient 3 Sprunghöhe 1,1 Hinkleyfaktor 1
<b>Fraktale Dimension</b>	Fitnesspunkte 24 Steigungsgrenze 0,36	Fitnesspunkte 51 Steigungsgrenze 0,2	Fitnesspunkte 27 Sigma Koeffizient 3 Sprunghöhe 1,1 Hinkleyfaktor 0,8
<b>Abstand</b>	Fitnesspunkte 24 Steigungsgrenze 0,36	Fitnesspunkte 51 Steigungsgrenze 0,2	Fitnesspunkte 27 Sigma Koeffizient 3 Sprunghöhe 1,1 Hinkleyfaktor 0,9
<b>Geschwindigkeits-Klassenindex (GKI)</b>	Fitnesspunkte 27 Steigungsgrenze 0,36	Fitnesspunkte 51 Steigungsgrenze 0,2	Fitnesspunkte 27 Sigma Koeffizient 3 Sprunghöhe 1,1 Hinkleyfaktor 0,8

Für die Datenaufnahme kamen die Software Versionen 1.50 Rev 20, 1.50 Rev 23p3imono und 2.02. Rev 1/2k/p3imono zum Einsatz. Laut Hersteller sind die mit den unterschiedlichen Software Versionen aufgenommenen Daten ohne Einschränkungen miteinander vergleichbar. Die Auswertung der Messdaten erfolgte mit dem Dviewer Version 2.02 Rev 6/2k, einer offline Version des Daphnientoximeter-Programms. Der Geschwindigkeitsklassenindex wurde mit der Einstellung classic (oberer Grenzwert 0,8, unterer Grenzwert 0,2) ausgewertet.

### **2.3.2 Driftmesser**

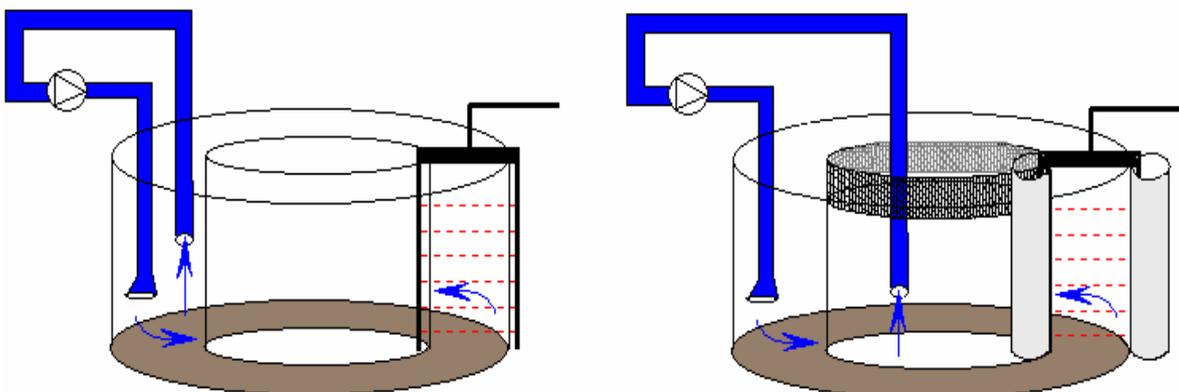
#### **2.3.2.1 Geräteaufbau**

Beim Driftmesser handelt es sich um den Prototyp eines Testgerätes, das mit Hilfe von Lichtschrankentechnik driftende Gammariden zählt (Abb. 13). Das Versuchsbecken bestand aus zwei ungleich großen (Innendurchmesser 13,5 cm und 22,5 cm) ineinander gefügten Abdampfschalen, so dass nach Befüllung mit Wasser eine ringförmige Versuchsrinne entstand. Der Boden der Versuchsrinne wurde mit einer Kieselmatte ausgelegt. Eine externe Kreiselpumpe erzeugte eine Wasserströmung von ca. 15-20 cm/s. Um eine konstante Versuchstemperatur von 17°C zu gewährleisten, standen die Versuchsbecken auf Kühlplatten. Zur Fütterung wurde unter dem Temperaturfühler ein vorkonditioniertes Erlenblatt (vgl. 2.1.2.3) eingeklemmt. Die Detektion driftender Tiere erfolgte mit Hilfe eines Lichtgitters, bestehend aus 6 Sender- / Empfängereinheiten. Die Impulse der Lichtschranke wurden in die Steuereinheit eines ausgedienten Dynamischen-Daphnientests eingelesen, von wo sie im 2 Minuten-Intervall über ein Excelmakro (vgl. 2.3.2.2) wieder ausgelesen wurden.



**Abb. 13:** Aufbau des Driftmessers. 1= Kreislumppe, 2 = Dosimat, 3 = Versuchsbecken, 4 = Kühlplatten, 5 = Steuereinheit eines Dynamischen-Daphnientest, 6 = Bildschirm (dazugehöriger Rechner unter dem Tisch ist nicht zu sehen).

Es kamen zwei unterschiedliche Bauweisen der Versuchsbecken zum Einsatz (Abb. 14). Typ-A hatte den Nachteil, dass sich die Gaze an der Pumpenansaugung, welche das Einsaugen von Versuchstieren verhinderte, sehr schnell mit Partikeln zusetzte. Darüber hinaus kam es zur Korrosion an der gegen Kondenswasser ungeschützten Lichtschrankenelektronik. Mittels Überlauf über eine Gaze in den Innenraum traten beim Typ-B keine Schwierigkeiten mit der Ansaugung des Probenwassers auf. Die Elektronik, die jetzt im Wasser des Innenraums versenkt lag, wurde zum Schutz in einem Glasröhrchen untergebracht.



**Abb. 14:** Darstellung der beiden unterschiedlich aufgebauten Typen von Versuchsbecken (Typ-A links und Typ-B rechts).

### 2.3.2.2 Geräteinterne Datenauswertung

Zur Auswertung der Driftdaten wurde eine Excelmakro verwendet, wie es in abgewandelter Form für den DF-Algentest der Rheingütemessstation Karlsruhe eingesetzt wird (MARTEN 2003). Zur Bewertung der Messdaten kann eine empirisch zu ermittelnde statische Alarmgrenze eingestellt werden. Für den Driftmesser wurde die statische Alarmgrenze auf 20 Impulse je 2 Minuten Messzeitraum festgelegt. Dargestellt wird die statische Alarmgrenze als gestrichelte kräftige rote Linie. Darüber hinaus verfügt das Programm über eine dynamische Alarmberechnung, die sich aus einer Gelbalarmgrenze (Mittelwert + 3fache Standardabweichung) und einer Rotalarmgrenze (Mittelwert + 4fache Standardabweichung) zusammensetzt. Die dynamischen Alarmgrenzen werden jeweils als dünne gelbe bzw. rote Linie dargestellt. Um in der Gesamtbewertung einen Alarm zu erhalten muss die dynamische Gelbalarmgrenze siebenmal in Folge überschritten werden, oder die statische Alarmgrenze dreimal in Folge, oder die dynamische Rotalarmgrenze dreimal in Folge. Die Impulsraten werden als Säulendiagramme dargestellt und entsprechend des Alarmstatus mit den Farben hellblau (Normal), gelb (Voralarm) und rot (Alarm) ausgefüllt.

### 2.3.3 Chemische Analytik

Um sicherzustellen, dass die eingewogenen Mengen an Feststoff den Konzentrationen in der Lösung entsprachen und zur Quantifizierung etwaiger adsorbativer Verluste während der Messung, wurden vor und nach 4,5 Stunden Messbetrieb im bbe-Daphnientoximeter, exemplarisch für jeden Wirkstoff chemische Analysen beauftragt. Die Durchführung der Analysen fand im Chemielabor der LfU in Karlsruhe statt. Die Messungen von Lindan, Dimethoat und Cypermethrin erfolgten mittels GC-MS und die von Carbofuran und Carbaryl mittels HPLC. Mit einer Ausnahme (Cypermethrin) waren, für die auf Spurenanalytik ausgerichteten Messverfahren, hohe Verdünnungsstufen (Lindan 1/3333, Dimethoat 1/10000, Carbaryl und Carbofuran 1/200) erforderlich.

## **2.4 Durchführung der Messungen**

### **2.4.1 bbe-Daphnientoximeter – Durchflussuntersuchungen**

In ein Vorratsgefäß (2 Liter Becherglas) wurde ein Liter schwach salzsaure Lösung gegeben und mit einigen Tropfen Bromthymolblau angefärbt (gelb). In 10 ml Spritzen wurde 0,005 molare NaOH eingefüllt und die Kanülen in unmittelbarer Nähe des jeweiligen Zulaufs platziert. Dazu konnten bei den Typ-A Küvetten-einsätzen (Abb. 9) die Kanülen über den Zulaufschlauch in die Messkammer eingeführt werden, während es bei den Typ-B Küvetten-einsätzen (Abb. 9) erforderlich war, die Spritzen mittels Heißkleber an der Position des Temperaturfühlers anzubringen. Die Rückwände der Küvetten-einsätze waren vor den Untersuchungen mit weißer Plastikfolie ausgekleidet worden, um einen optimalen Farbkontrast zu gewährleisten. Zu Versuchsstart wurde jeweils 1 ml NaOH-Lösung in jede Küvette zugegeben, damit die Durchmischung des Probenwassers anhand der pH-Wert Veränderung (blau/gelb) beobachtet werden konnte. Die Versuche wurden mittels Digitalkamera als einminütige Videosequenzen festgehalten.

### **2.4.2 bbe-Daphnientoximeter – Giftstofftests**

Da sich die Pumpenleistung mit dem Alter der Pumpenschläuche verändert und nur die Drehzahl der Pumpe als prozentuale Pumpenleistung einstellbar war, wurde die Pumpenleistung wöchentlich bzw. nach jedem Schlauchwechsel durch Litern auf eine Durchflussmenge von 3 Liter pro Stunde eingestellt. Im Messbetrieb werden üblicherweise Silikonverschlauchungen verwendet. Damit bei den durchgeführten Giftstofftests Verluste durch Adsorption möglichst gering blieben, wurden die Silikonschläuche durch Teflonschläuche ersetzt. Das Gerät wurde am Tag vor dem Versuch mit neuen Testorganismen (ca. 10 Tiere / Küvette) bestückt und im Kreislauf mit 5 Litern M4-Medium, das mit Futteralgen angereichert wurde, gestartet. Die Zufütterung von Algen aus dem im Gerät integrierten Algenfermenter blieb deaktiviert, um das im Kreislauf befindliche Testwasser nicht kontinuierlich mit Futteralgen anzureichern. Unmittelbar vor Versuchsbeginn wurde 1 Liter M4-Medium aus dem 5 Liter Vorratsgefäß entnommen, um die zu testende

## Material & Methoden

Giftstofflösung anzusetzen (Tab. 5). Vor Versuchsstart wurde das Vorratsgefäß durch das mit Giftstoff versetzte M4-Medium (1 Liter) ersetzt. Um einen Verdünnungseffekt durch noch im Gerät befindliches M4-Medium zu vermeiden, wurden nach dem Start der Giftstoffmessung die ersten 250 ml des Ablaufs aus dem Kreislauf entnommen. Nach Beendigung der Messung, also frühestens 4,5 Stunden nach Versuchsstart, wurde das Gerät einige Minuten mit Alkohol und anschließend für mindestens eine Stunde mit destilliertem Wasser gespült. Für jede Giftstoffkonzentration wurden fünf Messungen durchgeführt, so dass 10 Datensätze (zwei Kanäle) je Konzentration aufgenommen wurden.

**Tab.: 5:** Für die Messungen mit dem bbe-Daphnientoximeter angesetzte Lösungen.

Insektizid	Vorgelöst in Aceton	Stammlösungen	Testlösung	
			Konz.	in 1 L. M4
<b>Lindan</b>	Einwaage: 20 mg gelöst in: 0,5 ml Aceton <b>Konz. St. I: 40g/l</b>	aus St. I : 75 µl / 1 M4 <b>Konz. St. II: 3 mg/L</b>	<b>30 µg/L</b> <b>75 µg/L</b> <b>150 µg/L</b> <b>300 µg/L</b>	10 ml St. II 25 ml St. II 50 ml St. II 100 ml St. II
		aus St. I 125 µl / 1 M4 <b>Konz. St. III: 5 mg/L</b>	<b>1000 µg/L</b> <b>3000 µg/L</b> <b>5000 µg/L</b>	333 ml St. II pur St. II pur St. III
<b>Dimethoat</b>		Einwaage: ≥ 10 mg (ca. 20 min. rühren)	<b>0,15 mg/L</b> <b>0,3 mg/L</b> <b>1 mg/L</b> <b>3 mg/L</b> <b>5 mg/L</b>	15 ml St. I 30 ml St. I 100 ml St. I 300 ml St. I 500 ml St. I
		gelöst in: 1 Liter M4 <b>Konz. St. I: 10 mg/L</b> <b>Konz. St. II: 20 mg/L</b> <b>Konz. St. III: 40 mg/L</b> <b>Konz. St. IV: 120 mg/L</b>	<b>10 mg/L</b> <b>20 mg/L</b> <b>40 mg/L</b> <b>120 mg/L</b>	pur St. I pur St. II pur St. III pur St. IV
<b>Carbofuran</b>		Einwaage: 10 mg (ca. 24 h rühren)	<b>50 µg/L</b> <b>100 µg/L</b> <b>150 µg/L</b> <b>300 µg/L</b> <b>600 µg/L</b>	5 ml St. I 10 ml St. I 15 ml St. I 30 ml St. I 60 ml St. I
		gelöst in: 1 Liter M4 <b>Konz. St. I: 10 mg/L</b>	<b>10 mg/L</b>	
<b>Carbaryl</b>	Einwaage: 20 mg gelöst in: 0,5 ml Aceton <b>Konz. St. I: 40g/l</b>	aus St. I : 125 µl / 1 M4 <b>Konz. St. II: 5 mg/L</b>	<b>12,5 µg/L</b> <b>25 µg/L</b> <b>50 µg/L</b> <b>100 µg/L</b> <b>150 µg/L</b> <b>200 µg/L</b> <b>400 µg/L</b> <b>3200 µg/L</b>	2,5 ml St. II 5 ml St. II 10 ml St. II 20 ml St. II 30 ml St. II 40 ml St. II 80 ml St. II 240 ml St. II
		aus St. I : 100 µl / 1 M4 <b>Konz. St. II: 100 µg/L</b>	<b>0,1 µg/L</b> <b>0,25 µg/L</b> <b>0,5 µg/L</b> <b>1 µg/L</b> <b>2 µg/L</b> <b>4 µg/L</b> <b>16 µg/L</b> <b>32 µg/L</b>	1 ml St. II 2,5 ml St. II 5 ml St. II 10 ml St. II 20 ml St. II 40 ml St. II 160 ml St. II 320 ml St. II

### 2.4.3 Driftmesser – Giftstofftests

Die Versuchsbecken wurden mit Wasser aus der Hälterung befüllt und mit jeweils 20 Testorganismen (Größe ca. 1 cm) bestückt. Zur Fütterung wurde ein Erlenblatt unter dem Temperaturfühler festgeklemmt. Das Gift wurde bei Versuchsstart langsam in die Becken geträufelt, beim Aufbau vom Typ-B (Abb. 14) geschah dies in die Überlaufschale und bei den Messungen mit dem Aufbau vom Typ-A (Abb. 14) direkt in die Versuchsrinne, unter Zuhilfenahme eines Dosimaten. Nach Beendigung der Messung, wurden die Becken mit Spülmittel gereinigt und mehrfach mit Wasser ausgespült. Die Reinigung der Pumpen erfolgte im mindestens einstündigen Betrieb mit Leitungswasser. 10 Liter Leitungswasser, wurden während der Reinigungsdauer mindestens dreifach erneuert. Für jede Giftstoff-Konzentration wurden zwei Doppelmessungen durchgeführt, so dass 4 Datensätze je Konzentration aufgenommen wurden.

**Tab.: 6:** Für die Messungen mit dem Driftmesser angesetzte Lösungen.

Insektizid	Vorgelöst in Aceton	Stammlösungen	Testansätze	
			Konz.	pro Liter
<b>Lindan</b>	Einwaage: 20 mg gelöst in: 5 ml Aceton <b>Konz. St. I: 4 g/l</b>		<b>125</b> µg/L	31,25 µl St. I
			<b>500</b> µg/L	125 µl St. I
			<b>1000</b> µg/L	250 µl St. I
<b>Carbofuran</b>		Einwaage: 10 mg (~24 h rühren) gelöst in: 1 Liter M4 <b>Konz. St. I: 10 mg/L</b>	<b>25</b> µg/L	2,5 ml St. I
			<b>50</b> µg/L	5 ml St. I
			<b>100</b> µg/L	10 ml St. I
			<b>200</b> µg/L	20 ml St. I
<b>Carbaryl</b>	Einwaage: 20 mg gelöst in: 0,5 ml Aceton <b>Konz. St. I: 40g/l</b>	aus St. I : 500 µl / 1 M4 <b>Konz. St. II: 20 mg/L</b>	<b>200</b> µg/L	10 ml St. II
			<b>400</b> µg/L	20 ml St. II
<b>Cypermethrin</b>	Einwaage: 10 mg gelöst in: 10 ml Aceton <b>Konz. St. I: 1 g/l</b>	aus St. I : 100 µl / 1 M4 <b>Konz. St. II: 100 µg/L</b>	<b>0,0025</b> µg/L	0,025 ml St. II
			<b>0,025</b> µg/L	0,25 ml St. II
			<b>0,25</b> µg/L	2,5 ml St. II
			<b>0,5</b> µg/L	5 ml St. II
			<b>1</b> µg/L	10 ml St. II

### 2.4.4 Statische Tests

Die Ermittlung der EC-Konzentrationen erfolgte für *D. magna* nach EN ISO 5667-16, für *E. vulgaris* und *G. roeseli* in Anlehnung an die Norm. Untersucht wurde die Immobilisierung von *D. magna* (Alter 0-24h und 7-8d), *E. vulgaris* (adult) und *G. roeseli* (Größe ca. 1 cm). Durch Vortests konnte der Konzentrationsbereich,

indem die EC-Werte lagen (Effektbereich), eingegrenzt werden. Die aufgrund der Vortests erwarteten Effektbereiche wurden für die Hauptuntersuchungen in 8-10 Konzentrationsstufen gleichen Abstands eingeteilt. Jede Konzentrationsstufe ist an 20 Tieren, die zu je 5 auf vier Ansätze (Bechergläser) aufgeteilt wurden, getestet worden. Im Falle von *D. magna* und *E. vulgaris* kamen 50 ml Bechergläser mit jeweils 20 ml Testlösung und für *G. roeseli* 100 ml Bechergläser mit jeweils 40 ml Testlösung zum Einsatz. Bei jeder Messreihe wurden 4 Kontrollansätze ohne Giftstoff mitgeführt. In Fällen, in denen zur Herstellung der Stammlösung Aceton als Lösungsvermittler eingesetzt werden musste, wurden weitere 4 Kontrollansätze nur mit Lösungsvermittler in der maximal für die Giftstofftests eingesetzten Konzentration mitgeführt. Nach der EN ISO 5667-16 Norm ist die Empfindlichkeit der Testorganismen und die ordnungsgemäße Durchführung durch eine Referenzmessung mit Kaliumdichromat zu überprüfen. Da nach der Norm nur Messungen mit *D. magna* (Alter < 24h) vorgesehen sind, deren 24h-EC<sub>50</sub> für Kaliumdichromat mit 0,6-1,7 mg/L bekannt ist, konnten in der vorliegenden Studie nur Referenzmessungen bei den jungen Daphnien mitgeführt werden. Um die ordnungsgemäße Durchführung auch für die Testreihen mit den anderen Testorganismen zu überprüfen, wurden bei allen Untersuchungen die Konzentrationsstufen im Wechsel mit zwei unabhängig voneinander angesetzten Stammlösungen bearbeitet. Die Durchführung aller Testreihen erfolgte im Kühlbrutschrank bei 20°C ohne Beleuchtung und ohne Fütterung der Testorganismen. Als Verdünnungswasser diente M4-Medium nach Elendt-Schneider (ELENDET 1990).

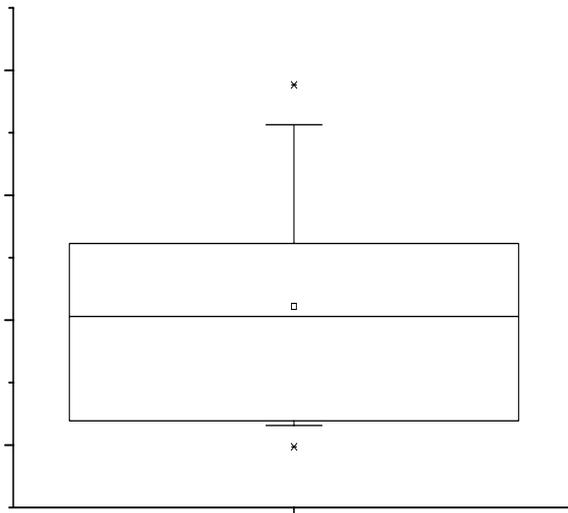
Nach der EN ISO 5667-16 Norm sind jene Tiere als immobil zu betrachten, die nach leichtem Schütteln innerhalb von 15 s nicht schwimmfähig sind, auch wenn sie ihre Antennen noch bewegen können. Bei Messreihen mit jungen Daphnien und mit Gammariden war die Immobilisierung in aller Regel eindeutig festzustellen, wohin gegen bei *E. vulgaris* und insbesondere bei den 7-8 d alten Daphnien Tiere offenkundig geschädigt waren, jedoch am Ort noch Schwimmbewegungen ausführten. In diesen Fällen wurden Tiere, die nicht mehr in der Lage waren frei im Wasserkörper zu schwimmen, als immobilisiert gewertet, auch wenn diese noch ortsgebunden Bewegungen vollzogen.

## 2.5 Methoden der Datenauswertung

### 2.5.1 bbe-Daphnientoximeter

#### 2.5.1.1 Normalverhalten

Um das Normalverhalten der beiden planktischen Kleinkrebse miteinander zu vergleichen, wurden für *D. magna* und *E. vulgaris* von jeweils 100 Giftstofftests die Vorläufe ausgewertet. Dazu wurden für die Parameter Schwimmgeschwindigkeit, Schwimmhöhe und Abstand die Mittelwerte aus 135 vor der Giftstoffzugabe gemessenen Einzelwerten berechnet, was in etwa einem Messzeitraum von 4,5 Stunden entsprach. Die so erhaltenen 100 Werte für jeden Parameter und jeden Testorganismus wurden in Form von Boxplot-Diagrammen (Abb. 15) dargestellt.



**Abb. 15:** Die horizontalen Linien geben das 25 Perzentil, den Median und das 75 Perzentil an. Die Fehlerindikatoren stehen für das 5 Perzentil und 95 Perzentil. Die beiden Symbole (- und x) oberhalb vom 95 Perzentil und unterhalb des 5 Perzentil stehen für das 99 Perzentil und 100 Perzentil bzw. das 0 Perzentil und das 1 Perzentil. Das Kästchen gibt den Mittelwert an.

Beim Einsatz des bbe-Daphnientoximeter in der Gewässerüberwachung bleiben die Daphnien bis zu einem Alter von ca. 8 Tagen im Gerät. Im Gegensatz zu den adulten Schwebekrebschen wachsen die Daphnien im Verlauf der Messungen heran. Um den Einfluss, den das Wachstum in dieser Zeit auf die Verhaltensparameter hat, darzulegen, wurden 35 Datensätze aus dem Rheinmessbetrieb, die mindestens einen Zeitraum von 6 Tagen umfassten, ausgewertet. Um der Anpassung der Testorganismen an die Versuchsbedingungen Rechnung zu tragen blieben die Werte der ersten 4,5 Stunden nach Versuchsbeginn bei der Auswertung unberücksichtigt. Die restlichen Daten wurden in Abschnitte zu je 650 Einzelwerten unterteilt, was in etwa einem Messzeitraum von einem Tag entspricht. Für die drei Verhaltensparameter Schwimmgeschwindigkeit, Schwimmhöhe und Abstand wurde

der durchschnittliche Tageswert, sowie die mittlere Größe berechnet. Die nach der mittleren Größe sortierten Werte wurden in Klassen von  $\pm 0,1 - 0,2 \text{ mm}^2$  eingeteilt und in Boxplot-Diagrammen (Abb. 15) dargestellt. Jedem Boxplot (Größenklasse) lagen 15 Einzelwerte zugrunde.

### 2.5.1.2 Giftstofftests

Die im Gerät integrierte Auswertung durch Alarmalgorithmen und die daraus resultierende Berechnung des Toxischen Index wurden bereits im Abschnitt 2.3 Messtechnik erläutert. Wenn nicht anders vermerkt, beziehen sich alle Angaben der Ergebnisdarstellung auf 5 Messungen je eingesetzter Konzentration, also 10 Einzelwerte (zweikanaliges Gerät). Der Messzeitraum wurde auf 4,5 Stunden ab Giftzugabe festgesetzt. In die Bewertung des Toxischen Index ging immer der maximale Toxische Index ein, der innerhalb des Messzeitraums ermittelt wurde. Bei der Darstellung der für die einzelnen Parameter vergebenen Alarmpunkte wurden alle für den Parameter innerhalb des Messzeitraums vergebenen Punkte aufsummiert, auch wenn diese nicht zum Zeitpunkt des maximalen Toxischen Index vergeben wurden. Aufgrund des sukzessiven Abbaus von Alarmpunkten, entsprechend den eingestellten Nachlaufzeiten (Abb. 12), kann die Addition der für die Einzelparameter vergebenen Alarmpunkte zu einem höheren Toxischen Index führen als sie der maximale Toxische Index repräsentiert.

Neben der im Gerät integrierten Auswertung wurden für einzelne Parameter noch weitere Auswertungen anhand der Rohdaten durchgeführt. Dazu zählt die Berechnung des prozentualen Tierverlustes, der sich auf den Vergleich der Mittelwerte 4,5 Stunden vor und nach Giftstoffzugabe bezieht. Da sich die Angaben zum prozentualen Tierverlust auf den gesamten Messzeitraum beziehen, also auch die Zeiten vor dem Eintreten eines Effekts in die Berechnung mit eingehen, fällt der Wert häufig geringer aus als die absoluten Tierverluste zu Versuchende. Für die Verhaltensparameter Schwimmgeschwindigkeit, Schwimmhöhe und Abstand wurden die Differenzen zwischen ihren Maxima und Minima berechnet. Die Differenz ist als Maß unabhängig vom Ausgangsniveau, so dass mit ihrer Hilfe

Datensätze mit unterschiedlichem Normalverhalten (Vorlauf) vergleichbar wurden. Zur Berechnung der Maxima und Minima wurden für jede Messung, die jeweils 10 höchsten bzw. niedrigsten Werte (entspricht jeweils ca. 20 Minuten Messzeit) aus dem Messzeitraum (4,5 Stunden) gemittelt. Die aus der Differenz der Maxima und Minima erhaltenen 10 Einzelwerte zu jeder eingesetzten Giftstoff-Konzentration wurden als Boxplot (Abb. 15) dargestellt.

## **2.5.2 Driftmesser**

### **2.5.2.1 Normalverhalten**

Zur Darstellung des Normalverhaltens wurden von den Giftstoffmessungen (56 Datensätze) die Vorläufe ausgewertet. Dazu wurden die Mittelwerte und die Maximalwerte, der letzten 4,5 Stunden vor der Giftstoffzugabe, für jeden Vorlauf berechnet und in Form eines Boxplot-Diagramms (Abb. 15) dargestellt.

### **2.5.2.2 Giftstofftests**

Alle Angaben beziehen sich auf 2 Doppelmessungen je eingesetzter Konzentration, also jeweils 4 Datenreihen. Der Messzeitraum wurde auf 4,5 Stunden ab Giftzugabe festgesetzt. Neben der im Gerät integrierten Auswertung (vgl. 2.3.2.2) wurden die Mittelwerte und die Maximalwerte für den 4,5-stündigen Messzeitraum ermittelt. Der mittlere Maximal- und Mittelwert aus allen 4 bei einer Konzentration aufgenommenen Daten, wurden in Diagrammen dargestellt.

## **2.5.3 Statische Tests**

Die Daten wurden mit der Probitanalyse ausgewertet und als Effekt-Konzentration, bei der 50 Prozent der Tiere immobilisiert wurden ( $EC_{50}$ ) angegeben. Werte bei denen 0 Prozent oder 100 Prozent der Tiere einen Effekt zeigten blieben wie üblich bei der Berechnung der EC-Werte unberücksichtigt. Die ermittelten  $EC_{50}$ -Werte wurden mit Vertrauensbereichen (Irrtums-Wahrscheinlichkeit  $\leq 5$  Prozent) angegeben.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Verfahrenstechnische Überprüfungen

##### 3.1.1 Durchfluss durch die Messküvetten (bbe-Daphnientoximeter)

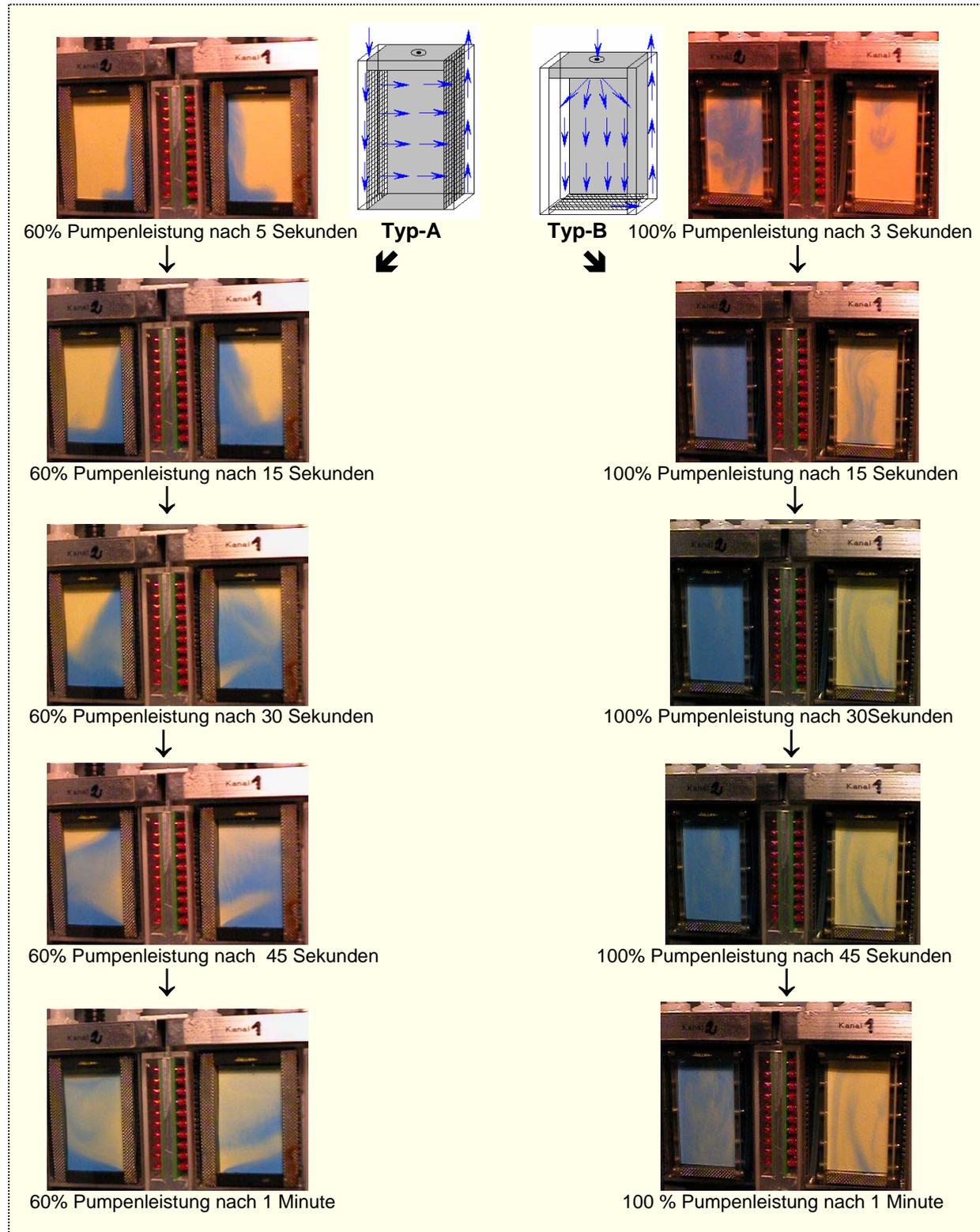


Abb.: 16: Der Probendurchfluss unter Verwendung von zweierlei Typen Küvetteneinsätze (Durchführung vgl. 2.4.1).

Beim Typ-A Küvetteneinsatz fand der Durchfluss durch den kompletten Küvettenraum statt. Die schlechteste Durchmischung befand sich in Bodennähe, wie an den keilförmigen Bereichen gegenüber den Zuläufen in Abbildung 16 zu sehen ist. In den Typ-B Küvetteneinsätzen kam es, wenn Küvetteneinsatz und Küvette nicht genau aneinander angepasst waren, zu einem Bypass, (vgl. rechte Küvette Abb. 16). Hier wurde ein Großteil des zulaufenden Probenwassers direkt vom Ablaufschlauch aufgenommen, noch ehe es in die Messkammer gelangen konnte, daher sind auf den Bildern bei der rechten Küvette nur einzelne blaue Schlieren zu erkennen. Bei Passgenauigkeit, wie im Fall der Aufnahmen mit Typ-B in der linken Messkammer, strömte das Probenwasser in den Messraum ein, durchmischt sich dort in ungerichteter Weise, wodurch der vollständige Austausch des Küvetteninhalts langsamer erfolgte als bei den Typ-A Küvetteneinsätzen. Für die weiteren Untersuchungen wurden Küvetten des Typ-A eingesetzt.

### **3.1.2 Detektion im Driftmesser**

Bei den Untersuchungen mit dem Driftmesser war festzustellen, dass nicht alle Tiere beim Passieren der Lichtschranken gezählt wurden. Anhand des exemplarisch bei sieben Giftstoffmessungen festgehaltenen Verhältnisses von gemessenen zu tatsächlich durchdriftenden Tieren (Messintervall 2 Minuten), konnte die Detektionsrate quantifiziert werden (Tab. 7). Sie lag zwischen minimal 22 bis maximal 64 Prozent bei einem Mittel von rund 40 Prozent. Bei den Giftstoffmessungen zeigte sich, dass Toxine, die zu einer starken Driftreaktion der Gammariden führten dennoch sicher detektiert werden konnten, wohingegen bei geringer Driftreaktion die Aufnahme nur eingeschränkt möglich war (vgl. 3.5).

## Ergebnisse

**Tab. 7:** Exemplarisch aufgenommene Detektionsraten des Driftmessers.

	linke Lichtschranke			rechte Lichtschranke		
	gemessen	beobachtet	%	gemessen	beobachtet	%
	15	31	48	9	14	64
	15	31	48	11	28	39
	6	21	29	27	60	45
	20	77	26	43	125	34
	52	128	41	22	49	45
	16	46	35	19	48	40
	32	143	22	23	105	22
<b>Mittelwert</b>	<b>36</b>			<b>41</b>		
<b>Maximalwert</b>	<b>48</b>			<b>64</b>		
<b>Minimalwert</b>	<b>22</b>			<b>22</b>		

### 3.1.3 Chemische Analytik

Die gemessenen Konzentrationen lagen teilweise über den laut Einwaage erwarteten Werten, wobei mit einer Messungenauigkeit von +/- 20 Prozent gerechnet werden muss. Somit entspricht die eingewogene Konzentration annähernd der analytisch nachgewiesenen Konzentration. Deutliche Verluste traten für Lindan und Cypermethrin im Betrieb des bbe-Daphnientoximeter auf, so dass hier von den in der Ausgangslösung enthaltenen 200 µg/L Lindan bzw. 0,526 µg/L Cypermethrin nach 4,5 Stunden nur noch 60 µg/L Lindan bzw. 0,152 µg/L Cypermethrin nachgewiesen wurden. Für Dimethoat, Carbofuran und Carbaryl war keine Abnahme der Konzentration während des Messbetriebs festzustellen (Tab. 8).

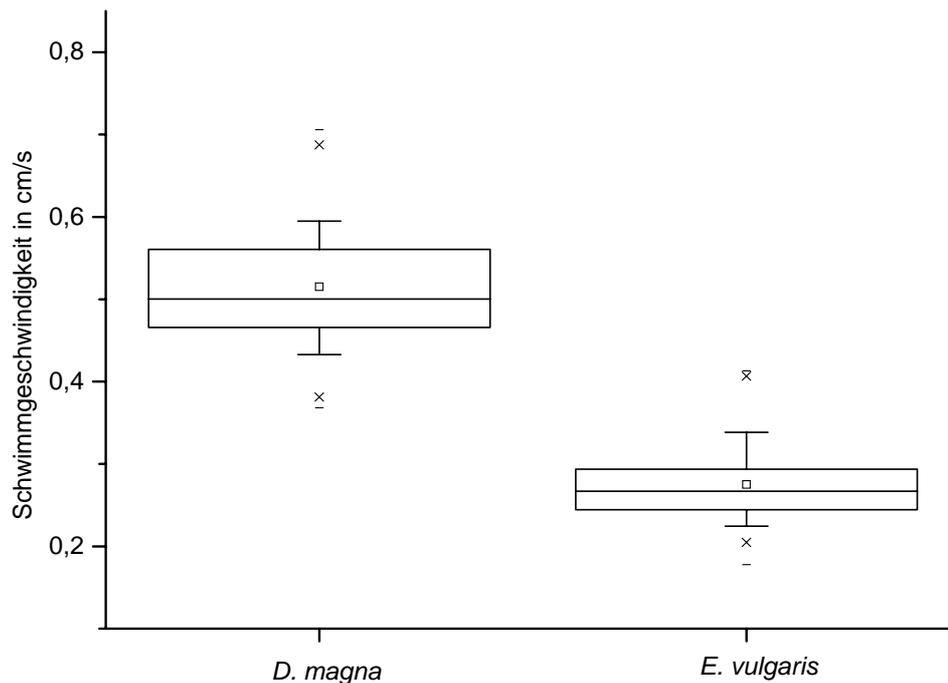
**Tab. 8:** Analytischer Nachweis der eingesetzten Wirkstoff-Konzentrationen in µg/L.

	Sollkonzentration nach Einwaage	Gemessene Konzentration	Konzentration nach 4,5 h im bbe-Daphnientoximeter
<b>Lindan</b>	<b>150</b>	<b>200</b>	<b>60</b>
<b>Dimethoat</b>	<b>3000</b>	<b>3700</b>	<b>3800</b>
<b>Carbofuran</b>	<b>150</b>	<b>140</b>	<b>160</b>
<b>Carbaryl</b>	<b>100</b>	<b>120</b>	<b>100</b>
<b>Cypermethrin</b>	<b>0,500</b>	<b>0,526</b>	<b>0,152</b>

## 3.2 Aufzeichnungen des Normalverhaltens

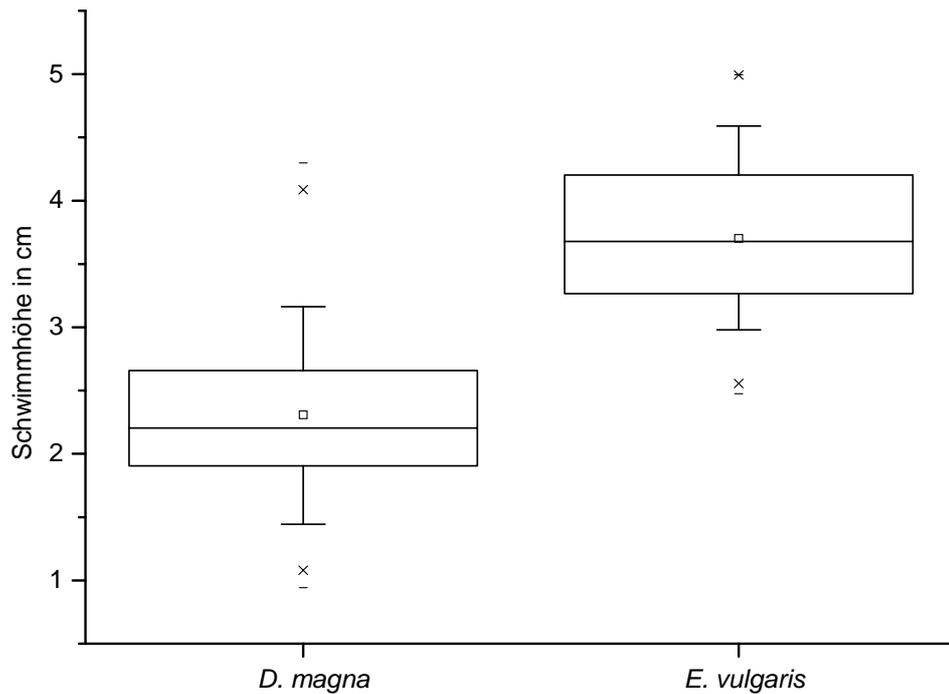
### 3.2.1 *D. magna* und *E. vulgaris* im bbe-Daphnientoximeter

Mit durchschnittlich 0,28 cm/s lag die Schwimgeschwindigkeit (Abb. 17) von *E. vulgaris* deutlich unter der von *D. magna* mit 0,52 cm/s. Wie sich am Perzentilabstand zeigt, war die Variationsbreite bei *D. magna* größer als bei *E. vulgaris*.



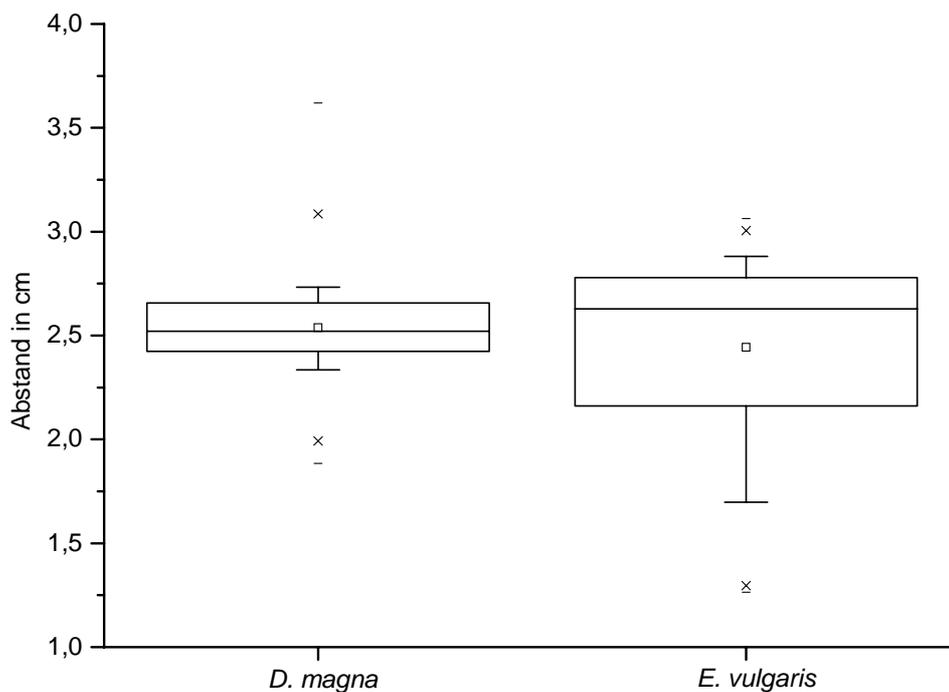
**Abb. 17:** Die normale Schwimgeschwindigkeit von *D. magna* und *E. vulgaris*.

Hinsichtlich der Schwimmhöhe (Abb. 18) war das Verhalten der beiden Testspezies deutlich unterschiedlich. Die Schwebekrebse mit einer mittleren Schwimmhöhe von 3,7 cm hielten sich bevorzugt im oberen Abschnitt der Küvetten auf, während die Daphnien mit einer durchschnittlichen Schwimmhöhe von 2,3 cm eher im Mittelabschnitt anzutreffen waren. Der Perzentilabstand fiel bei *D. magna* geringfügig kleiner aus als bei *E. vulgaris*, allerdings traten bei *D. magna* Extremwerte (> 95 Perzentil oder < 5 Perzentil) von maximal 4,3 cm und minimal 0,9 cm auf.



**Abb. 18:** Die normale Schwimmhöhe von *D. magna* und *E. vulgaris*.

Der Abstand (Abb. 19) war für beide Testspezies mit durchschnittlich 2,54 cm für *D. magna* und 2,44 cm für *E. vulgaris* annähernd identisch. Unterschiede zeigten sich hier hinsichtlich der Variationsbreite, die für *E. vulgaris* sehr viel höher war als für *D. magna*.



**Abb. 19:** Der normale Abstand bei *D. magna* und *E. vulgaris*.

Im Gegensatz zu den adult eingesetzten Schwebekrebschen wächst *D. magna* im Verlauf der Messung. Beim Einsatz des bbe-Daphnientoximeter in der Gewässerüberwachung bleiben die Daphnien bis zu einem Alter von ca. 8 Tagen im Gerät. Anhand von Daten aus dem Rheinmessbetrieb zeigte sich eine Zunahme der Schwimmgeschwindigkeit in Abhängigkeit zur Größe der Tiere (Abb. 20). Gleichzeitig erhöht sich mit zunehmender Größe die Variationsbreite zwischen den Messwerten. Die Daten für den Parameter Schwimmhöhe (Abb. 21) streuten stark, wiesen jedoch keine Abhängigkeit zur Größe der Tiere auf. Auch der Abstand (Abb. 22) zeigte keinen Zusammenhang mit dem Wachstum der Testorganismen.

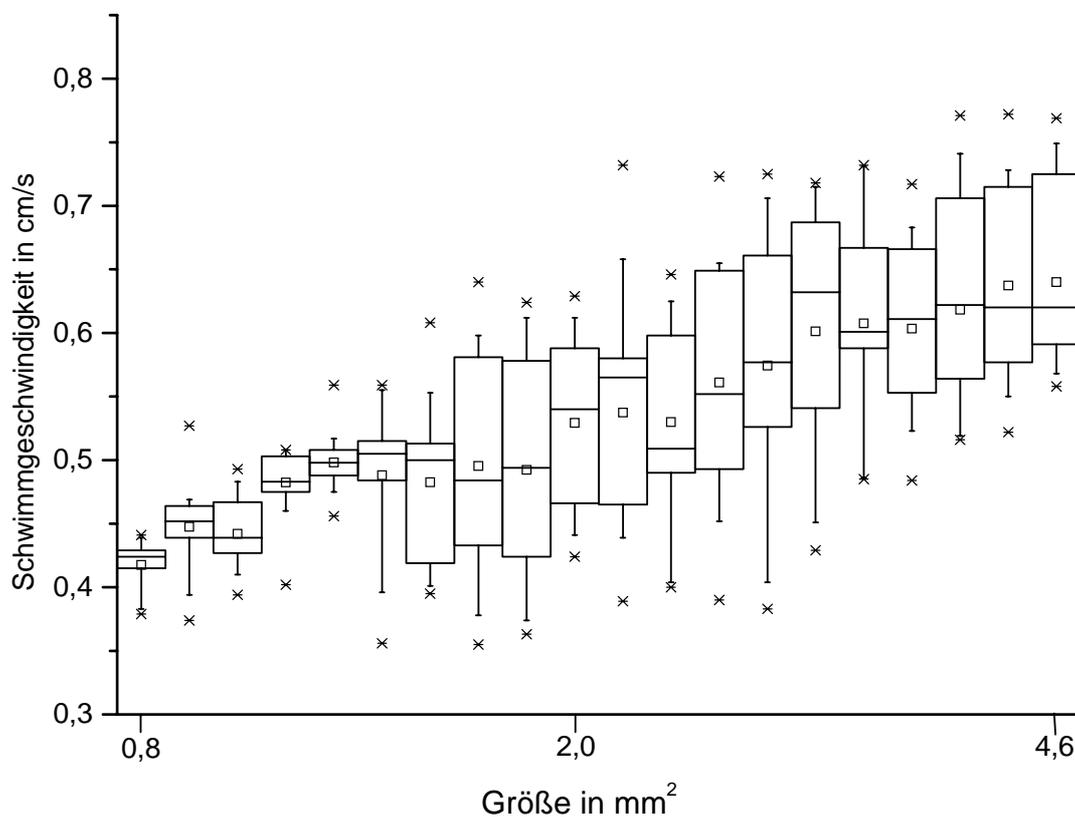


Abb. 20: Die Schwimmgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Größe der Daphnien.

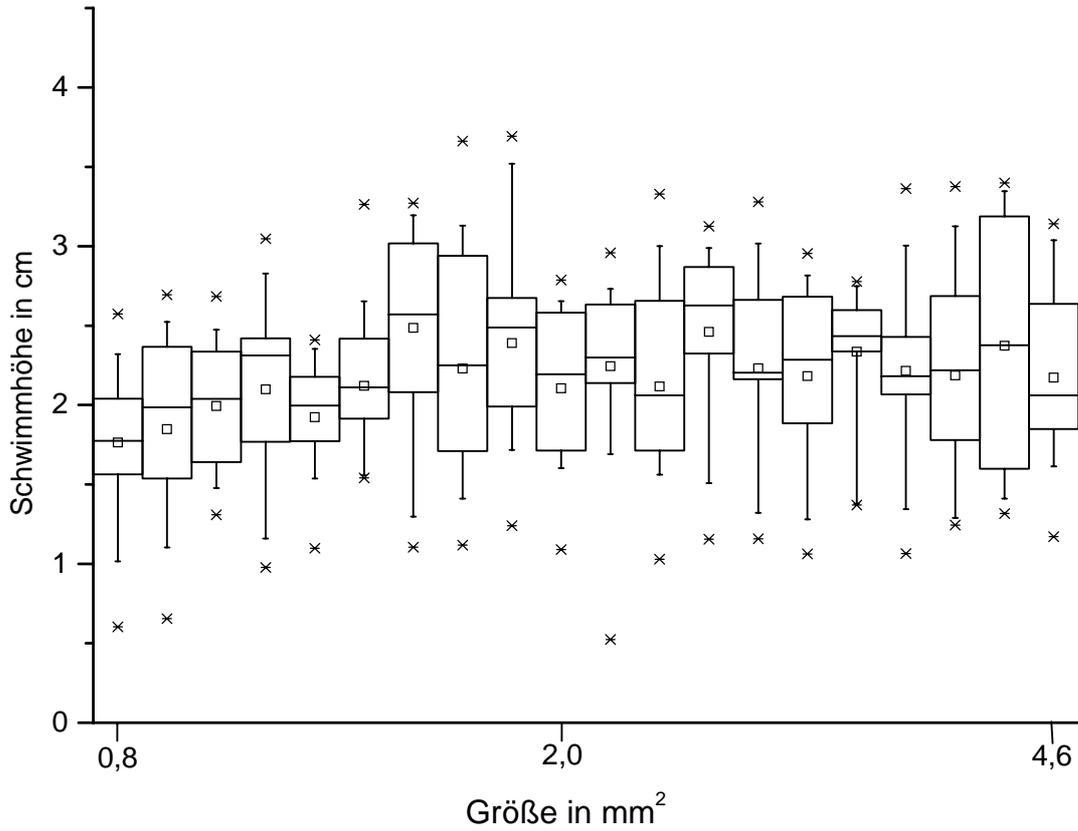


Abb. 21: Die Schwimmhöhe in Abhängigkeit von der Größe der Daphnien.

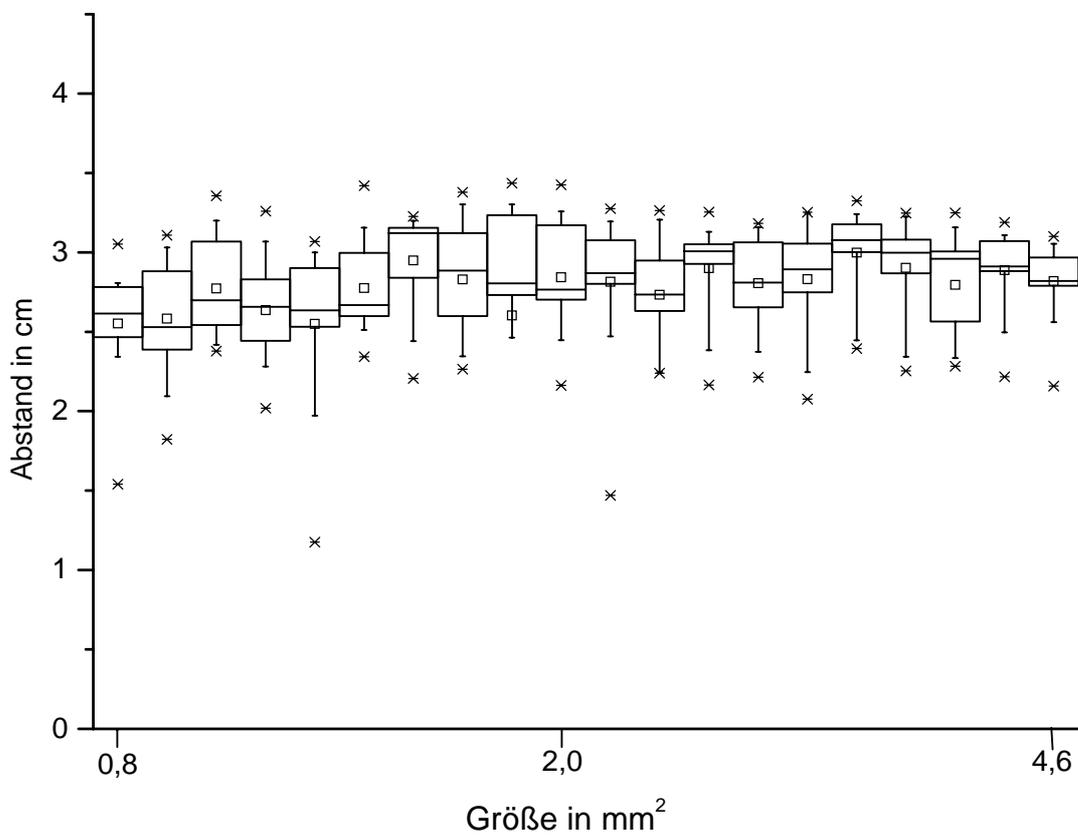
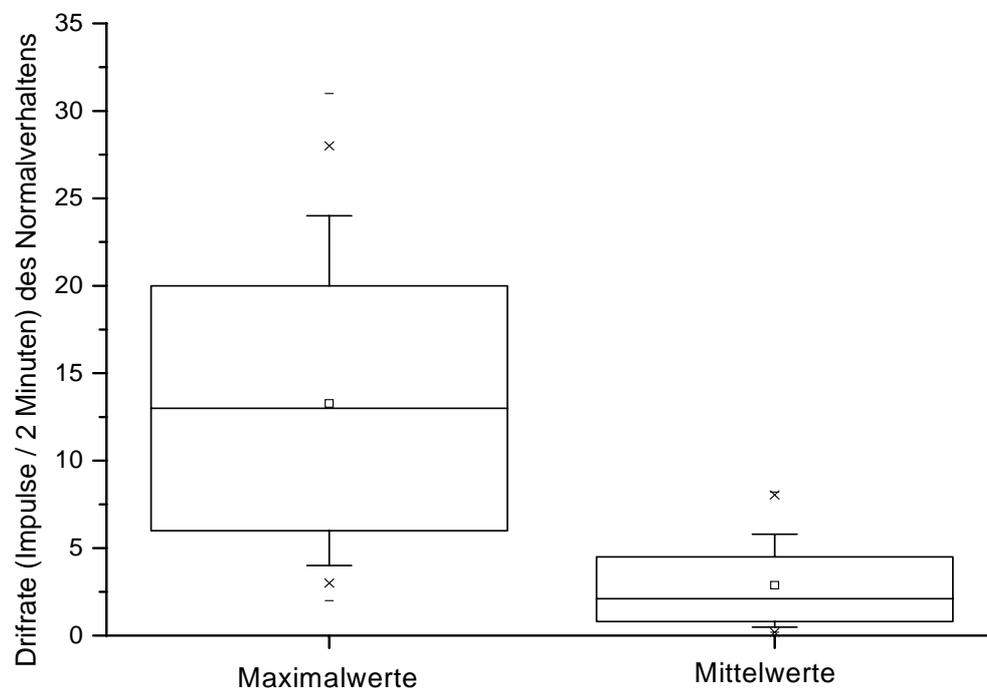


Abb. 22: Der Abstand in Abhängigkeit von der Größe der Daphnien.

### 3.2.2 *G. roeseli* im Driftmesser

Die Driftrate lag im Normalverhalten bei durchschnittlich 2,88 Impulsen pro Messintervall (2 Minuten). Unter den Messungen variierte die durchschnittliche Impulsrate zwischen minimal 0,2 bis maximal 8,2 Impulsen. Kurzfristig konnten Anstiege in der Drift festgestellt werden, die über die statische Alarmgrenze von 20 Impulsen / 2 Minuten hinausgingen. Die höchste im Normalverhalten gemessene Driftrate lag bei 31 Impulsen. Im Vergleich zu den Mittelwerten zeigte sich bei den maximal auftretenden Impulsraten eine große Variationsbreite (Abb. 23).

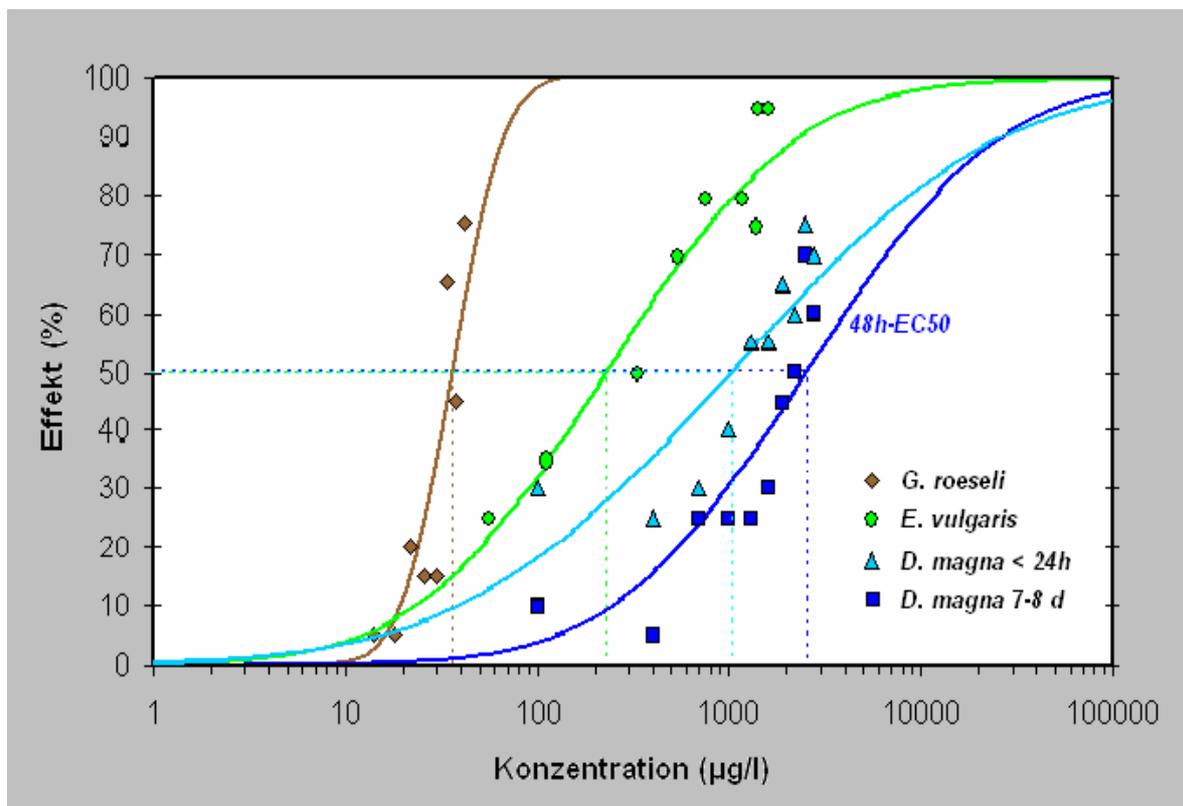


**Abb. 23:** Driftraten von *G. roeseli* im Normalverhalten. Dargestellt sind die Maximalwerte (links) und die Mittelwerte (rechts).

### 3.3 Die Toxizität der ausgewählten Insektizide auf die drei Testspezies, ermittelt anhand ihrer Immobilisierung in statischen Tests (EC<sub>50</sub>-Werte).

#### 3.3.1 Lindan

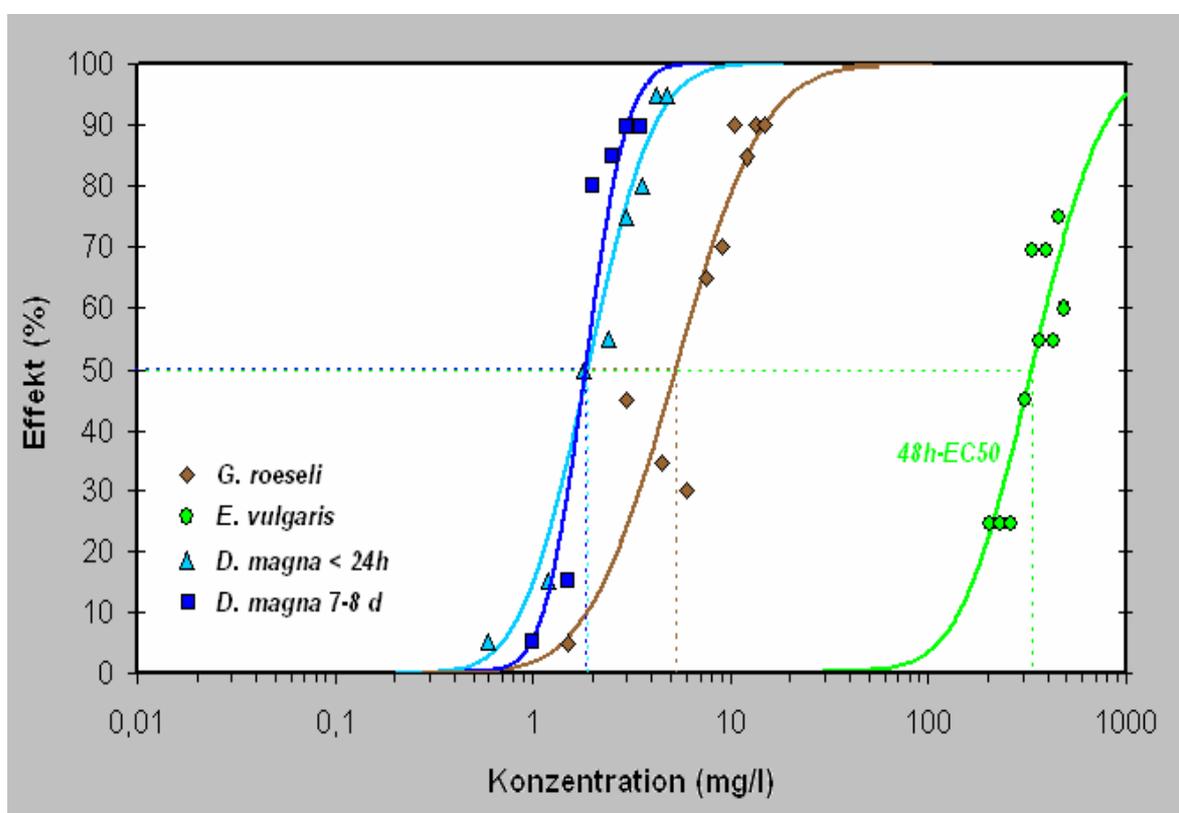
Von den drei getesteten Spezies erwies sich *G. roeseli*, mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 0,036 mg/L, als der mit Abstand empfindlichste Organismus für Lindan. Für *E. vulgaris* musste etwa die 6-fache Konzentration (0,20 mg/L) zur Immobilisierung von 50 Prozent der Organismen eingesetzt werden und bei *D. magna* war im Verhältnis zu *G. roeseli* die 28-fache Dosis (1,03 mg/L) zum Erzielen des gleichen Effekts erforderlich. Die 7-8 Tage alten Daphnien reagierten unempfindlich auf Lindan, selbst nach 48 Stunden Einwirkzeit waren 2,54 mg/L Lindan erforderlich, um einen Effekt bei 50 Prozent der Testorganismen zu erzielen (Abb. 24).



**Abb. 24:** Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Wirkung von **Lindan** (Probitanalyse). Falls im Diagramm nicht anders angegeben, beziehen sich die Daten auf die Immobilisierung nach 24 Stunden Einwirkzeit.

### 3.3.2 Dimethoat

Mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 1,9 mg/L für junge bzw. 1,85 mg/L für 7-8 Tage alte Tiere, erwies sich *D. magna* als der sensitivste der drei Testorganismen für Dimethoat. Etwa die 3-fache Konzentration (5,3 mg/L) führte nach 24 Stunden zur Immobilisierung von 50 Prozent der Gammariden. Als der mit großem Abstand unempfindlichste Testorganismus stellte sich *E. vulgaris* heraus, bei dem nach einer doppelt so langen Einwirkzeit (48 h) etwa die 175-fache Dosis (332 mg/L) eingesetzt werden musste, um 50 Prozent der Tiere zu immobilisieren (Abb. 25).

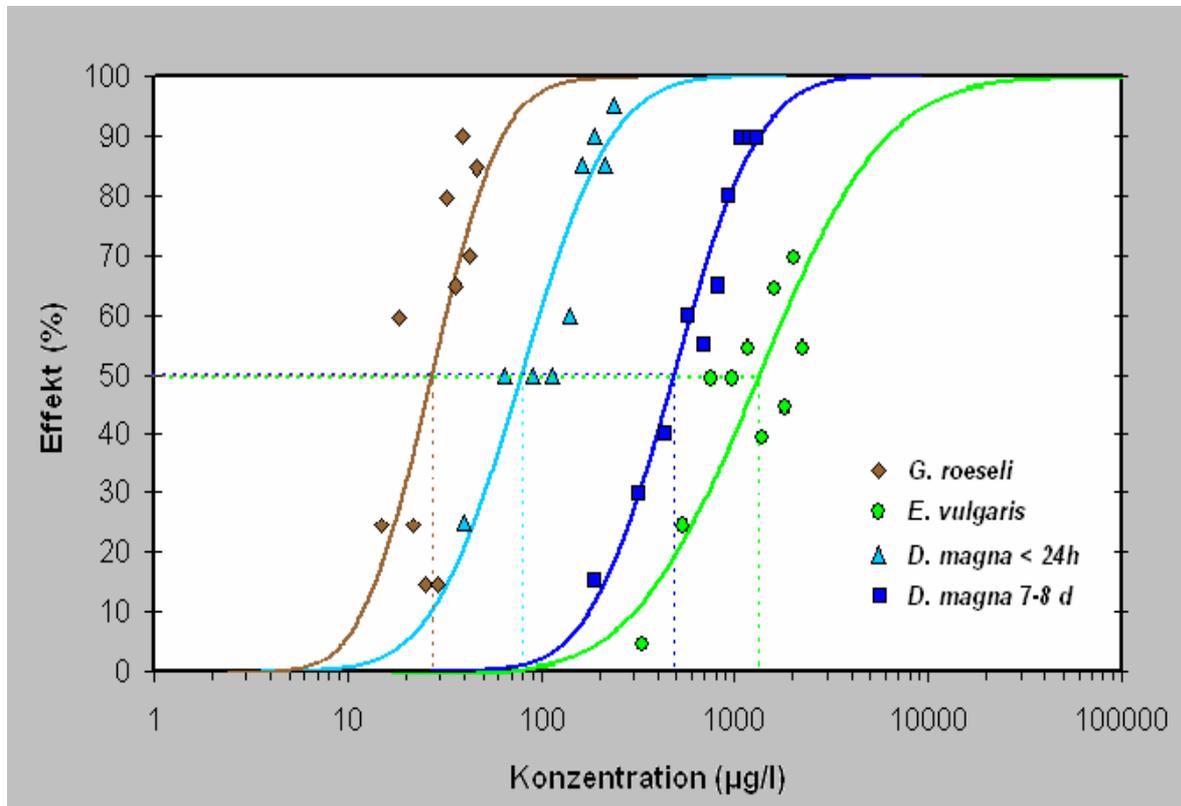


**Abb. 25:** Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Wirkung von **Dimethoat** (Probitanalyse). Falls im Diagramm nicht anders angegeben, beziehen sich die Daten auf die Immobilisierung nach 24 Stunden Einwirkzeit.

### 3.3.3 Carbofuran

Mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 27 µg/L erwies sich *G. roeseli* als die sensitivste Testspezies für Carbofuran. Ungefähr die 3-fache Konzentration (80 µg/L) war erforderlich um den gleichen Effekt bei jungen Daphnien zu erzielen. Die 7-8 Tage alten Daphnien waren deutlich unempfindlicher als die Jungtiere, so dass erst bei

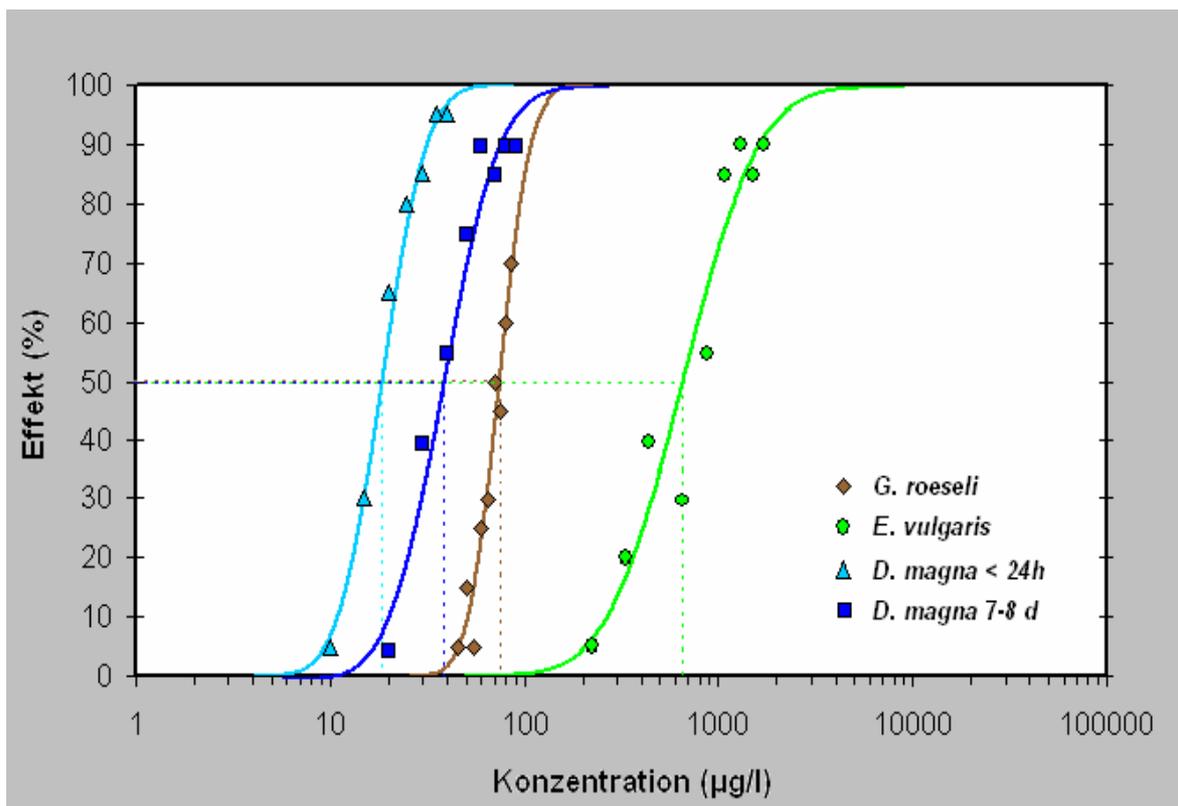
der 6-fachen Konzentration (489  $\mu\text{g/L}$ ) 50 Prozent der Tiere nach 24 Stunden schwimmunfähig wurden. Die unempfindlichste Testspezies war *E. vulgaris* mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 1241  $\mu\text{g/L}$  Carbofuran (Abb. 26).



**Abb. 26:** Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Wirkung von **Carbofuran** (Probitanalyse). Die Daten beziehen sich auf die Immobilisierung nach 24 Stunden Einwirkzeit.

### 3.3.4 Carbaryl

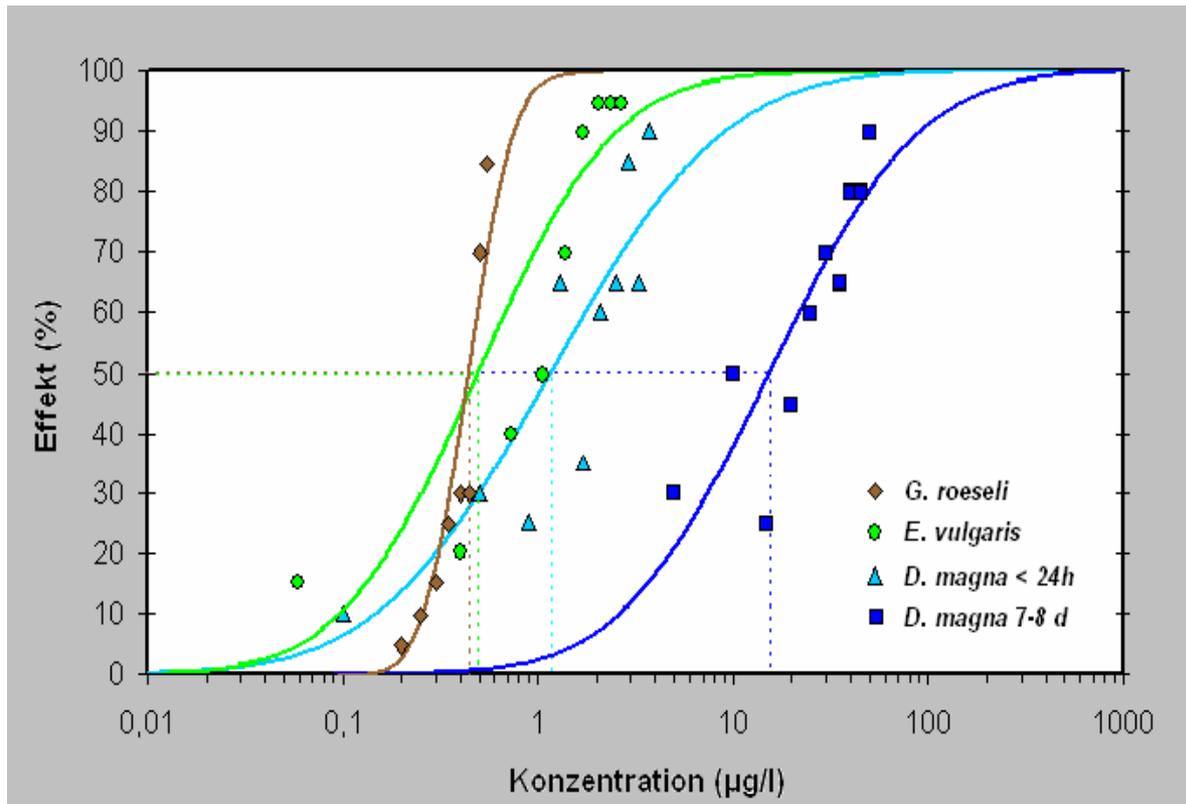
Mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 18,6  $\mu\text{g/L}$  für Jungtiere und 38,7  $\mu\text{g/L}$  für 7-8 Tage alte Tiere, erwies sich *D. magna* als der sensitivste der drei Testorganismen für Carbaryl. Etwa die 2-4-fache Konzentration (75  $\mu\text{g/L}$ ) führte nach 24 Stunden zur Immobilisierung von 50 Prozent der Gammariden. Als der deutlich unempfindlichste Testorganismus stellte sich *E. vulgaris* heraus, bei dem erst eine Konzentration von 603  $\mu\text{g/L}$  eine 50-prozentige Immobilisierung der Tiere verursachte (Abb. 27).



**Abb. 27:** Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Wirkung von **Carbaryl** (Probitanalyse). Die Daten beziehen sich auf die Immobilisierung nach 24 Stunden Einwirkzeit.

### 3.3.5 Cypermethrin

Auf Cypermethrin reagierten *G. roeseli* und *E. vulgaris* mit 24h-EC<sub>50</sub>-Werten von 0,44 µg/L und 0,43 µg/L sehr sensitiv. Zur Immobilisierung von 50 Prozent der Jungdaphnien war etwa die 2-3 fache Konzentration (1,17 µg/L) erforderlich. Deutlich unempfindlicher erwiesen sich die 7-8 Tage alten Daphnien, die erst bei einer Konzentration von 15,4 µg/L in 50 Prozent der Fälle ihre Schwimmfähigkeit verloren (Abb. 28).



**Abb. 28:** Dosis-Wirkungs-Beziehung zur Wirkung von **Cypermethrin** (Probitanalyse). Die Daten beziehen sich auf die Immobilisierung nach 24 Stunden Einwirkzeit.

### 3.3.6 Zusammenfassung der Ergebnisse aus den statischen Tests

Von den fünf untersuchten Insektiziden hatte Dimethoat die niedrigste und Cypermethrin die höchste Toxizität auf die drei untersuchten Crustacea (Tab. 9). Hinsichtlich der Unterschiede in der Empfindlichkeit der drei Testspezies zeigte sich, dass *G. roeseli* für zwei Insektizide (Lindan und Carbofuran) der sensitivste Organismus war. Für eine Substanz waren *G. roeseli* und *E. vulgaris* vergleichsweise hoch sensitiv (Cypermethrin). Lediglich für zwei Substanzen (Dimethoat und Carbaryl) war *D. magna* empfindlicher als *G. roeseli* und *E. vulgaris*. Darüber hinaus bleibt festzuhalten, dass *D. magna* mit einer Ausnahme (Dimethoat) im Alter von 7-8 Tagen unempfindlicher reagierte, im Vergleich zu den standardmäßig zur Ermittlung der Toxizität eingesetzten Jungtieren (< 24h).

Tab. 9: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den statischen Tests

Immobilisierung 24h-EC <sub>50</sub> und Vertrauensbereich p ≤ 0,05	<i>D. magna</i> < 24h	<i>D. magna</i> 7- 8d	<i>E. vulgaris</i> adult	<i>G. roeseli</i> Größe ~ 1cm
Lindan	<b>1,03 mg/L</b> 0,65 – 1,6 mg/L	<sup>48h-EC<sub>50</sub></sup> <b>2,54mg/L</b> 1,81 – 3,57 mg/L	<b>0,20 mg/L</b> 0,15– 0,29 mg/L	<b>0,036 mg/L</b> 0,032 – 0,041 mg/L
Dimethoat	<b>1,90 mg/L</b> 1,65 – 2,20 mg/L	<b>1,85 mg/L</b> 1,10 – 1,48 mg/L	<sup>48h-EC<sub>50</sub></sup> <b>332 mg/L</b> 297 – 371 mg/L	<b>5,30 mg/L</b> 4,51 – 6,22 mg/L
Carbofuran	<b>80 µg/L</b> 67 – 95 µg/L	<b>489 µg/L</b> 419 – 570 µg/L	<b>1241 µg/L</b> 998 – 1543 µg/L	<b>27 µg/L</b> 24 – 31 µg/L
Carbaryl	<b>18,6 µg/L</b> 16,7 – 20,8 µg/L	<b>38,7 µg/L</b> 34,3 – 43,7 µg/L	<b>603 µg/L</b> 517 – 704 µg/L	<b>75 µg/L</b> 70 – 79 µg/L
Cypermethrin	<b>1,17 µg/L</b> 0,86 – 1,57 µg/L	<b>15,4 µg/L</b> 11,9 – 19,8 µg/L	<b>0,43 µg/L</b> 0,33 – 0,57 µg/L	<b>0,44 µg/L</b> 0,40 – 0,49 µg/L

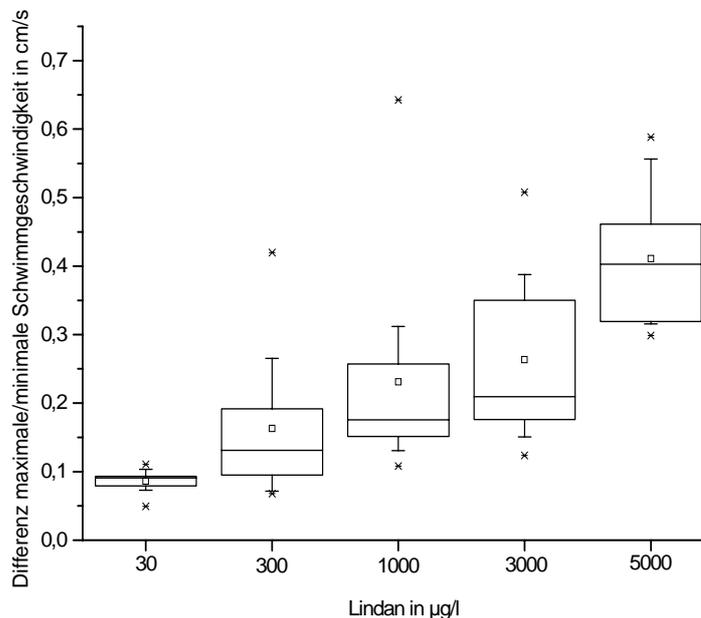
### 3.4 Die Beeinflussung des Schwimmverhaltens von *D. magna* und *E. vulgaris* durch Insektizide, aufgenommen mit dem bbe-Daphnientoximeter

Die Beeinflussung des Schwimmverhaltens und das Auftreten von Tierverlusten durch die Wirkung der fünf ausgewählten Insektizide wurde für *D. magna* und *E. vulgaris* mit dem bbe-Daphnientoximeter aufgenommen. Die Messdaten wurden mit der im Gerät integrierten Software ausgewertet (vgl. 2.3.1.3). Diese Ergebnisse sind in den folgenden Abschnitten jeweils in Dosis-Wirkungs-Kurven, bezogen auf den vom Gerät berechneten Toxischen Index (z.B. Abb. 33) und in Säulendiagramme (z.B. Abb. 32), für die maximal im Messzeitraum vergebenen Alarmpunkte der Einzelparameter, dargestellt. Um für die wichtigsten Parameter einen von der Geräteeinstellung unabhängigen Vergleich zu ermöglichen, wurde zusätzlich auf Basis der Rohdaten der prozentuale Tierverlust (z.B. Abb. 33) und die Differenzen in den Parametern Schwimmgeschwindigkeit, Schwimmhöhe und Abstand, dargestellt als Boxplots (z.B. Abb. 29), berechnet (vgl. 2.5.1.2). Jeder Konzentrationsstufe liegen 5 unabhängige Messungen also 10 Datensätze (2-Kanäle) zugrunde.

### 3.4.1 Lindan

#### *Daphnia magna*

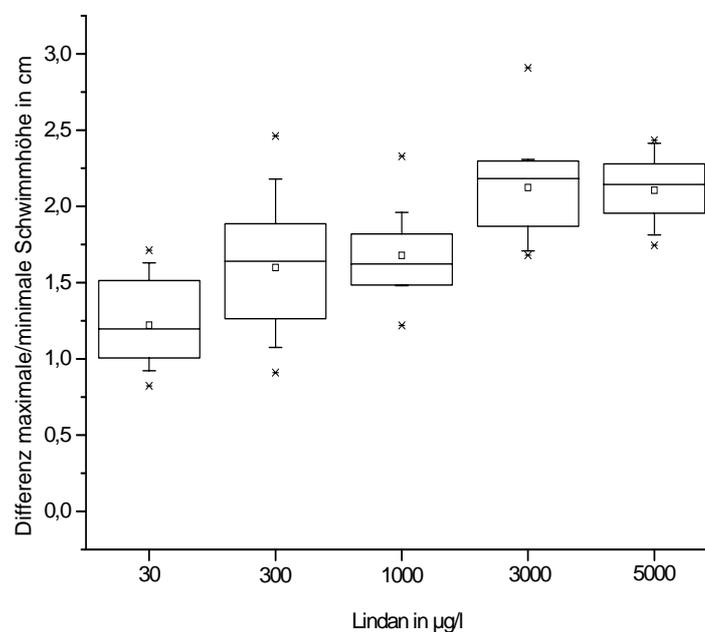
Die Amplitude (mittlere Differenz zwischen Maximum und Minimum) der Schwimmgeschwindigkeit (Abb. 29) nahm bei *D. magna* mit steigender Konzentration von Lindan (30 bis 5000  $\mu\text{g/L}$ ) deutlich zu. Gleichzeitig stieg die Variationsbreite (Perzentilabstand der Differenz zwischen Maximum und Minimum) im Wesentlichen an. Die Veränderungen in der Schwimmgeschwindigkeit zwischen Messungen mit 30  $\mu\text{g/L}$  und 300  $\mu\text{g/L}$  Lindan führten gleichzeitig zu einem Anstieg bei den vergebenen Alarmpunkten (Abb. 32) auf durchschnittlich 2,7, bewirkten jedoch in der Gesamtbewertung des Toxischen Index (Abb. 33) keine Erhöhung. Wesentlich deutlicher war der Anstieg in der Amplitude der Schwimmgeschwindigkeit, von 3000  $\mu\text{g/L}$  auf 5000  $\mu\text{g/L}$ , bei gleichzeitiger Zunahme an vergebenen Alarmpunkten, von durchschnittlich 4 auf 8,6.



**Abb. 29:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Lindan** im kontinuierlichen Test mit *D. magna* .

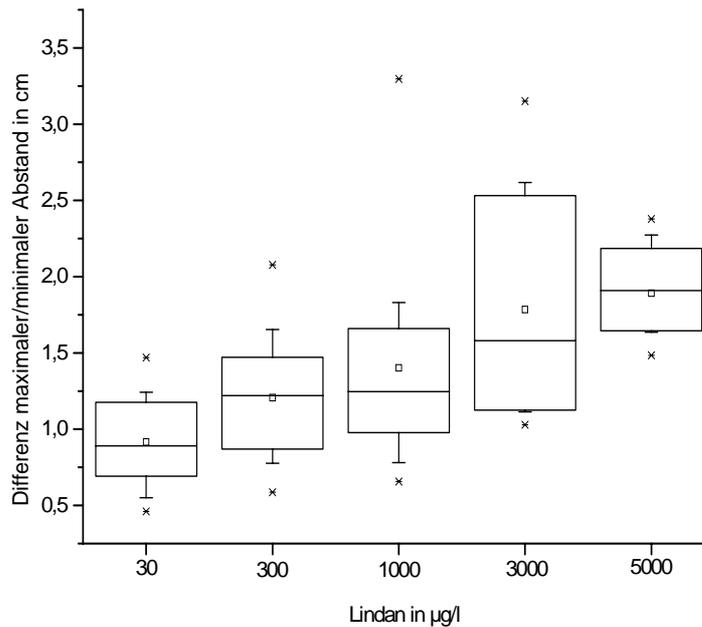
Die Amplitude der Schwimmhöhe (Abb. 30) und des Abstands (Abb. 31) nahmen mit steigender Konzentration zu. Die Variationsbreite zeigte bei der Schwimmhöhe keinen Zusammenhang mit der Lindan-Konzentration. Obwohl bereits von 30  $\mu\text{g/L}$

auf 300  $\mu\text{g/L}$  die Amplitude der Schwimmhöhe um durchschnittlich 0,4 cm und die des Abstands um 0,3 cm zunahm, wurde hier im Mittel nur ein Alarmpunkt (Abb. 32) vergeben. Bei 1000  $\mu\text{g/L}$  stieg die Amplitude der Schwimmhöhe (Abb. 30) sehr gering an, bei gleichzeitiger Verringerung der Variationsbreite gegenüber den Werten für 300  $\mu\text{g/L}$ . Allerdings wurden hier Auffälligkeiten in der Schwimmhöhe von den Alarmlogarithmen häufiger detektiert, so dass zusammen mit den Bewertungen für die Parameter Schwimmgeschwindigkeit und GKI, der Toxische Index (Abb. 33) bei 1000  $\mu\text{g/L}$  Lindan deutlich im Mittel auf 10,5 Punkte anstieg.



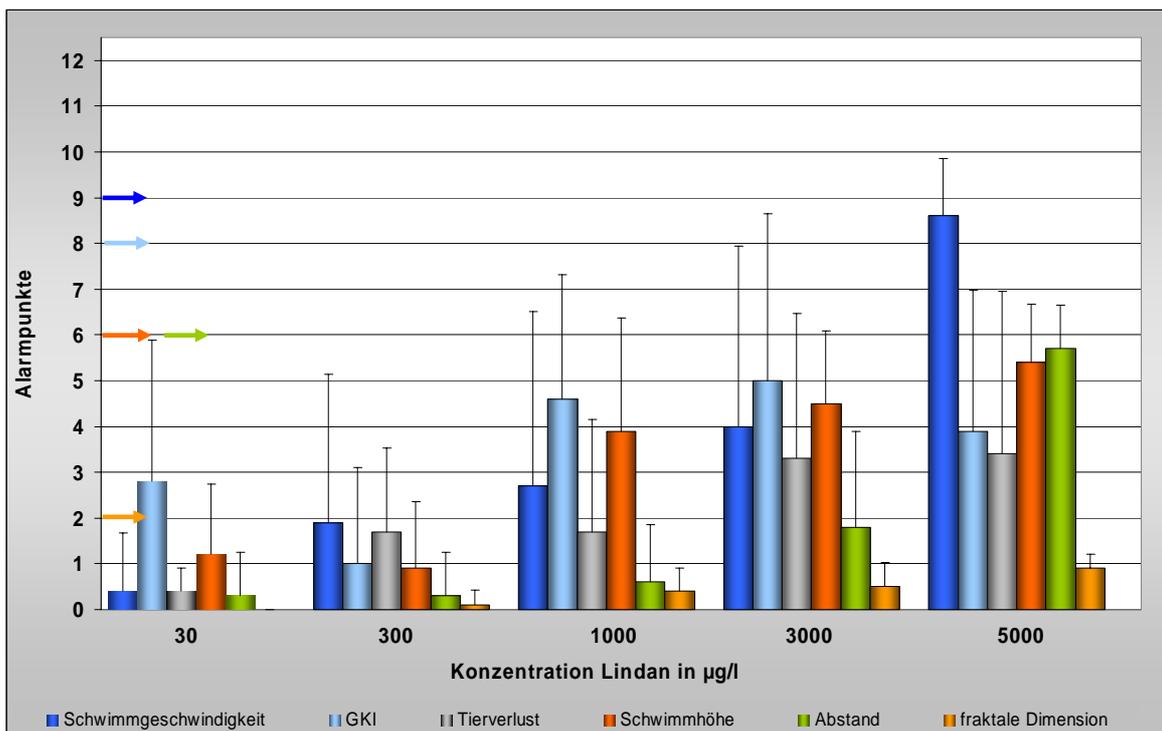
**Abb. 30:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Lindan** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

Die Anzahl, der für den Parameter Abstand vergebenen Alarmpunkte (Abb. 32) war bei 1000  $\mu\text{g/L}$  Lindan mit durchschnittlich 0,6 Alarmpunkten sehr gering und gewann erst bei den höheren Konzentrationen (3000 und 5000  $\mu\text{g/L}$ ) an Bedeutung. Die Wertungen für den Parameter Abstand können in direktem Bezug zum Ausfall an Testorganismen stehen, wie er ab einer Konzentration von 3000  $\mu\text{g/L}$  auftrat. Die maximale Variationsbreite des Abstands (Abb. 31) trat bei 3000  $\mu\text{g/L}$  Lindan auf, gleichzeitig war die Standardabweichung im Tierverlust (Abb. 33) bei dieser Konzentration überdurchschnittlich hoch.

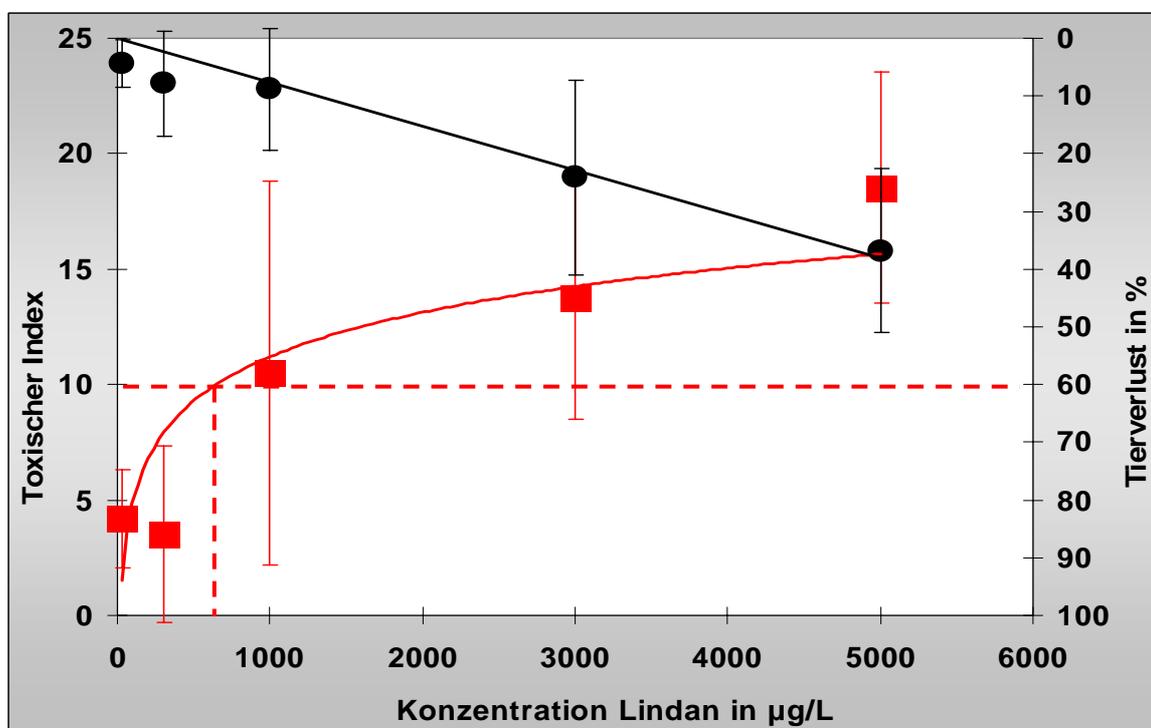


**Abb. 31:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Lindan** im kontinuierlichen Test mit *D. magna* .

Im Falle der höchsten hier eingesetzten Konzentration von 5000 µg/L Lindan nahm für die drei Parameter Schwimmgeschwindigkeit (Abb. 29), Schwimmhöhe (Abb. 30) und Abstand (Abb. 31) die Streuung der Werte, bezogen auf den Perzentilabstand leicht, im Hinblick auf die Extremwerte (> 95 Perzentil oder < 5 Perzentil) deutlich ab. Im Bezug auf die Detektion mit den Alarmalgorithmen (Abb. 32) sprachen bei 5000 µg/L die drei Parameter bei nahezu allen Messungen an, wie sich an der Vergabe der Alarmpunkte, mit durchschnittlich 8,6 von 9 für die Schwimmgeschwindigkeit und 5,4 bzw. 5,7 von 6 für die Schwimmhöhe und den Abstand zeigte. Bei 9 von 10 Messreihen wurden Verhaltensänderungen in der fraktalen Dimension (Kurvigkeit der Schwimmbahnen) durch die Sprungerkennung (Hinkley) detektiert und mit je einem Alarmpunkt bewertet. Daraus resultierte, dass bei der gewählten Geräteeinstellung für alle fünf mit 5000 µg/L Lindan durchgeführten Messungen ein Alarm vom Gerät ausgegeben wurde. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 33) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *D. magna* bei 650 µg/L Lindan.



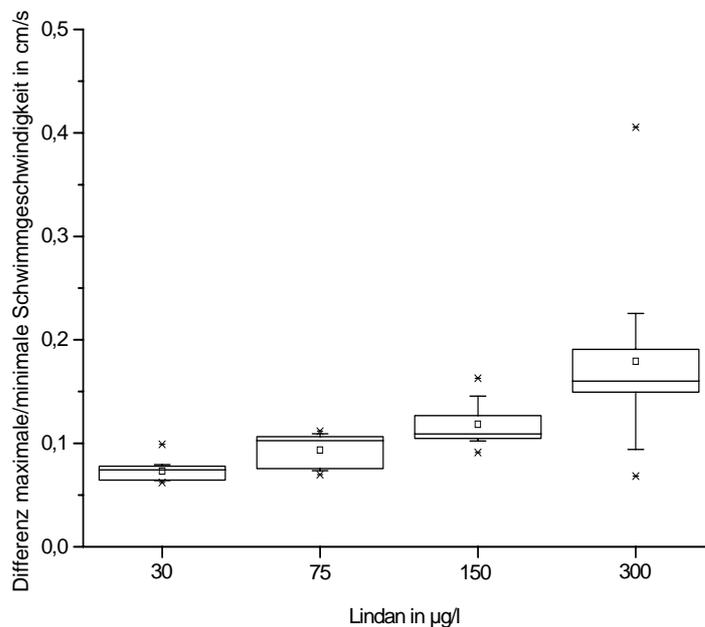
**Abb. 32:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Lindan** auf *D. magna*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.



**Abb. 33:** Dosis-Wirkungskurven für **Lindan** bei *D. magna* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverlust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

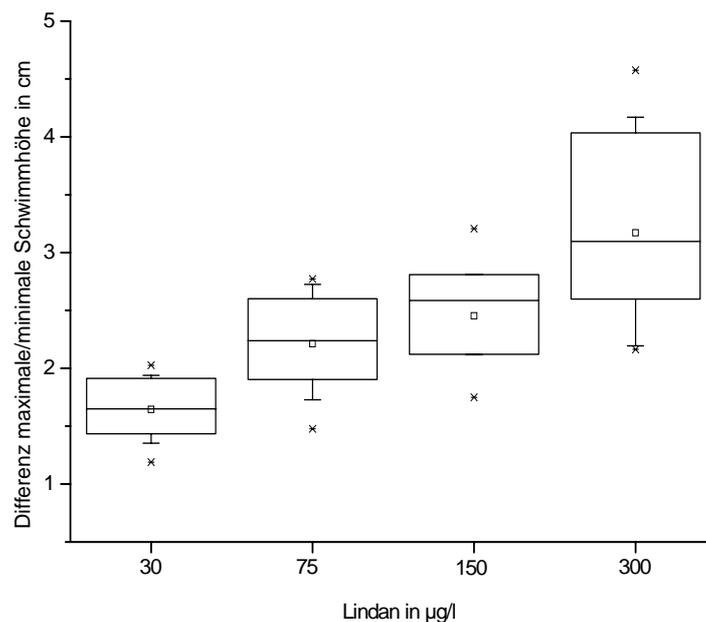
### *Eudiaptomus vulgaris*

Die Amplitude der Schwimmgeschwindigkeit (Abb. 34) stieg mit der Lindan-Konzentration an. Starke Streuungen von Einzelwerten ( $> 95$  Perzentil oder  $< 5$  Perzentil) traten bei *E. vulgaris* nur bei der höchsten hier eingesetzten Konzentration von  $300 \mu\text{g/L}$  auf. Im Bezug auf die vergebenen Alarmpunkte (Abb. 37) stieg der Parameter Schwimmgeschwindigkeit mit der Konzentration an, erreichte allerdings im Mittel maximal 3,7 Punkte. Häufiger konnten Verhaltensänderungen mit dem GKI detektiert werden, was bei einer Lindan-Konzentration von  $300 \mu\text{g/L}$  mit durchschnittlich 6,3 Punkten in den Toxischen Index einging.



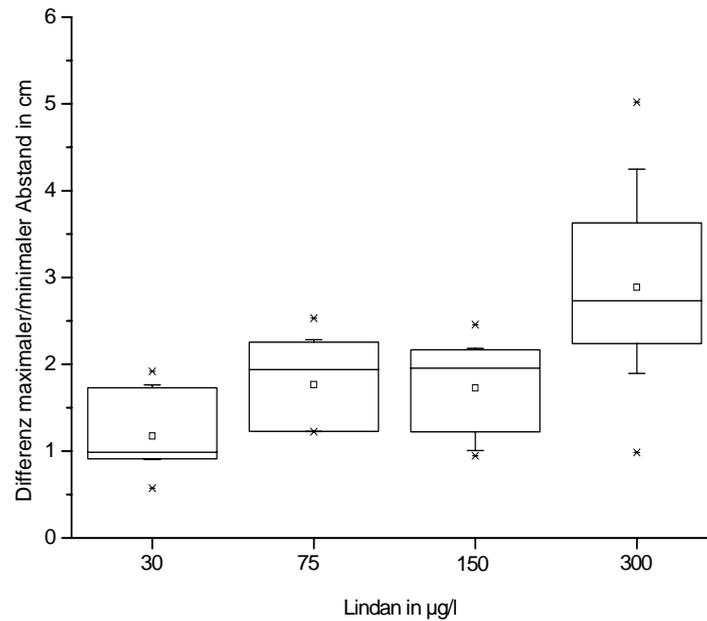
**Abb. 34:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Lindan** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Die Amplitude der Schwimmhöhe (Abb. 35) zeigte einen konzentrationsabhängigen Anstieg. Die Variationsbreite nahm zunächst nur geringfügig zu, erst bei der höchsten eingesetzten Konzentration von  $300 \mu\text{g/L}$  gab es eine deutliche Erhöhung des Perzentilabstands. Für den Toxischen Index kam der Parameter Schwimmhöhe ab  $75 \mu\text{g/L}$  mit durchschnittlich 0,9 Punkten und bei höheren Konzentrationen mit durchschnittlich 4,2 Punkten zum Tragen (Abb. 37).

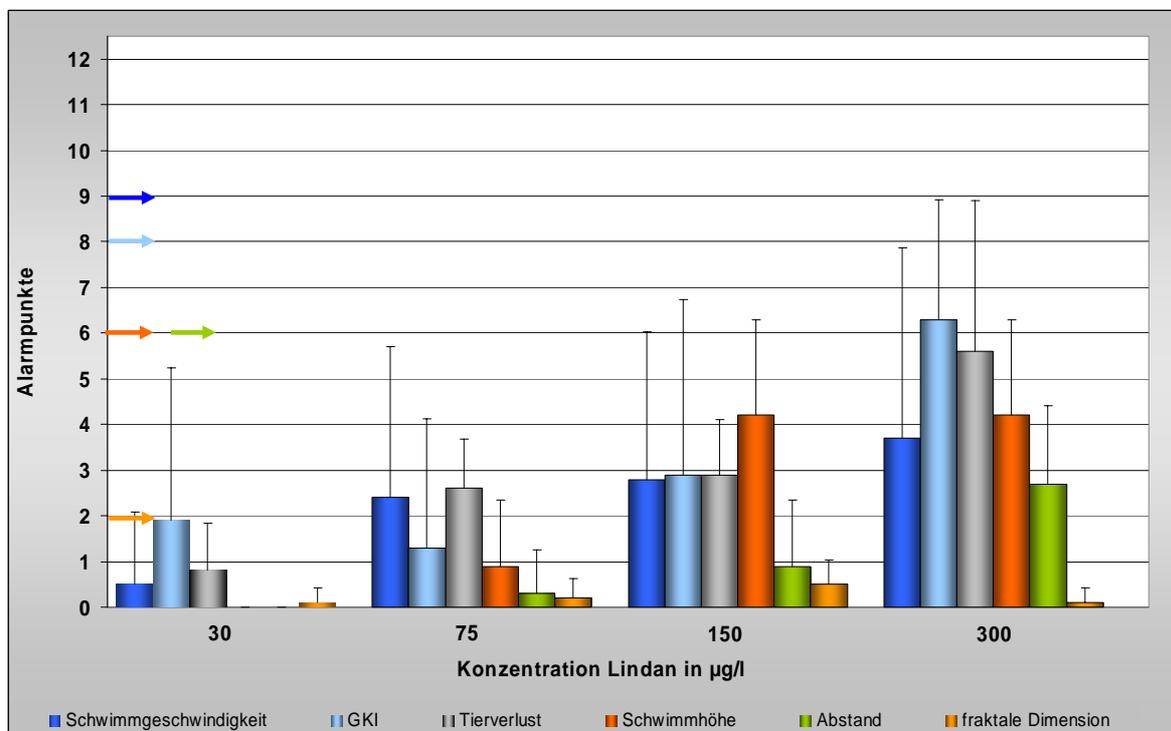


**Abb. 35:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Lindan** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

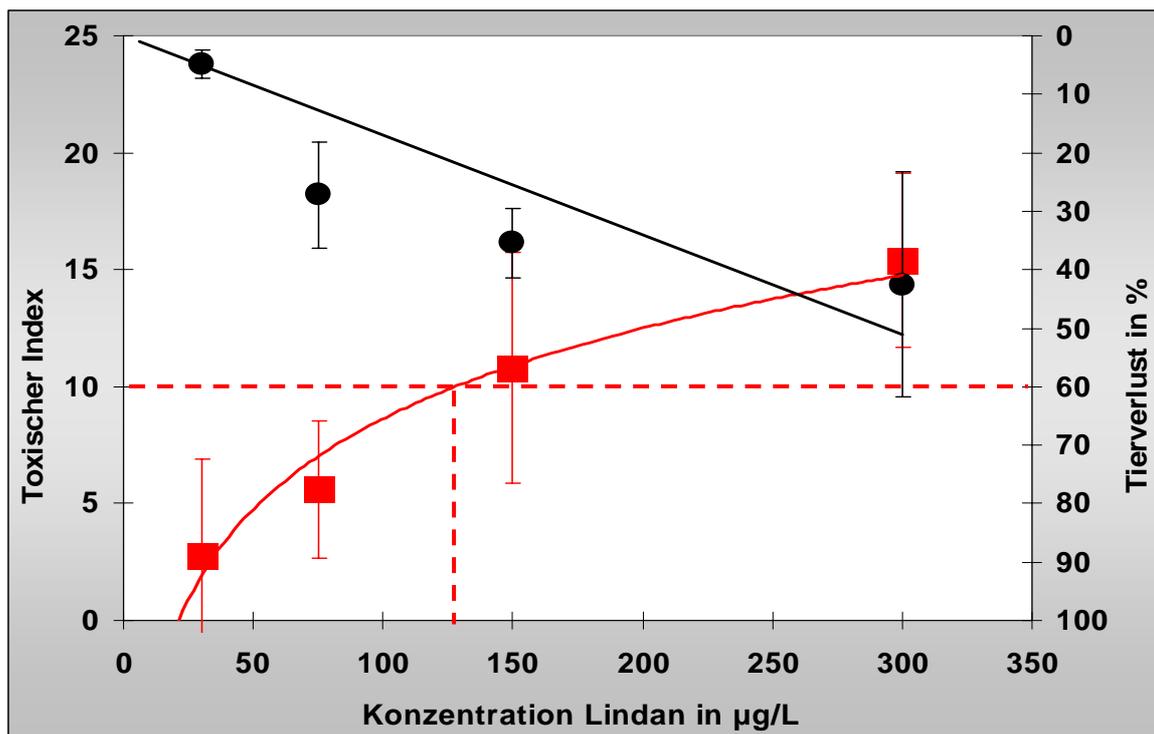
Die Amplitude des Abstands (Abb. 36) nahm mit der Konzentration zu, wobei zwischen den Messungen mit 75 und 150 µg/L kein Anstieg festzustellen war. Eine Zunahme der Variationsbreite zeigte sich bei der höchsten Konzentration von 300 µg/L. Die Detektion von Veränderungen im Abstand mittels Alarmalgorithmen (Abb. 37) führte hier zur Vergabe von durchschnittlich 2,7 Alarmpunkten. Bei den niedrigeren Konzentrationen spielte der Parameter Abstand eine untergeordnete Rolle, obwohl der Verlust an Versuchstieren bereits bei 75 µg/L deutlich war und im Mittel mit 2,6 Alarmpunkten bewertet wurde. Die vergebenen Alarmpunkte für den Tierverlust stiegen mit der Konzentration bis auf durchschnittlich 5,6 bei 300 µg/L Lindan an. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 38) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *E. vulgaris* bei 130 µg/L Lindan.



**Abb. 36:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Lindan** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.



**Abb. 37:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Lindan** auf *E. vulgaris*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.

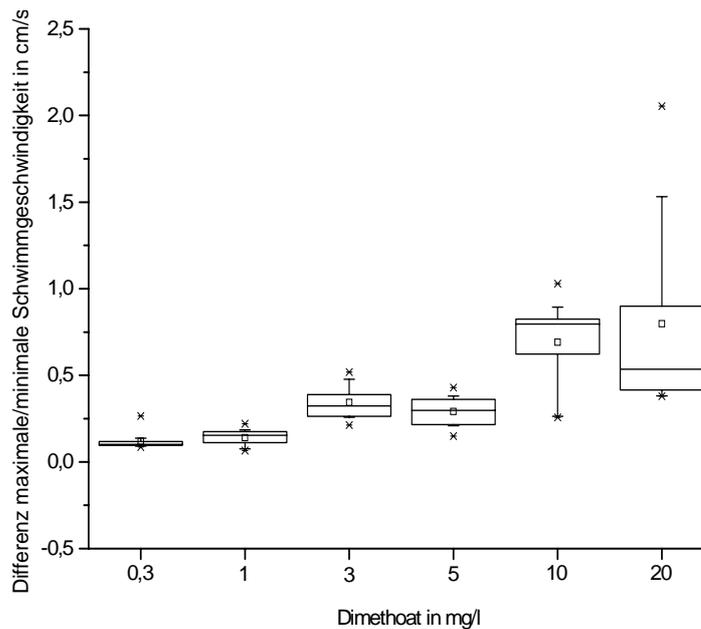


**Abb. 38:** Dosis-Wirkungskurven für **Lindan** bei *E. vulgaris* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverslust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

### 3.4.2 Dimethoat

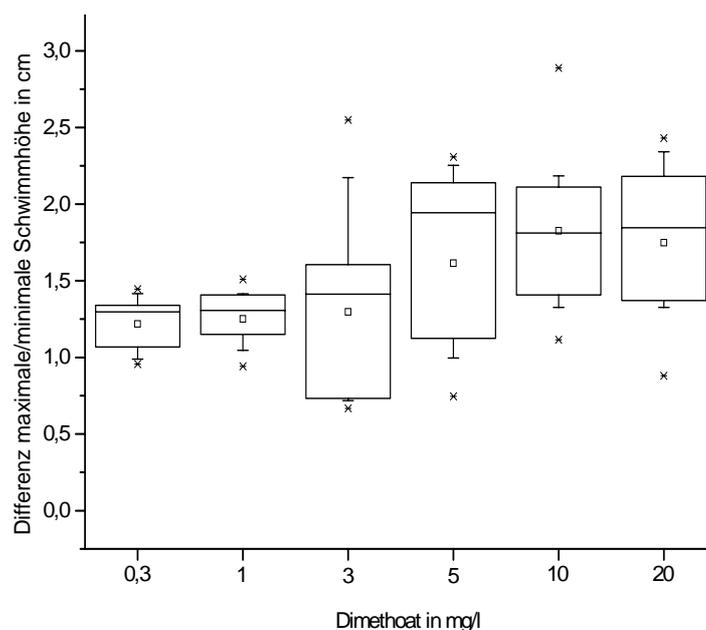
#### *Daphnia magna*

Die Amplitude der Schwimmggeschwindigkeit (Abb. 39) nahm für *D. magna* mit steigender Konzentration tendenziell zu. Dabei zeigte sich eine sprunghafte Zunahme von 1 auf 3 mg/L und von 5 auf 10 mg/L, verbunden mit einem gleichzeitigen Anstieg in der Variationsbreite. Die Vergabe der Alarmpunkte (Abb. 42) für den Parameter Schwimmggeschwindigkeit nahm konzentrationsabhängig von durchschnittlich 1,3 bei 0,3 mg/L bis auf 7,7 bei 20 mg/L Dimethoat zu. Gemessen am Trend war eine geringfügig niedrigere Vergabe an Alarmpunkten bei 5 mg/L Dimethoat festzustellen. Dies deckte sich mit der etwas geringeren Amplitude der Schwimmggeschwindigkeit und spiegelte sich in einem erniedrigten Toxischen Index (Abb. 43).

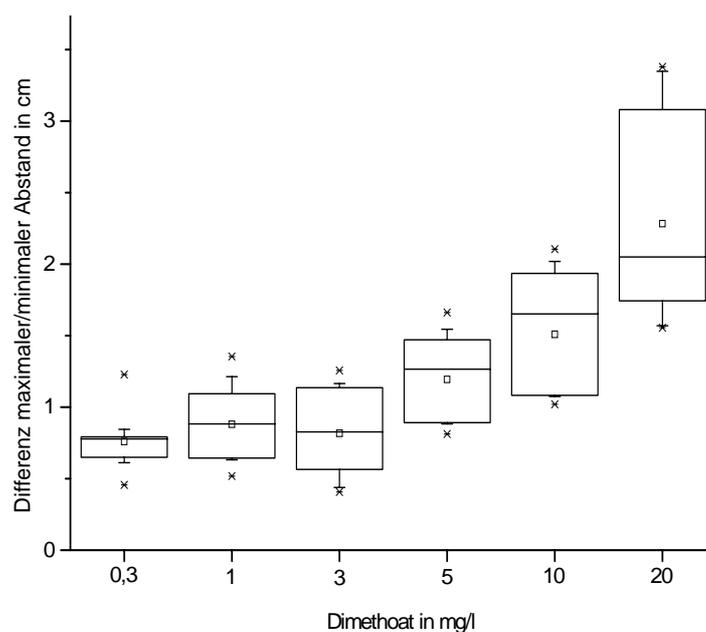


**Abb. 39:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Dimethoat** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

Die Amplitude der Schwimmhöhe (Abb. 40) nahm mit der Konzentration tendenziell leicht zu, wobei die Variationsbreite von 1 mg/L auf 3 mg/L stark anstieg. Sehr viel eindeutiger zeigte sich die konzentrationsabhängige Beeinflussung der Schwimmhöhe bei der Bewertung durch die Alarmalgorithmen (Abb. 42). Hieraus resultierte eine Zunahme der vergebenen Alarmpunkte von durchschnittlich 0,9 bei 0,3 mg/L auf 4,8 bei 20 mg/L. Die durchschnittliche Alarmpunktvergabe von 2,7 bei 1 mg/L fiel etwas höher aus als der Trend dies erwarten lies. Auch die Vergabe der Alarmpunkte für den Abstand zeigte einen konzentrationsabhängigen Anstieg von 0,3 bei 0,3 mg/L auf 4,2 bei 20 mg/L. Dieses Verhältnis des Abstands zeigte sich in der Amplitude und Variationsbreite (Abb. 41), die mit der Konzentration anstiegen.

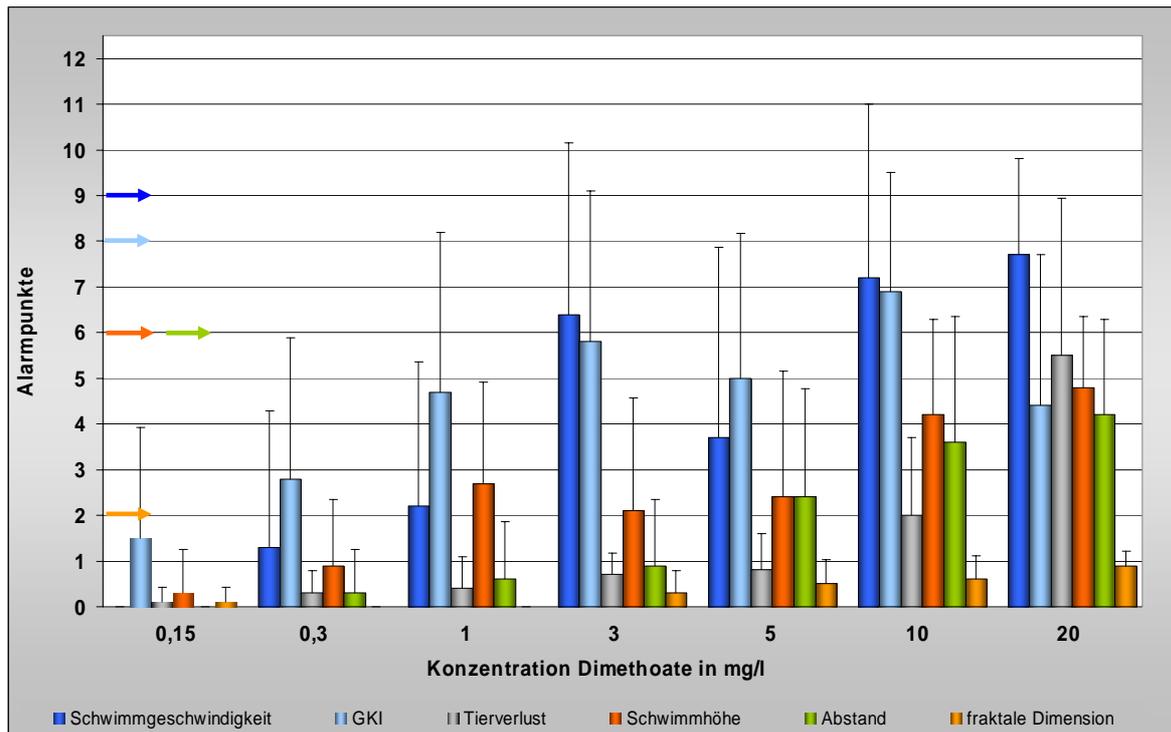


**Abb. 40:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Dimethoat** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

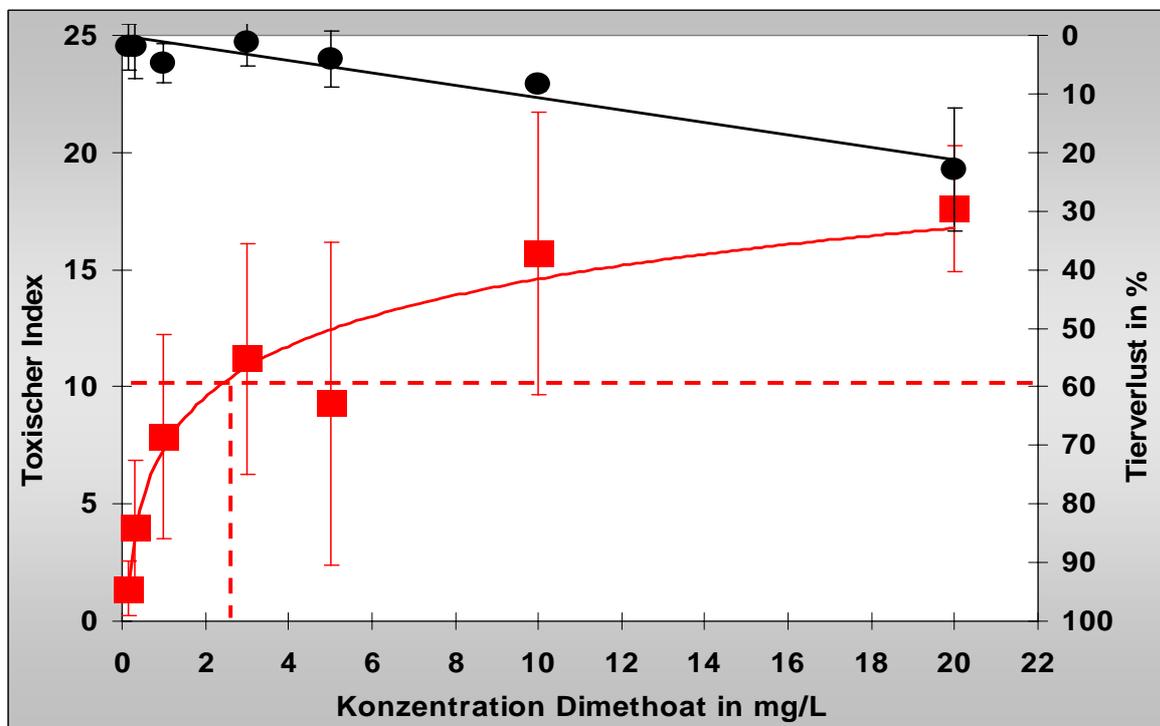


**Abb. 41:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Dimethoat** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

Bei 3 mg/L wurde im Mittel die Alarmschwelle von 10 Alarmpunkten überschritten, wobei hier die Parameter Schwimmgeschwindigkeit und GKI maßgebend waren. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 43) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *D. magna* bei 2,1 mg/L Dimethoat, wobei die Schwankungen zwischen den Messungen so groß ausfielen, dass bei 5 mg/L im Mittel die Alarmschwelle nicht überschritten wurde.



**Abb. 42:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Dimethoat** auf *D. magna*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.

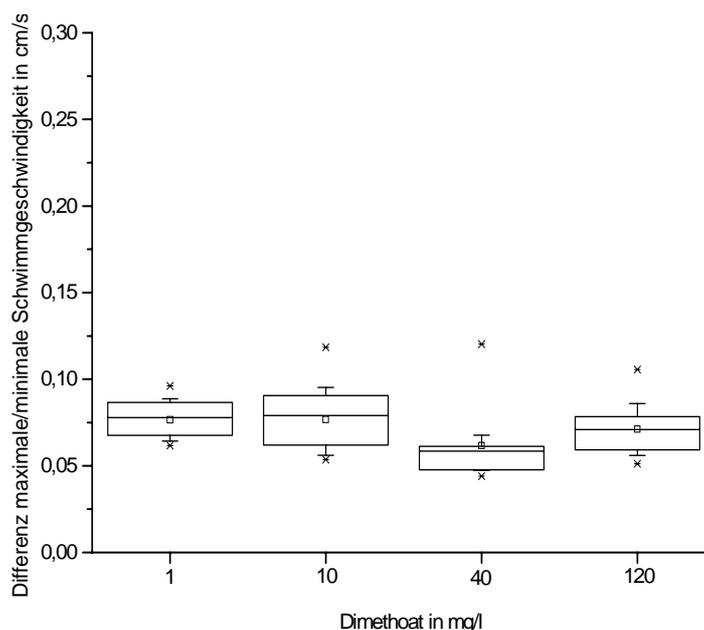


**Abb. 43:** Dosis-Wirkungskurven für **Dimethoat** bei *D. magna* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverlust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

*Eudiaptomus vulgaris*

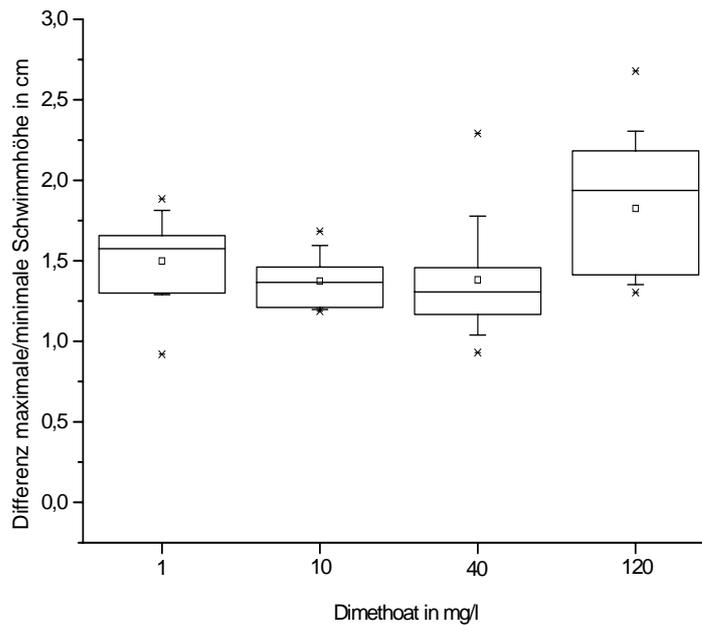
*E. vulgaris* erwies sich als ausgesprochen unempfindlich für den Wirkstoff Dimethoat. Erst der Einsatz von 120 mg/L führte zur Detektion von Verhaltensänderungen, die vereinzelt zu einer Überschreitung der Alarmschwelle von 10 Alarmpunkten führten. Im Mittel war selbst bei dieser Konzentration noch keine alarmwürdige Reaktion der Tiere zu erkennen.

In der Amplitude der Schwimmggeschwindigkeit (Abb. 44) und des Abstands (Abb. 46) waren keine konzentrationsabhängigen Veränderungen auszumachen, obwohl von den Alarmalgorithmen bei 120 mg/L Dimethoat Veränderungen in der Schwimmggeschwindigkeit erkannt und in Folge mit 6,4 Alarmpunkten (Abb. 47) belegt wurden.

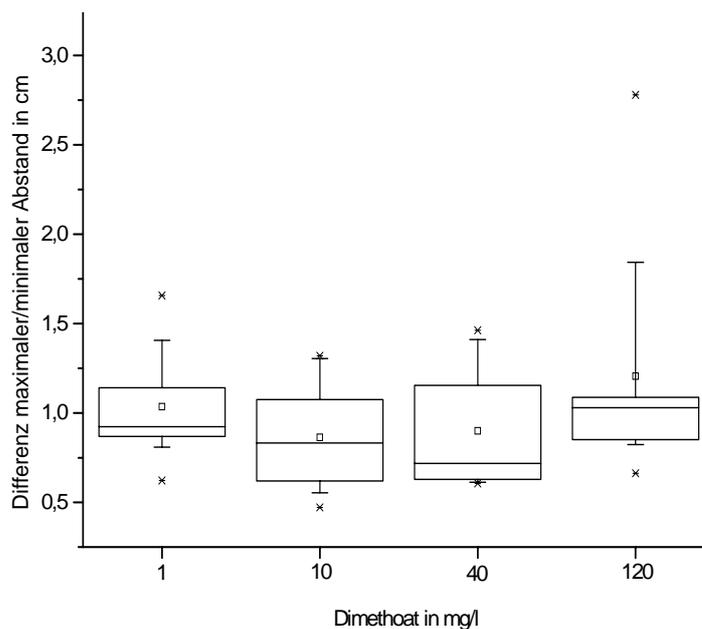


**Abb. 44:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmggeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Dimethoat** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Einzig die Schwimmhöhe (Abb. 45) lässt bei 120 mg/L einen Anstieg in der Amplitude und der Variationsbreite erkennen. Im Toxischen Index spielte die Schwimmhöhe mit durchschnittlich 0,6 Punkten bei der höchsten Konzentration (120 mg/L) nur eine untergeordnete Rolle.

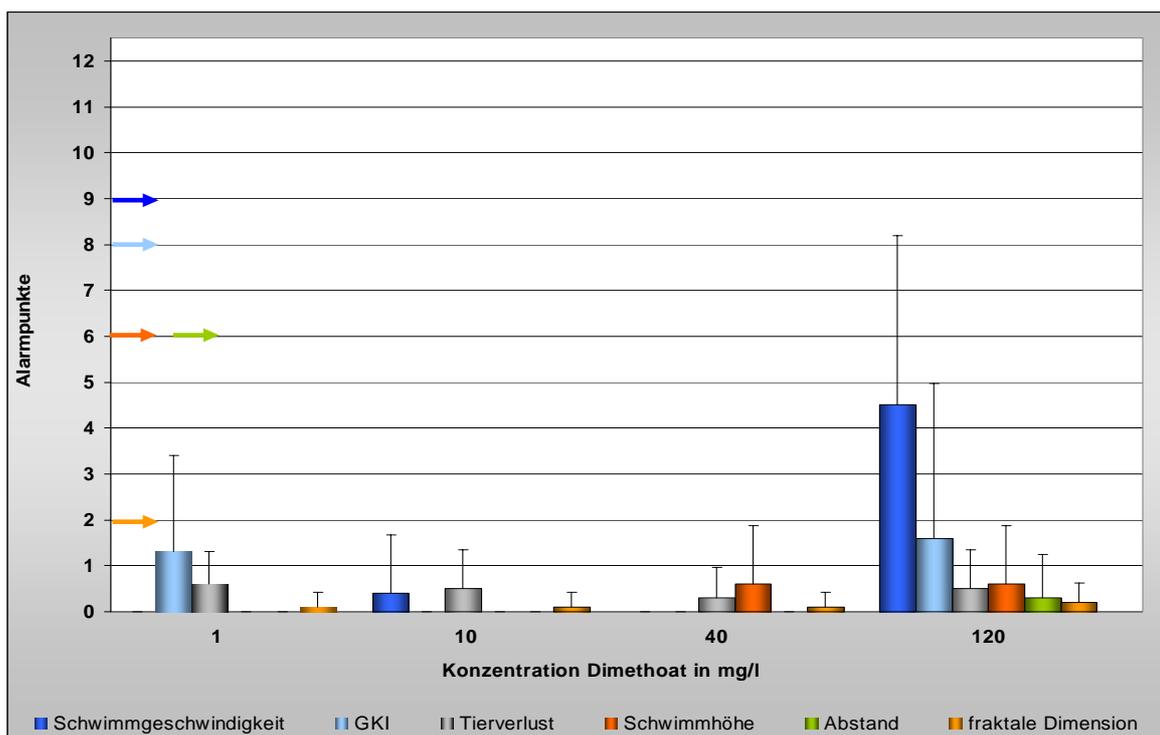


**Abb. 45:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Dimethoat** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

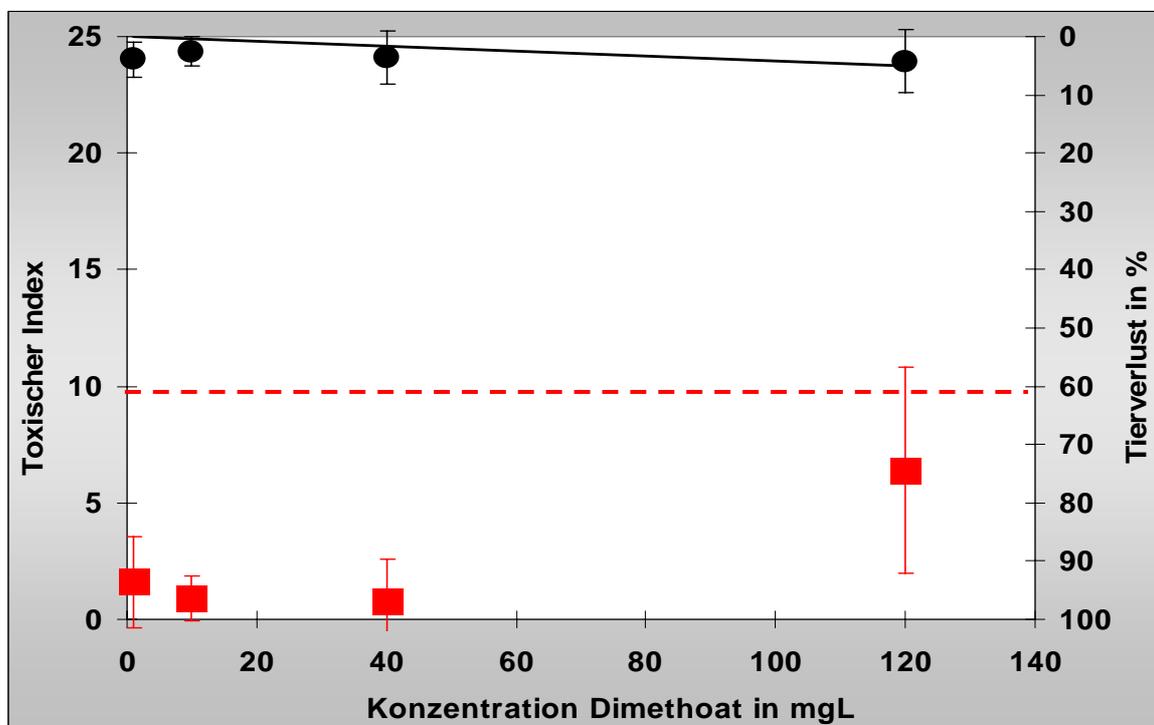


**Abb. 46:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Dimethoat** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Eine Dosis-Wirkungskurve konnte aus den Daten nicht abgeleitet werden. Die Alarmschwellen-Konzentration (Abb. 48) für Dimethoat bei Messungen mit *E. vulgaris* lag über 120 mg/L.



**Abb. 47:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Dimethoat** auf *E. vulgaris*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.

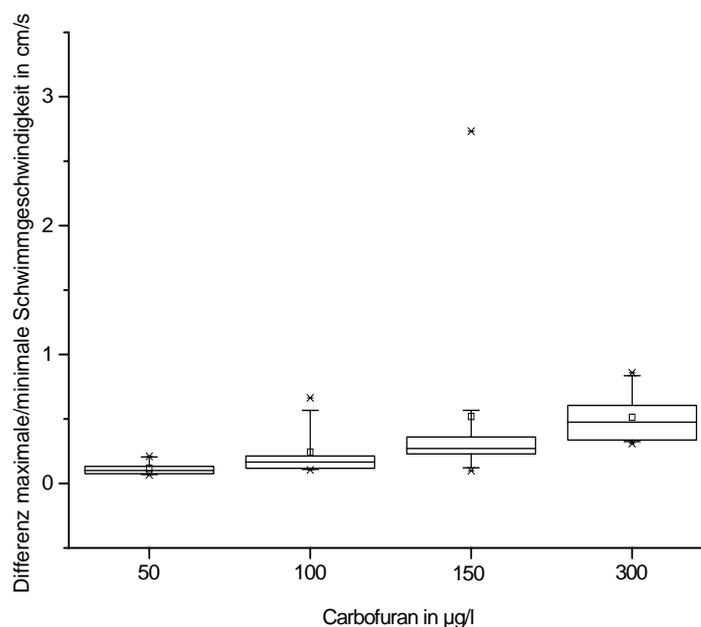


**Abb. 48:** Toxischer Index (■) und prozentualer Tierverlust (●) für Messungen von **Dimethoat** mit *E. vulgaris*. Die rot gestrichelte Linie verweist auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

### 3.4.3 Carbofuran

#### *Daphnia magna*

Die Amplitude der Schwimgeschwindigkeit (Abb. 49) nahm für *D. magna* mit steigender Konzentration an Carbofuran (50 bis 300 µg/L) zu. Gleichzeitig stieg die Variationsbreite an. Bei 150 µg/L wurde einmalig ein Maximalwert von 2,7 cm/s gemessen. Es ist davon auszugehen, dass *D. magna* nicht in der Lage ist mit einer derart hohen Geschwindigkeit zu schwimmen und es sich hier um einen messtechnisch bedingten Fehlwert handelt. Als Folge dieses Einzelwertes lag bei 150 µg/L der Mittelwert deutlich oberhalb des Median. Von dieser Ausnahme abgesehen, traten für *D. magna* im Parameter Schwimgeschwindigkeit nur wenige Extremwerte ( $> 95$  Perzentil oder  $< 5$  Perzentil) auf. Die Veränderungen in der Schwimgeschwindigkeit führten mit zunehmender Carbofuran-Konzentration zu einem Anstieg der vergebenen Alarmpunkte (Abb. 52), bis auf die maximal zu erreichende Punktzahl von 9 für alle mit 300 µg/L Carbofuran durchgeführten Messungen.

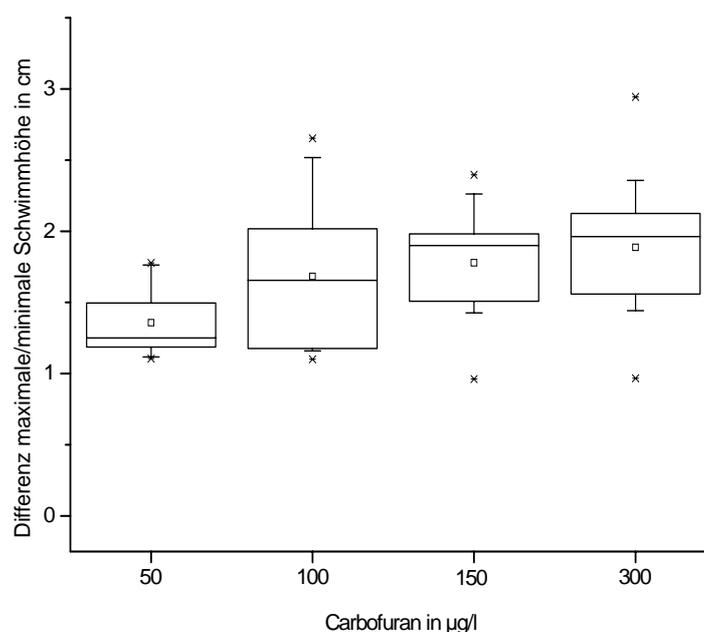


**Abb. 49:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbofuran** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

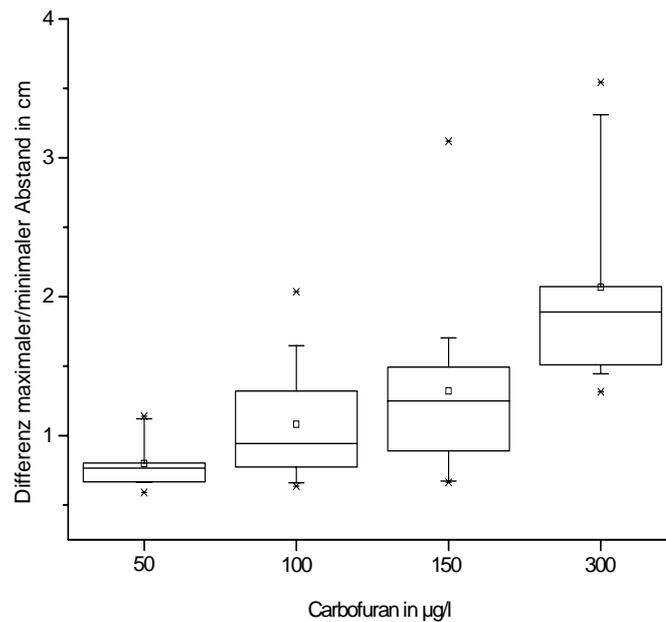
Die Amplitude der Schwimmhöhe (Abb. 50) nahm zwischen Messungen mit 50 µg/L und 100 µg/L Carbofuran deutlich zu, während mit weiterer Erhöhung der

Giftstoff-Konzentration nur noch eine leichte Zunahme stattfand. Die Variationsbreite war für Messungen mit 50 µg/L geringer als für die höheren Konzentrationen, wobei sie bei 100 µg/L Carbofuran am größten ausfiel. Mit durchschnittlich 3,9 vergebenen Alarmpunkten (Abb. 52) wurde die Schwimmhöhe auch mit der Auswertung durch die Alarmalgorithmen bei 100 µg/L Carbofuran am höchsten bewertet.

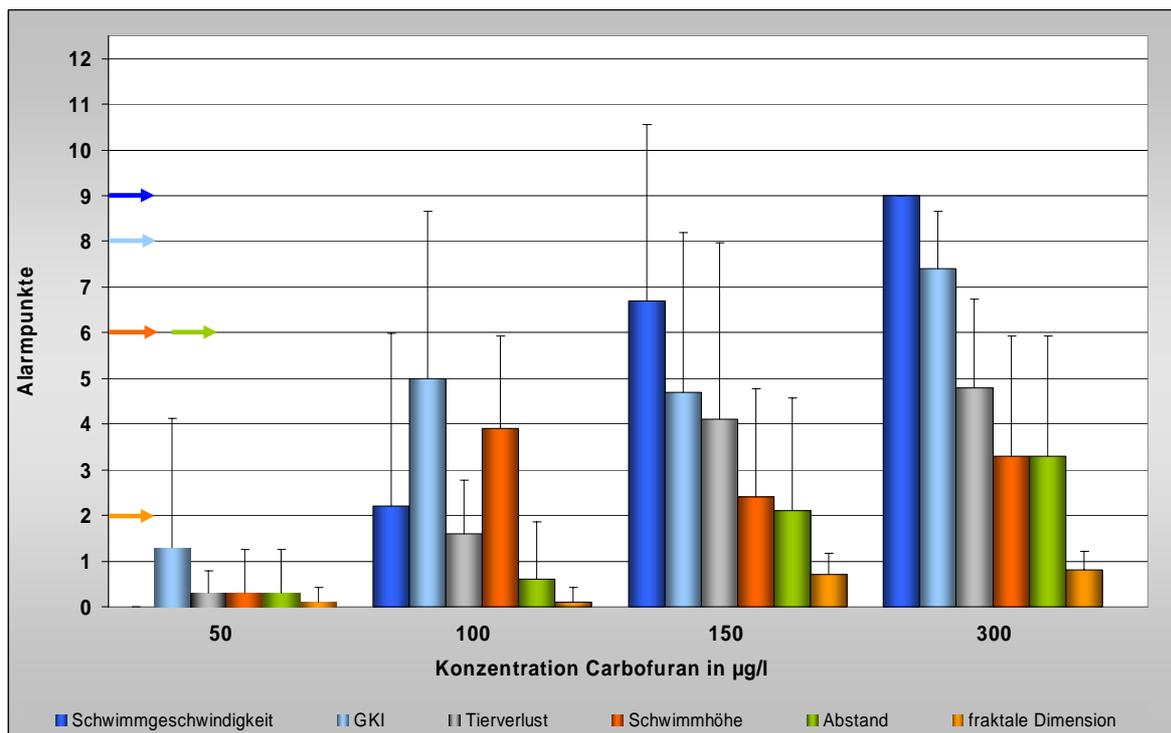
Die Amplitude des Abstands (Abb. 51) stieg mit der Konzentration an. Die Variationsbreite zwischen den Messungen mit 50 µg/L und denen mit 100 µg/L Carbofuran nahm deutlich zu und blieb bei den höheren Konzentrationen annähernd konstant. Bei den beiden höchsten Konzentrationen traten Amplituden im Abstand von bis zu 3,5 cm auf. Solche Werte können bei der räumlich begrenzten Messkammer nur ermittelt werden, wenn sich die Zahl der Testorganismen stark reduziert hat. Dem entsprachen die hier ermittelten Tierverluste von durchschnittlich 35 bis 50 Prozent, welche mit durchschnittlich 4,1-4,8 Punkten (Abb. 52) in den Toxischen Index eingingen. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 53) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *D. magna* bei 110 µg/L Carbofuran.



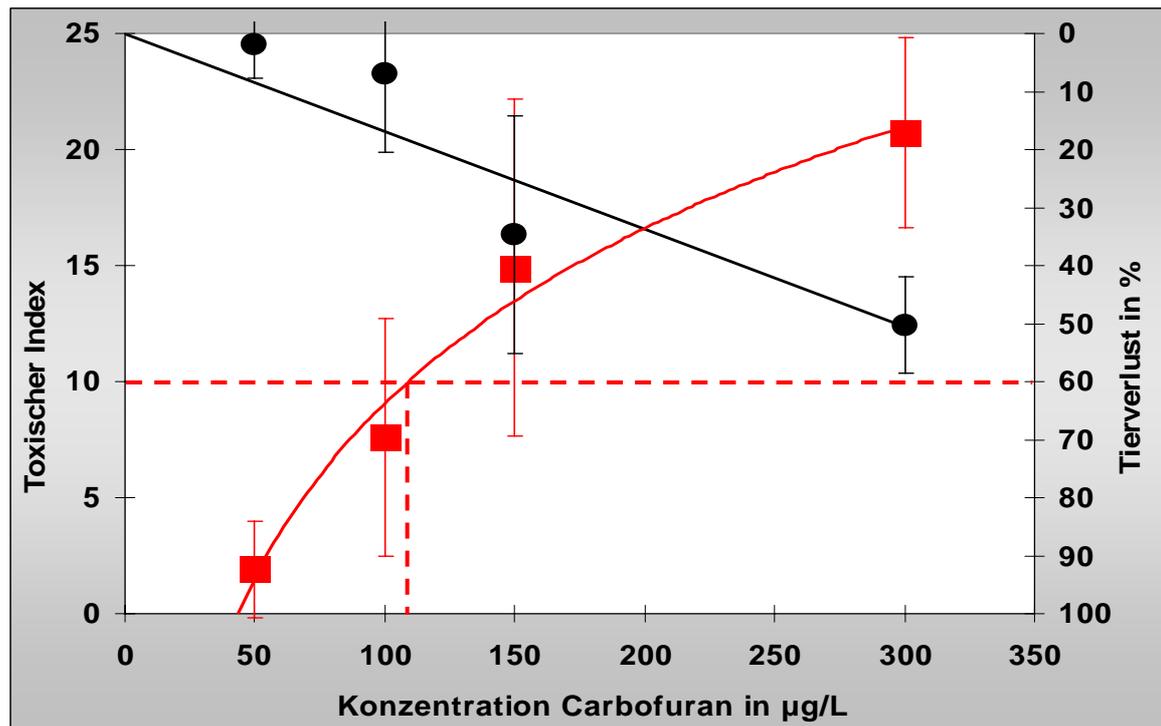
**Abb. 50:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbofuran** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.



**Abb. 51:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbofuran** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.



**Abb. 52:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Carbofuran** auf *D. magna*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverslust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.



**Abb. 53:** Dosis-Wirkungskurven für **Carbofuran** bei *D. magna* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverslust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

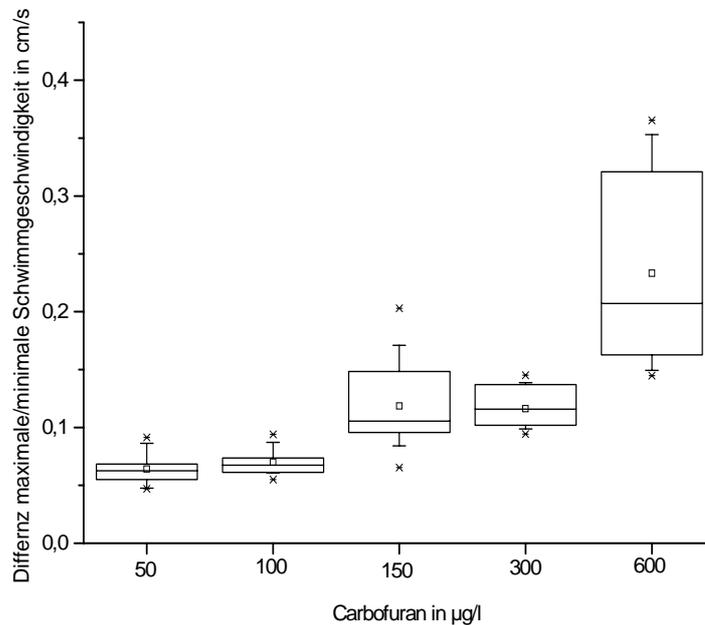
### *Eudiaptomus vulgaris*

Die Schwimmgeschwindigkeit (Abb. 54) nahm in der Amplitude und in der Variationsbreite von 100 auf 150 µg/L und von 300 auf 600 µg/L Carbofuran sprunghaft zu. Mit der Bewertung durch die Alarmalgorithmen (Abb. 57) zeigte sich bei 150 µg/L ebenfalls eine sprunghafte Zunahme, die zur Vergabe von durchschnittlich 7,3 Alarmpunkten führte. Für die Messungen mit 600 µg/L wurden jedoch mit durchschnittlich 5,2 Alarmpunkten deutlich weniger Auffälligkeiten in der Schwimmgeschwindigkeit detektiert.

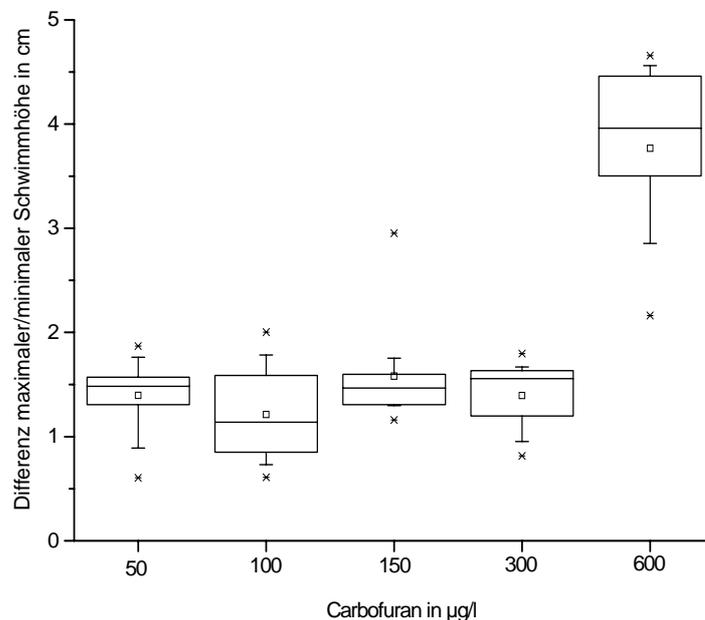
Bis zu einer Konzentration von 300 µg/L wiesen die Differenzen der Schwimmhöhe (Abb. 55) und des Abstands (Abb. 56) keine ersichtliche Abhängigkeit zur eingesetzten Konzentration auf, wohingegen für beide Parameter die Amplitude und die Variationsbreite bei 600 µg/L Carbofuran deutlich anstiegen. Dies spiegelt sich in der Vergabe der Alarmpunkte (Abb. 57), welche bei 600 µg/L mit durchschnittlich 5,7 für die Schwimmhöhe und 4,2 für den Abstand hohe Werte

## Ergebnisse

einnahmen, während bei den niedrigeren Konzentrationen die Bewertungen mit maximal 1,5 Alarmpunkten nur von untergeordneter Bedeutung waren.



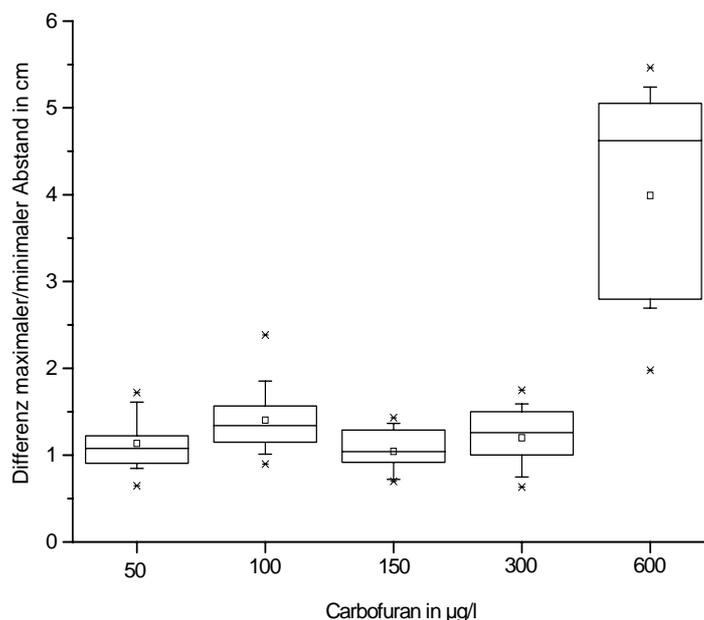
**Abb. 54:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbofuran** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.



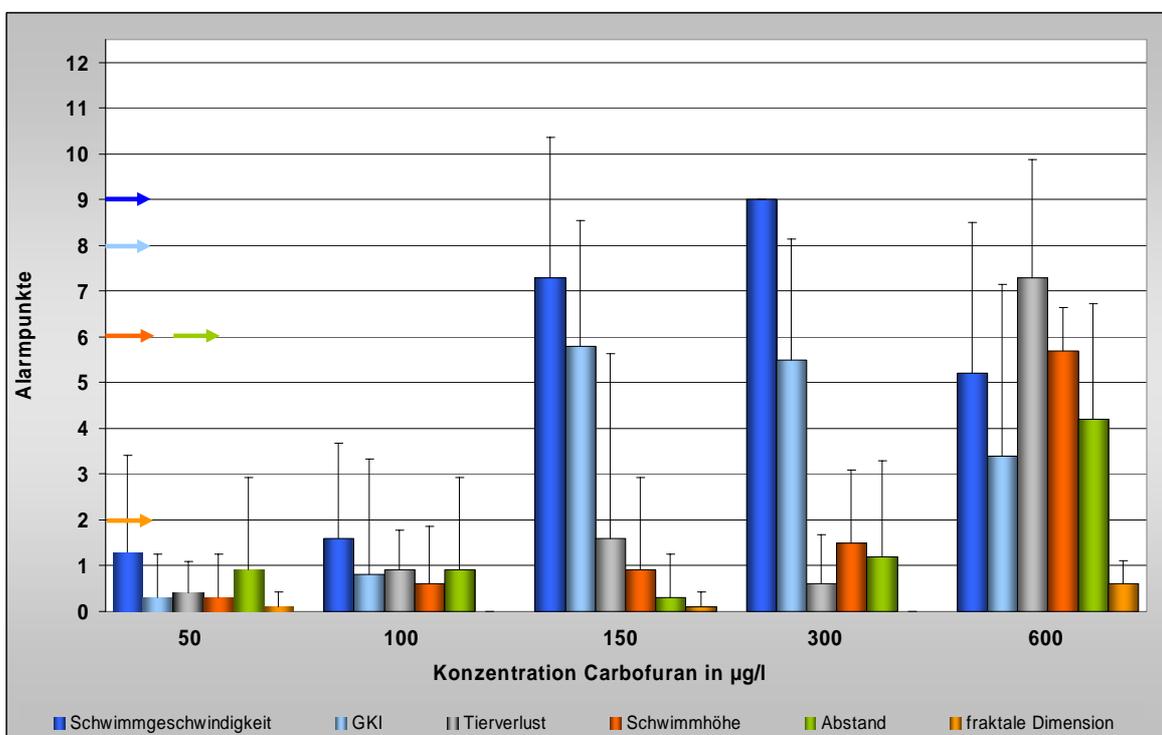
**Abb. 55:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbofuran** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Im Abstand (Abb. 56) traten bei den Messungen mit 600 µg/L Werte von maximal 5,5 cm auf, die auf einen Verlust von Testorganismen hinweisen. Der Tierverlust (Abb. 58) lag hier bei 49 Prozent und ging mit durchschnittlich 7,3 Punkten

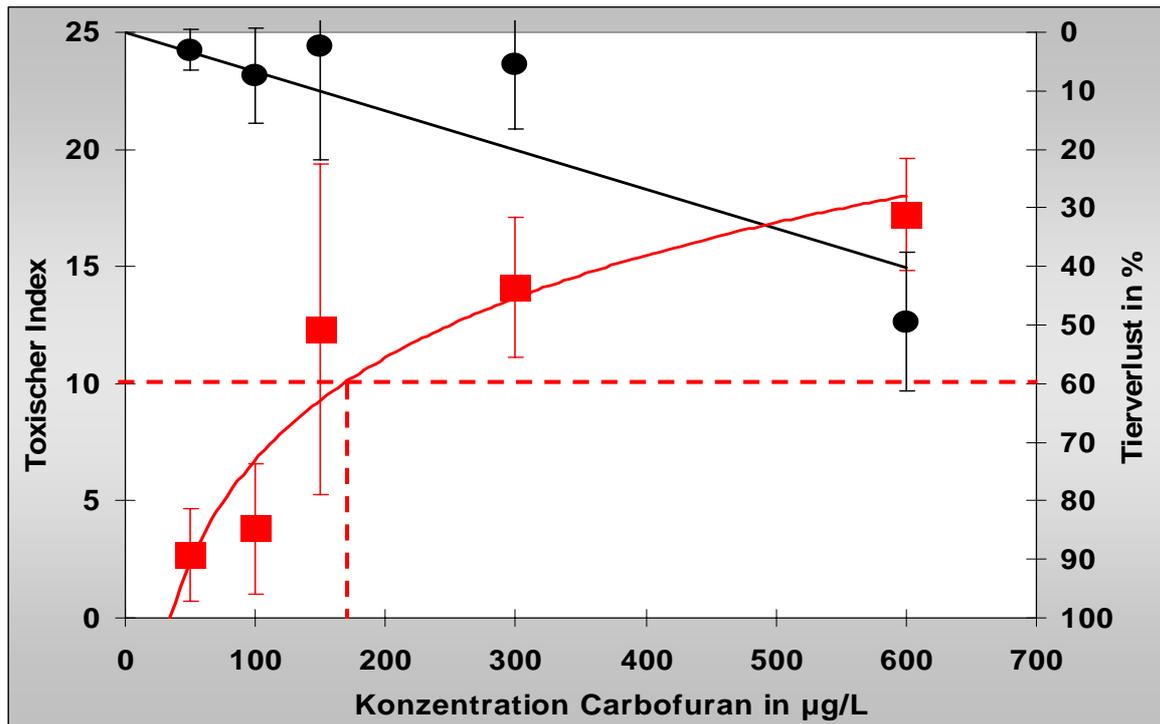
(Abb. 57) in den Toxischen Index ein. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 58) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *E. vulgaris* bei 155 µg/L Carbofuran.



**Abb. 56:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbofuran** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.



**Abb. 57:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Carbofuran** auf *E. vulgaris*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.

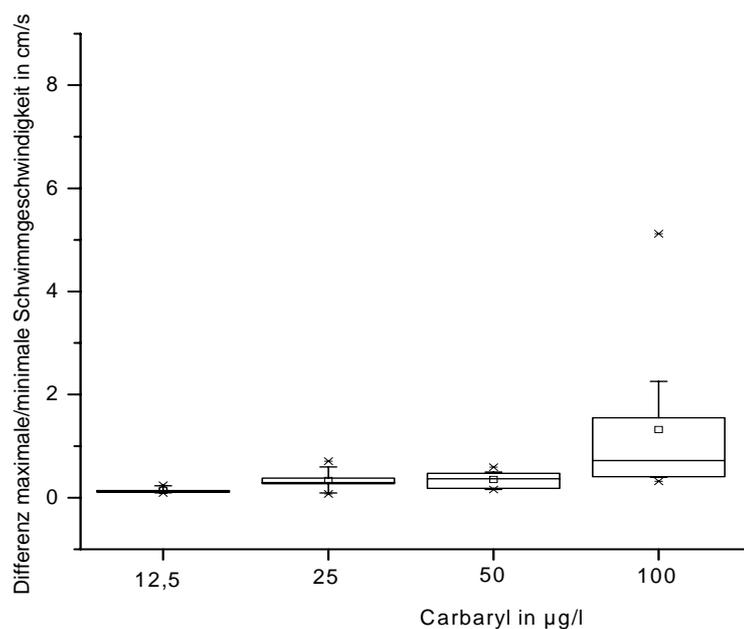


**Abb. 58:** Dosis-Wirkungskurven für **Carbofuran** bei *E. vulgaris* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverslust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

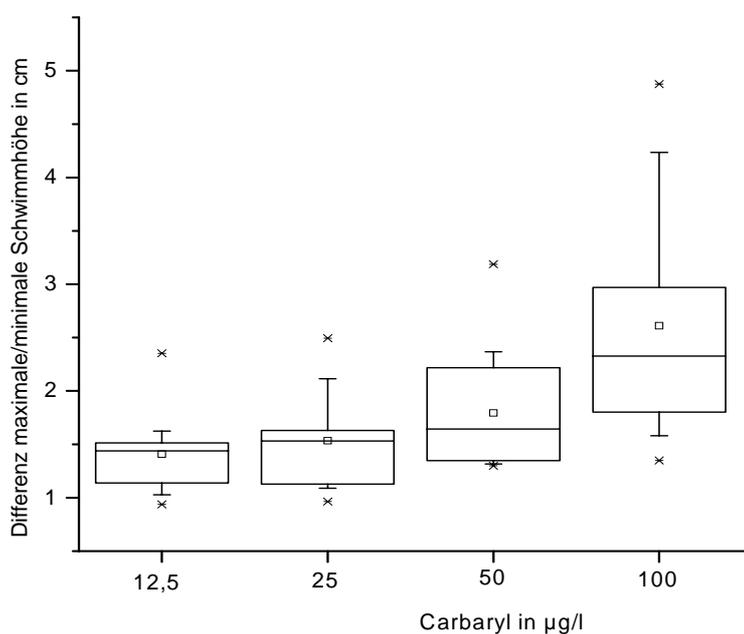
### 3.4.4 Carbaryl

#### *Daphnia magna*

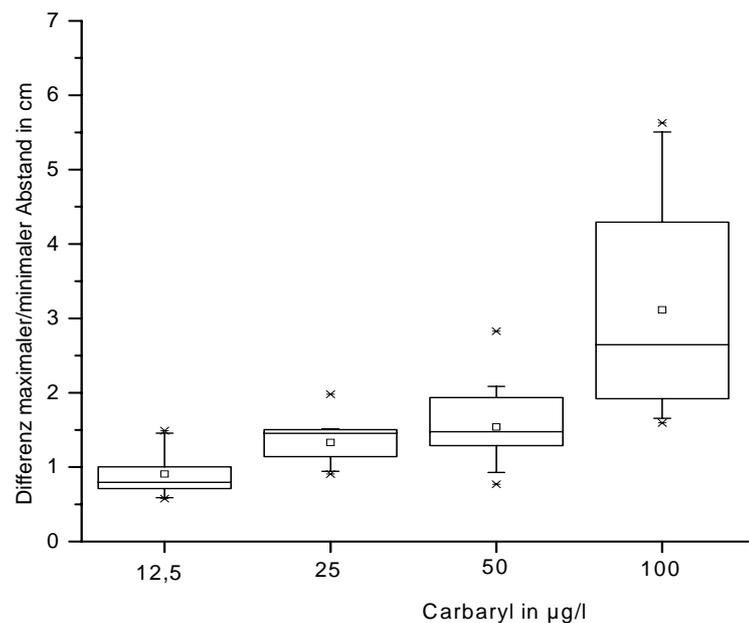
Die Schwimmgeschwindigkeit (Abb. 59), die Schwimmhöhe (Abb. 60) und der Abstand (Abb. 61) nahmen sowohl im Mittel (Amplitude) als auch in der Variationsbreite konzentrationsabhängig zu. Extremwerte (> 95 Perzentil oder < 5 Perzentil) traten im Fall der Schwimmgeschwindigkeit nur bei der höchsten Konzentration (100 µg/L) auf, wohingegen bei den anderen beiden Parametern (Schwimmhöhe und Abstand) bei allen Konzentrationsstufen Extremwerte vorkamen.



**Abb. 59:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbaryl** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

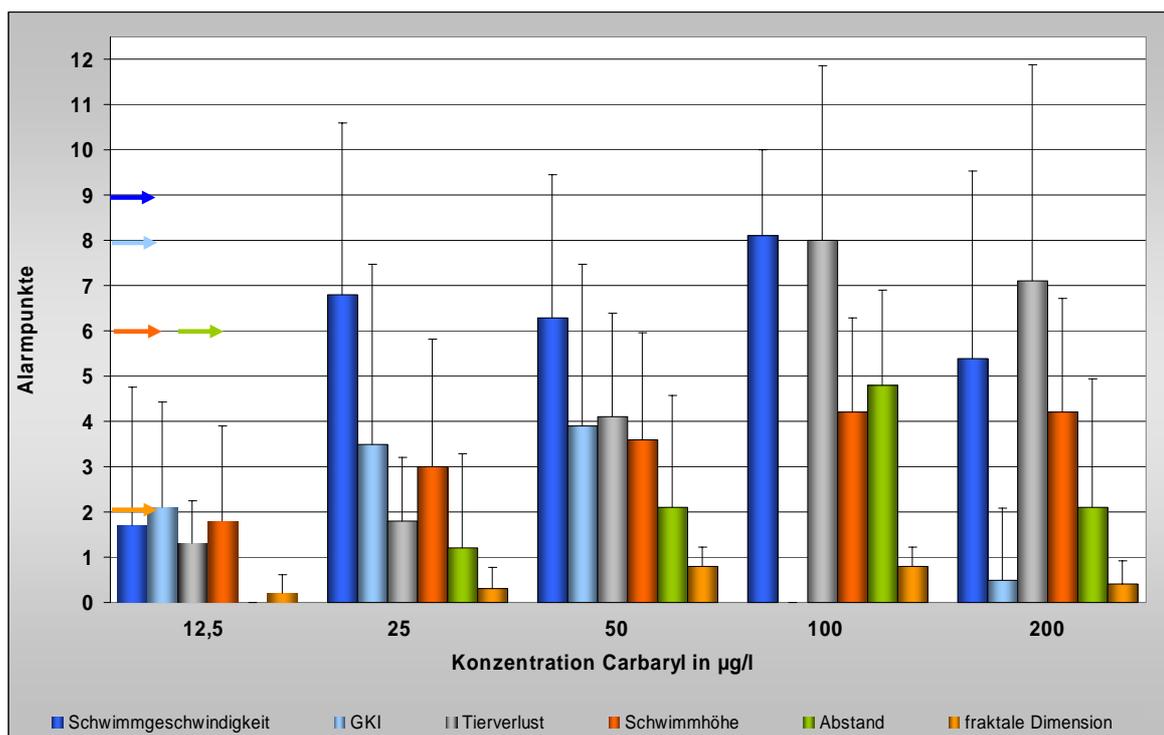


**Abb. 60:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbaryl** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

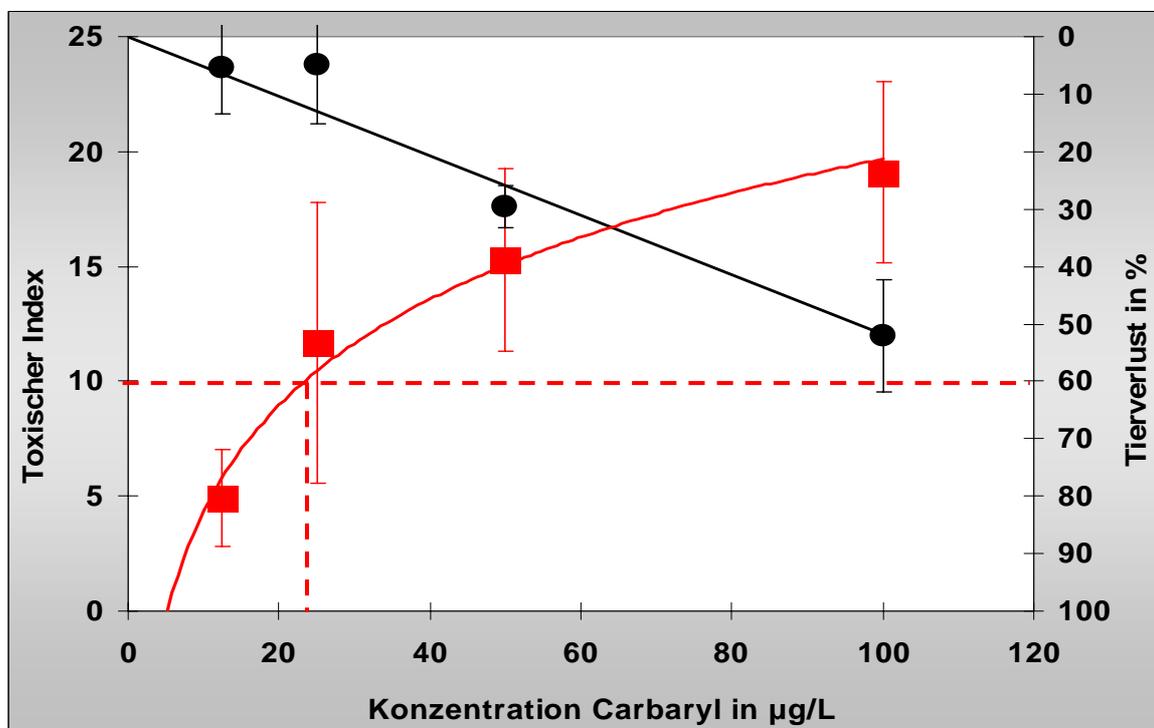


**Abb. 61:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbaryl** im kontinuierlichen Test mit *D. magna* .

Bei der Vergabe der Alarmpunkte (Abb. 62) zeigte sich ebenfalls ein konzentrationsabhängiger Anstieg, der im Falle der Schwimmgeschwindigkeit sein Maximum bei 100 µg/L mit 8,1 Alarmpunkten erreichte. Ein ähnlicher Verlauf ergab sich für die Parameter Schwimmhöhe und Abstand, für die bei 100 µg/L im Mittel 4,2 Alarmpunkte (Schwimmhöhe) und 4,8 Alarmpunkte (Abstand) vergeben wurden. Auffälligerweise wurden bei den Messungen mit 100 µg/L Carbaryl keine Alarmpunkte für den GKI vergeben. Einen erheblichen Anteil am Toxischen Index hatte die Bewertung des Tierverlustes, mit maximal 8 Punkten. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 63) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *D. magna* bei 22 µg/L Carbaryl.



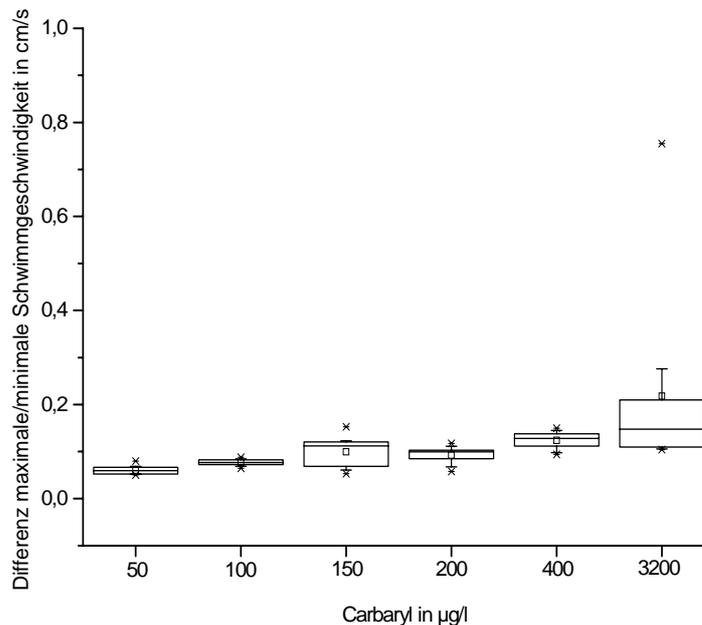
**Abb. 62:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Carbaryl** auf *D. magna*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.



**Abb. 63:** Dosis-Wirkungskurven für **Carbaryl** bei *D. magna* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverlust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

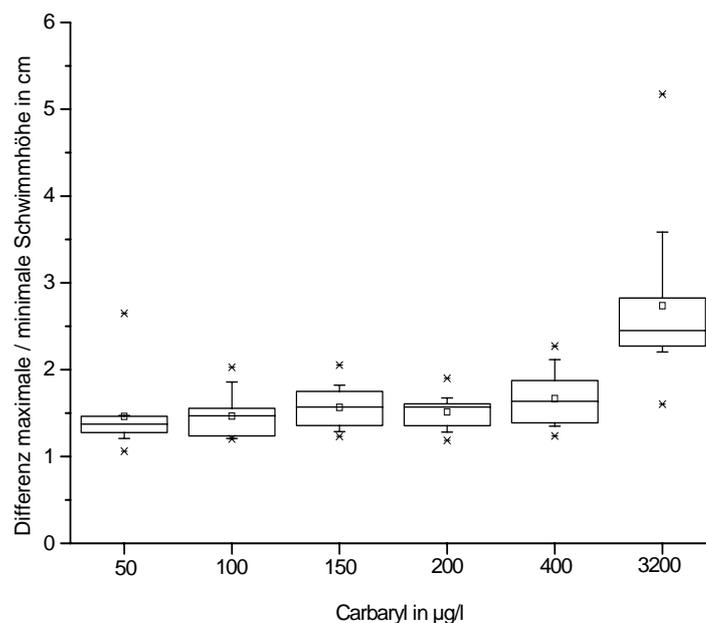
### *Eudiaptomus vulgaris*

Die Amplitude der Schwimgeschwindigkeit (Abb. 64) nahm tendenziell mit der Konzentration zu. Dieses Verhältnis spiegelte sich bei der Vergabe der Alarmpunkte (Abb. 67), die von durchschnittlich 0 bei 50 µg/L auf 7,7 bei 400 µg/L anstiegen, wobei hier bei der höchsten Konzentration von 3200 µg/L Carbaryl ein Rückgang in der Bewertung der Schwimgeschwindigkeit auf 5,4 Alarmpunkte erfolgte.

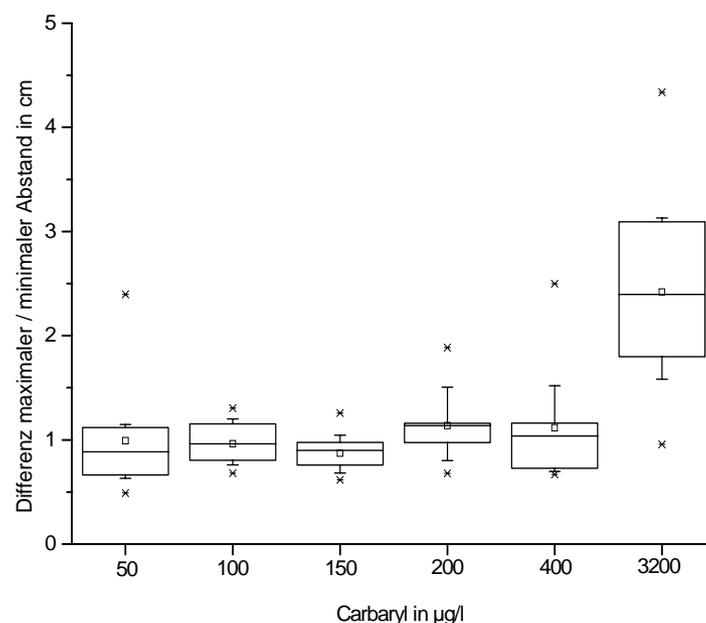


**Abb. 64:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbaryl** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Bis zu einer Konzentration von 400 µg/L wiesen die Differenzen in der Schwimmhöhe (Abb. 65) und im Abstand (Abb. 66) keine ersichtliche Abhängigkeit zur eingesetzten Konzentration auf, wohingegen für beide Parameter die Amplitude und die Variationsbreite bei 3200 µg/L Carbaryl deutlich anstiegen.

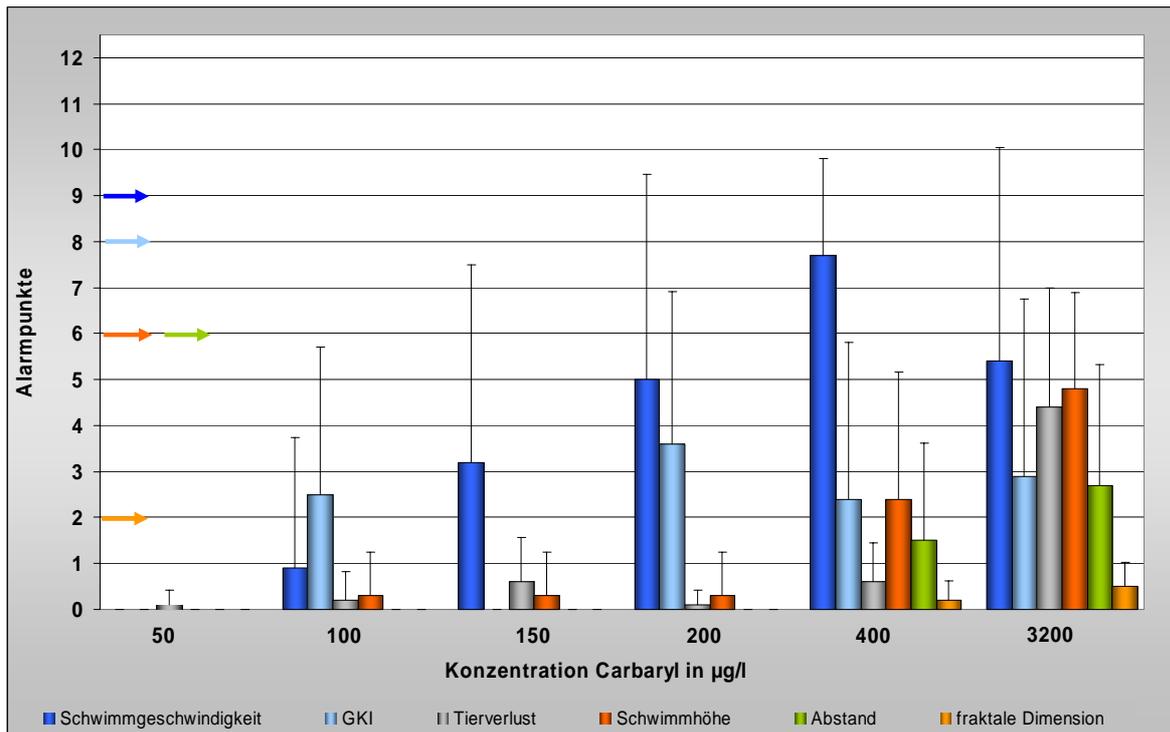


**Abb. 65:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbaryl** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

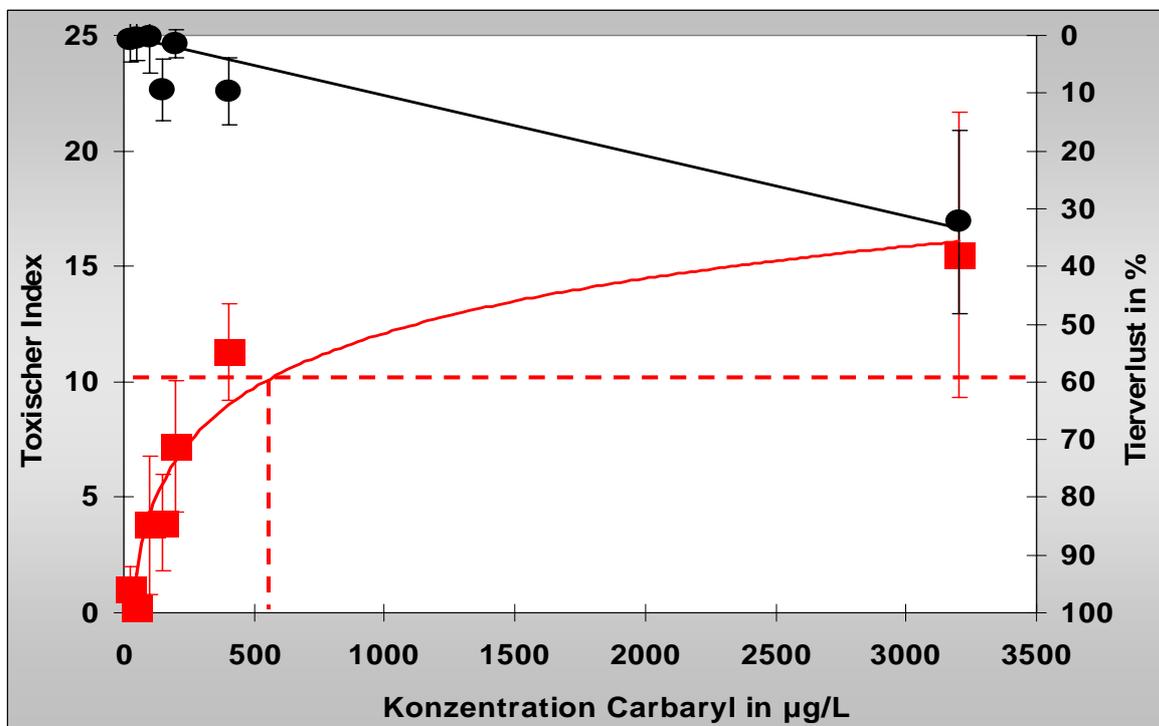


**Abb. 66:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Carbaryl** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Bei der Vergabe der Alarmpunkte (Abb. 67) stiegen die Parameter Schwimmhöhe und Abstand erst ab einer Konzentration von 400 µg/L nennenswert an. Das durchschnittliche Maximum bei der Vergabe der Alarmpunkte betrug für die Schwimmhöhe 4,8 von 6 und für den Abstand 2,7 von 6, beide ermittelt bei der Wirkung von 3200 µg/L Carbaryl. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 68) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *E. vulgaris* bei 550 µg/L Carbaryl.



**Abb. 67:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Carbaryl** auf *E. vulgaris*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.

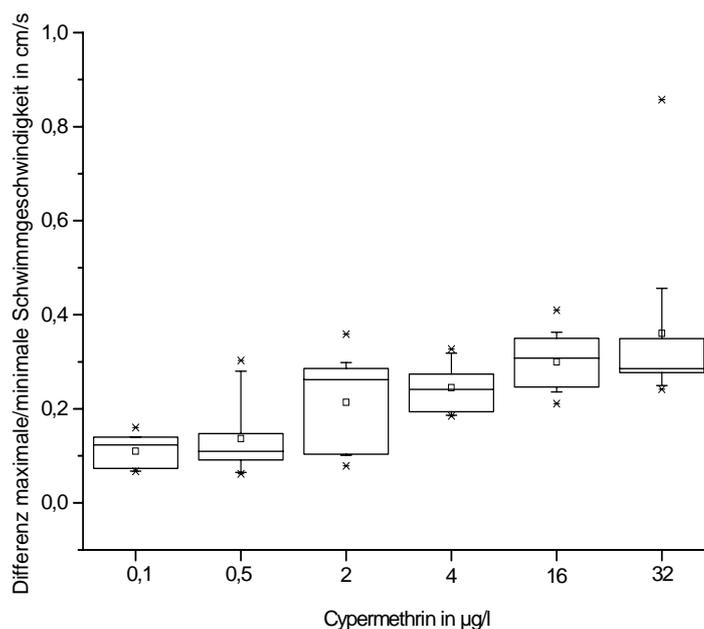


**Abb. 68:** Dosis-Wirkungskurven für **Carbaryl** bei *E. vulgaris* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverlust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

### 3.4.5 Cypermethrin

#### *Daphnia magna*

Die Amplitude der Schwimgeschwindigkeit (Abb. 69) nahm im Mittel mit steigender Cypermethrin-Konzentration zu, wobei die Variationsbreite keine konzentrationsabhängige Beeinflussung zeigte. Die Variationsbreite war bei den Messungen mit 2 µg/L Cypermethrin am größten. Bereits bei der niedrigsten eingesetzten Konzentration (0,1 µg/L) wurden für den Parameter Schwimgeschwindigkeit im Mittel 3 und für den GKI 2,4 Alarmpunkte (Abb. 72) vergeben. Mit der Konzentration stieg die Zahl der durchschnittlich vergebenen Alarmpunkte für den Parameter Schwimgeschwindigkeit auf durchschnittlich 7,5 bei 4 µg/L Cypermethrin an und nahm mit steigender Konzentration wieder leicht auf 5,8 bei 32 µg/L ab.

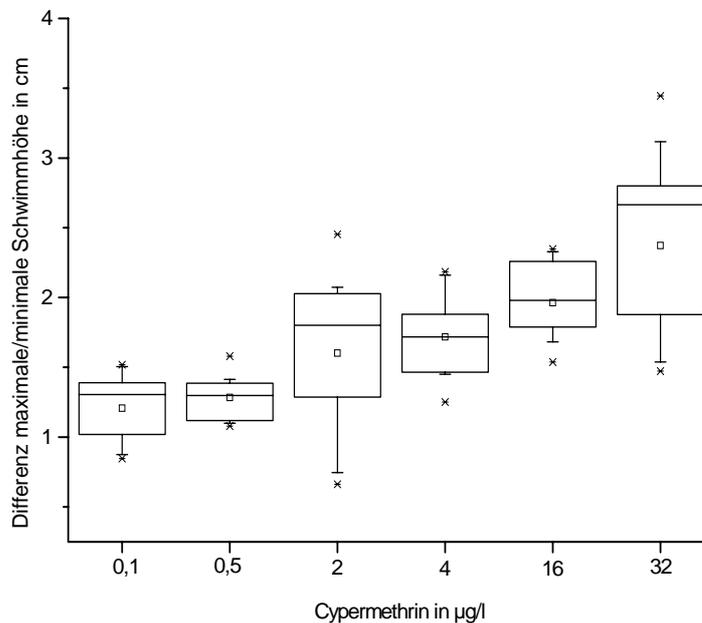


**Abb. 69:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Cypermethrin** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

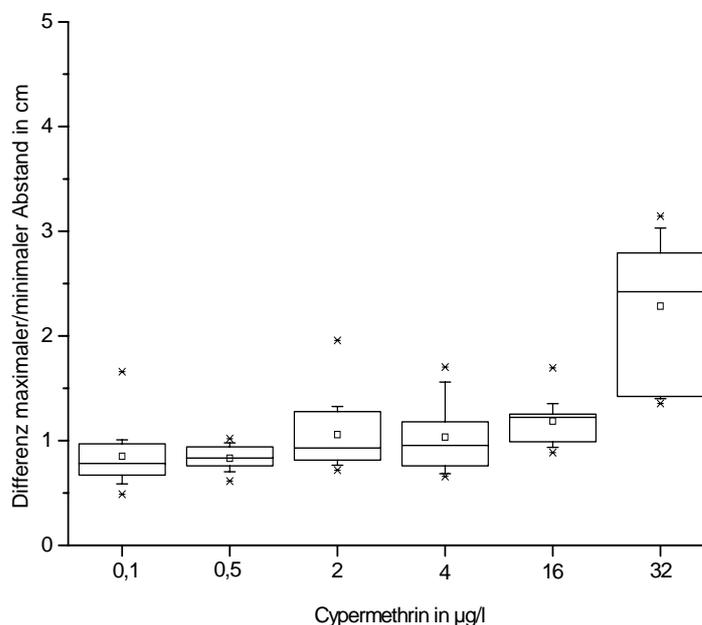
Die Amplitude der Schwimmhöhe (Abb. 70) stieg mit der Konzentration an. Auch bei diesem Parameter lag die Variationsbreite bei 2 µg/L über dem Durchschnitt, wobei eine noch größere Variation bei der höchsten hier eingesetzten Konzentration (32 µg/L) auftrat. Hinsichtlich der vergebenen Alarmpunkte (Abb. 72) im Parameter Schwimmhöhe war ein Anstieg mit der Konzentration, von 0,3 bei 0,1µg/L auf 4,2

## Ergebnisse

bei 32  $\mu\text{g/L}$  festzustellen, wobei bei den Messungen mit 16  $\mu\text{g/L}$  etwas weniger Alarmpunkte vergeben wurden als dies nach dem Trend zu erwarten gewesen wäre.



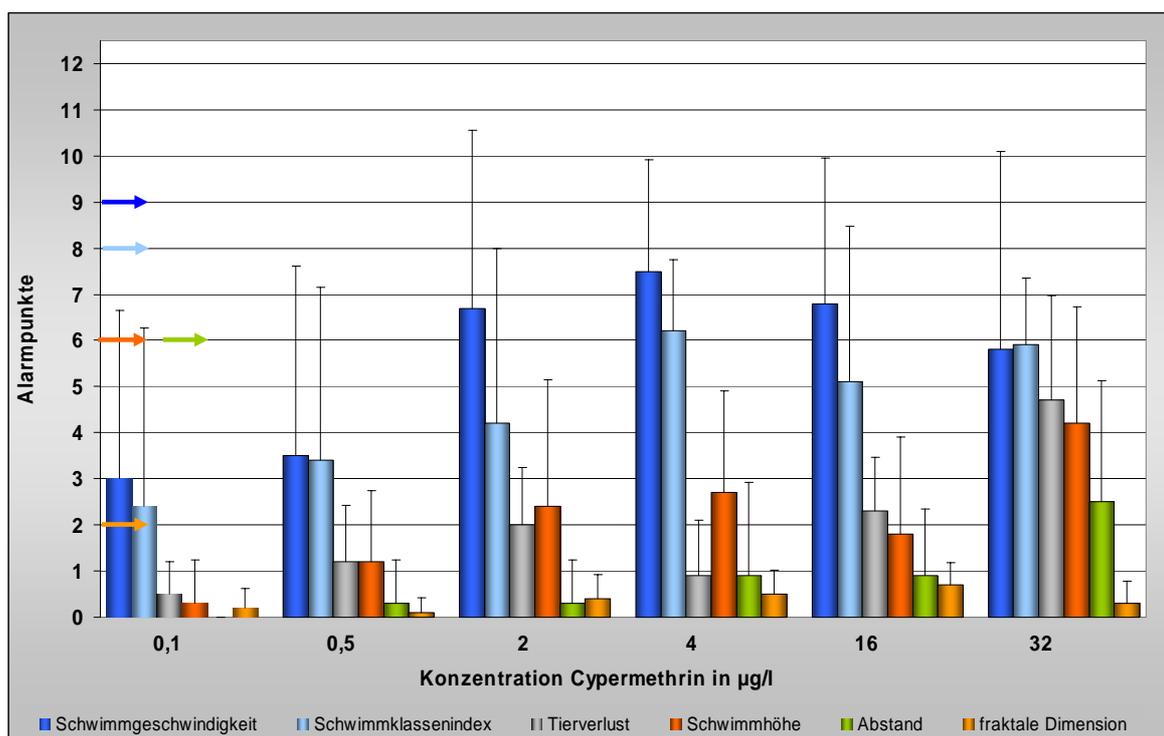
**Abb. 70:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Cypermethrin** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.



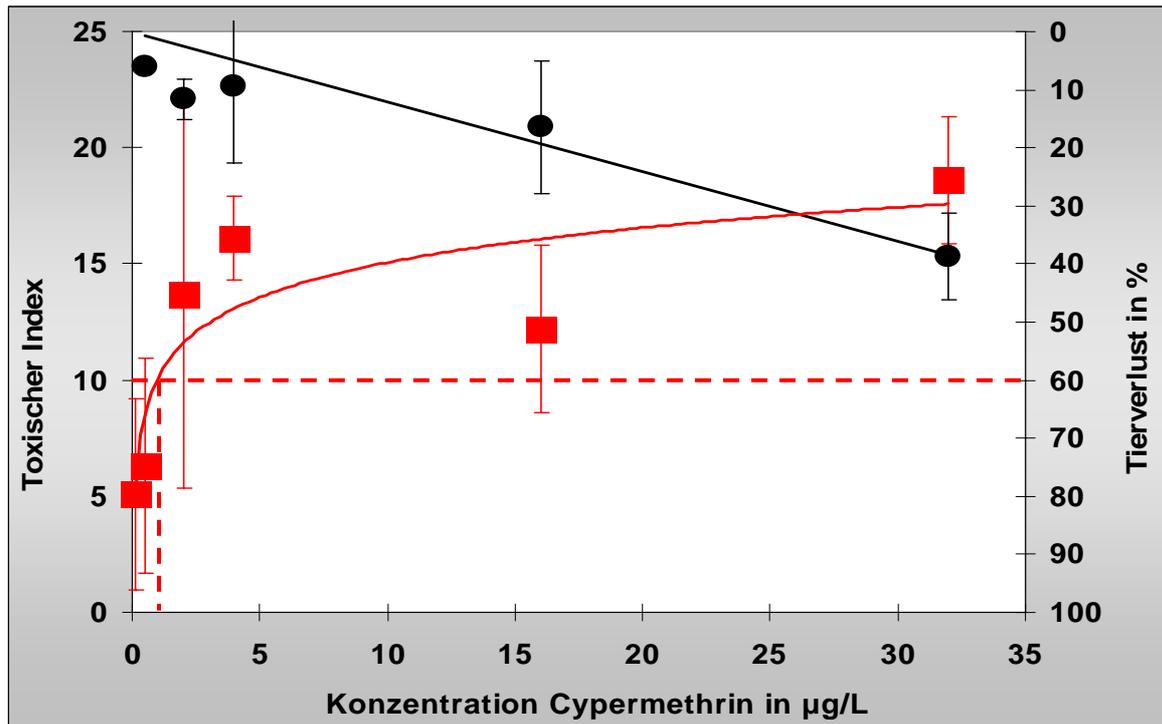
**Abb. 71:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Cypermethrin** im kontinuierlichen Test mit *D. magna*.

Die Amplitude des Abstands (Abb. 71) zeigte keine klare Abhängigkeit mit der Konzentration, lediglich bei der höchsten Dosis von 32  $\mu\text{g/L}$  stieg sie deutlich im Mittel auf 2,3 cm an. Auch der Variationsbreite erhöhte sich bei 32  $\mu\text{g/L}$  stark. Im

Bezug auf die Vergabe von Alarmpunkten (Abb. 72) zeigte sich für den Abstand ein leichter Anstieg bei 4 und 16  $\mu\text{g/L}$  auf durchschnittlich 0,9 Punkte. Eine deutliche Zunahme, der durch die Alarmalgorithmen detektierten Auffälligkeiten stellte sich erst bei 32  $\mu\text{g/L}$  Cypermethrin ein und führte zur Vergabe von durchschnittlich 2,5 Alarmpunkten. Insgesamt war der Toxische Index weitgehend durch die Schwimmgeschwindigkeit und den GKI bestimmt. Erst bei der höchsten eingesetzten Konzentration von 32  $\mu\text{g/L}$  stellten die anderen Parameter (Tierverlust, Schwimmhöhe, Abstand und fraktale Dimension) zusammen genommen die Hälfte der vergebenen Alarmpunkte. Mit durchschnittlich 12,2 Alarmpunkten, fiel der Toxische Index bei 16  $\mu\text{g/L}$  niedriger aus als dies anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 73) zu erwarten gewesen wäre. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *D. magna* bei 1  $\mu\text{g/L}$  Cypermethrin.



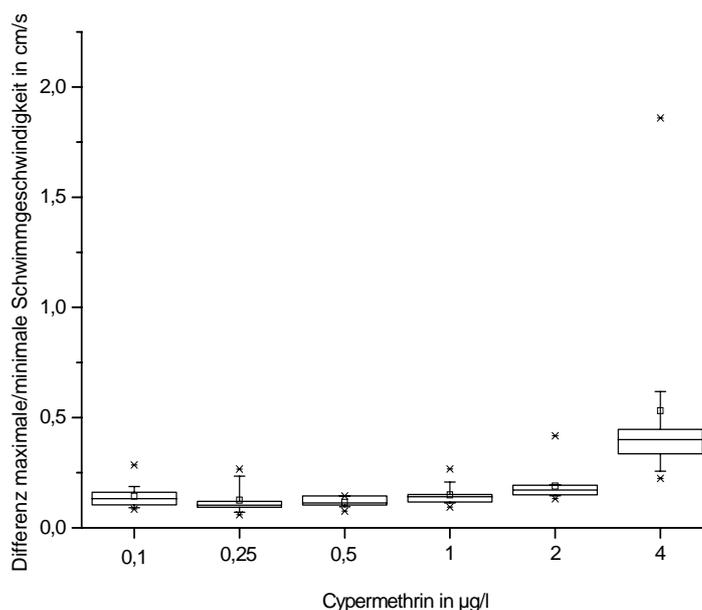
**Abb. 72:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Cypermethrin** auf *D. magna*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverlust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.



**Abb. 73:** Dosis-Wirkungskurven für **Cypermethrin** bei *D. magna* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverslust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

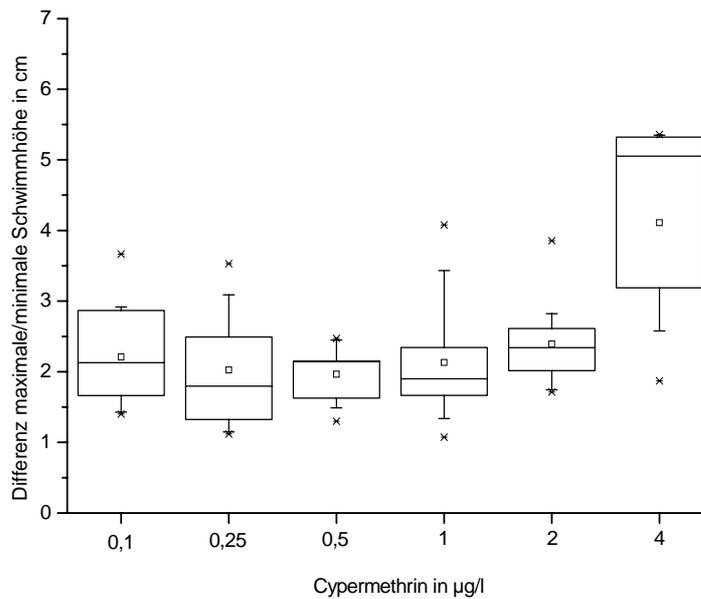
### *Eudiaptomus vulgaris*

Von einem im Verhältnis etwas erhöhten Wert für die Messungen mit 0,1 µg/L Cypermethrin abgesehen, zeigte sich mit ansteigender Konzentration ein leichter Anstieg in der Amplitude der Schwimgeschwindigkeit (Abb. 74). Die Amplitude der Schwimgeschwindigkeit nahm zunächst leicht von 0,1 cm/s bei 0,25 µg/L auf 0,15 cm/s bei 2 µg/L zu und stieg dann bei 4 µg/L deutlich auf 0,4 cm/s an. Die Variationsbreite schwankte geringfügig und fiel nur bei der höchsten Konzentration (4 µg/L) im Verhältnis größer aus. Bereits bei den Messungen mit 0,1 µg/L führten Auffälligkeiten in der Schwimgeschwindigkeit zur Vergabe von durchschnittlich 3,6 Alarmpunkten (Abb. 77). Nach einem leichten Rückgang auf 2,8 Alarmpunkte bei Messungen mit 0,25 µg/L Cypermethrin, stieg die Anzahl der für den Parameter Schwimgeschwindigkeit vergebenen Alarmpunkte mit zunehmender Konzentration bis auf ein Maximum von durchschnittlich 8,6 bei 4 µg/L an.

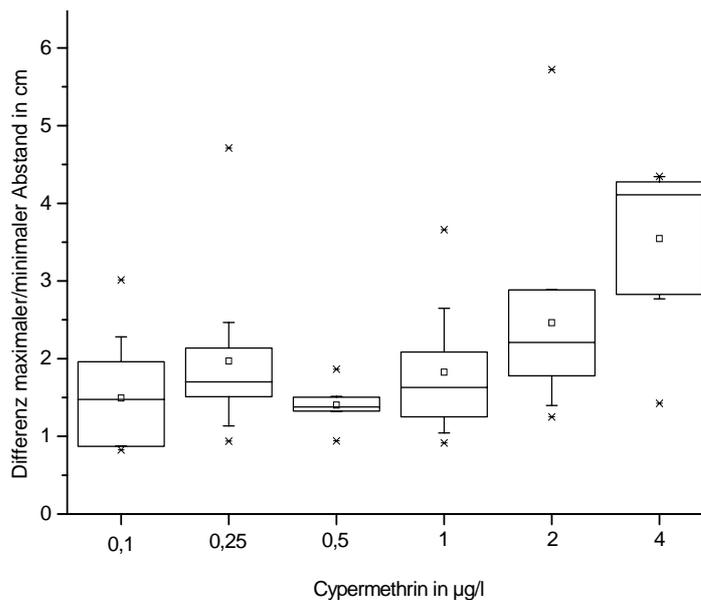


**Abb. 74:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmgeschwindigkeit, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Cypermethrin** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Sowohl in der Schwimmhöhe (Abb. 75) als auch im Abstand (Abb. 76) fielen bei den beiden niedrigsten Konzentrationen ( $0,1\mu\text{g}/\text{l}$  und  $0,25\mu\text{g}/\text{L}$ ) die im Verhältnis leicht erhöhten Amplituden und Variationsbreiten auf. Bei diesen Konzentrationen wurden durchschnittlich 1,8-2,4 Alarmpunkte für die Schwimmhöhe und 1,2-1,8 Alarmpunkte für den Abstand vergeben (Abb. 77). Gleichzeitig trat ein Tierverlust von 18 Prozent auf, der mit durchschnittlich 3,2 Alarmpunkten in die Berechnung des Toxischen Index einging. Ab einer Konzentration von  $0,5\mu\text{g}/\text{L}$  stieg die Amplitude der Schwimmhöhe und des Abstands mit der Konzentration an. Am ausgeprägtesten war der Anstieg bei der höchsten Konzentration ( $4\mu\text{g}/\text{L}$ ) auf eine durchschnittliche Amplitude der Schwimmhöhe von 4,1 cm und des Abstands von 3,5 cm, bei gleichzeitig deutlicher Zunahme der Variationsbreite. Bei der Vergabe der Alarmpunkte zeigte sich im Falle der Schwimmhöhe eine konzentrationsabhängige Zunahme bis auf durchschnittlich 4,8 Punkte. Die durchschnittlich vergebenen Alarmpunkte für Auffälligkeiten im Abstand schwankten und hatten ihr Maximum mit 3,4 Punkten bei Messungen mit  $2\mu\text{g}/\text{L}$  Giftstoff.

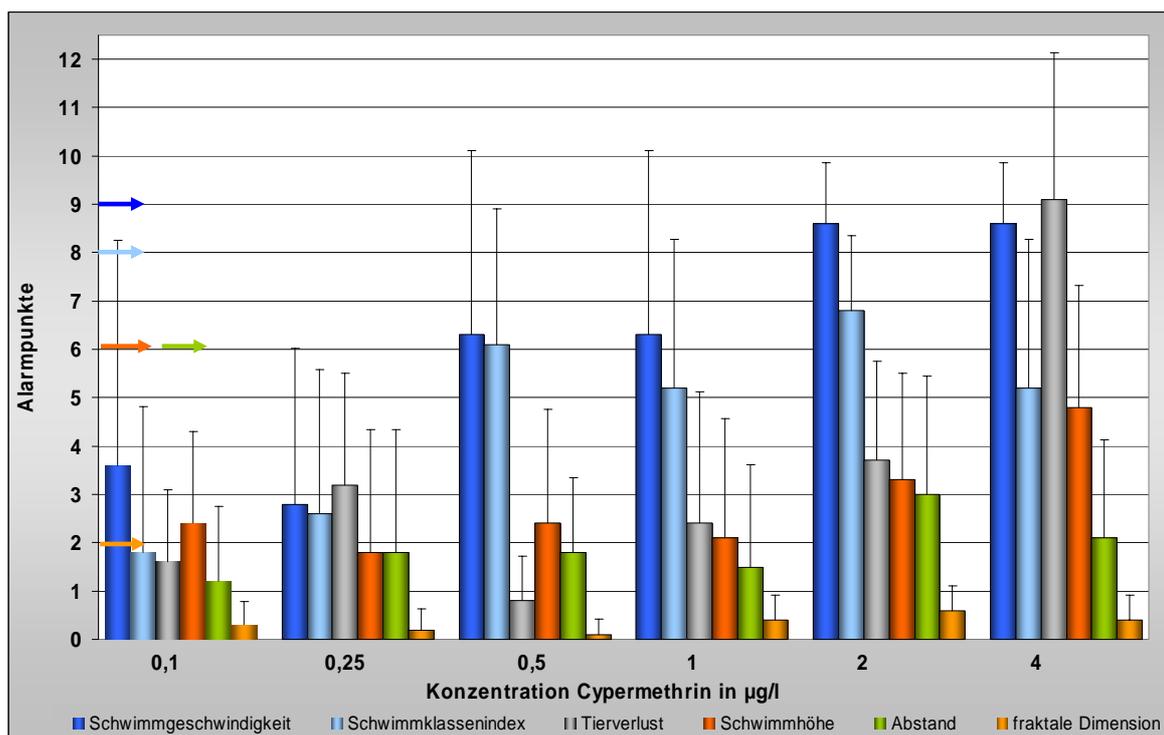


**Abb. 75:** Boxplots der Differenz zwischen maximaler und minimaler Schwimmhöhe, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Cypermethrin** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

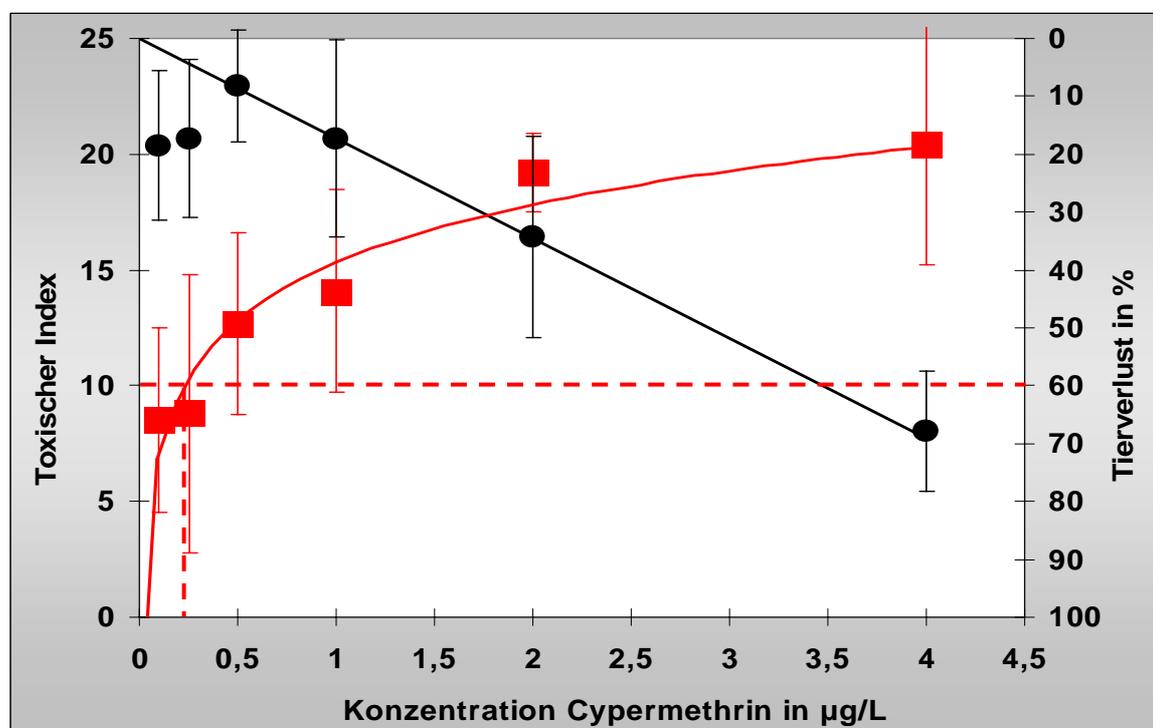


**Abb. 76:** Boxplots der Differenz zwischen maximalem und minimalem Abstand, in Abhängigkeit von der Konzentration von **Cypermethrin** im kontinuierlichen Test mit *E. vulgaris*.

Der Toxische Index wurde zwar ähnlich wie bei *D. magna* durch die Schwimgeschwindigkeit und den GKI bestimmt, jedoch trugen bereits bei den niedrigsten Konzentrationen die anderen Parameter (Tierverlust, Schwimmhöhe, Abstand und fraktale Dimension) nennenswert zum Toxischen Index bei. Die anhand der Dosis-Wirkungsbeziehung (Abb. 78) ermittelte Alarmschwellen-Konzentration lag für *E. vulgaris* bei 0,25 µg/L Cypermethrin.



**Abb. 77:** Darstellung, der für die Einzelparameter im Mittel vergebenen Alarmpunkte, für Messungen zur Wirkung von **Cypermethrin** auf *E. vulgaris*. Die farbigen Pfeile markieren die, mit der gewählten Geräteeinstellung, maximal erreichbaren Alarmpunkte, im Falle des Tierverslust ist dies von der Anzahl Versuchstiere abhängig, bei 10 Tieren können maximal 15 Alarmpunkte vergeben werden. Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung an.



**Abb. 78:** Dosis-Wirkungskurven für **Cypermethrin** bei *E. vulgaris* bezogen auf den Toxischen Index (-■-) und den prozentualen Tierverslust (-●-). Die rot gestrichelten Linien verweisen auf den Alarmschwellenwert von 10 Alarmpunkten (horizontal) bzw. die anhand der Dosis-Wirkungskurve ermittelte Alarmschwellen-Konzentration (vertikal). Die Fehlerbalken geben die einfache Standardabweichung des Toxischen Index, gemittelt aus den Toxischen Indices der beiden Einzelkanäle an.

### 3.4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse von den kontinuierlichen Tests mit *D. magna* und *E. vulgaris* im bbe-Daphnientoximeter

Insgesamt reagierte *D. magna* bei zwei (Dimethoat und Carbaryl) der fünf eingesetzten Insektizide am empfindlichsten. Bei einem Wirkstoff (Carbofuran) war die Alarmschwellen-Konzentration bei beiden Testspezies annähernd identisch. In zwei weiteren Fällen (Lindan und Cypermethrin) war *E. vulgaris* sensitiver als *D. magna* (Tab. 10).

**Tab. 10:** Aus den Messungen von Insektiziden mit dem bbe-Daphnientoximeter ermittelte Alarmschwellen-Konzentrationen in µg/L.

	<i>D. magna</i>		<i>E. vulgaris</i>	
	ermittelt anhand der Dosis-Wirkungskurve	erster Messwert über Alarmschwelle	ermittelt anhand der Dosis-Wirkungskurve	erster Messwert über Alarmschwelle
<b>Lindan</b>	650	1000	130	150
<b>Dimethoat</b>	2100	3000	-	> 120 000
<b>Carbofuran</b>	110	150	155	150
<b>Carbaryl</b>	22	25	550	400
<b>Cypermethrin</b>	1	2	0,25	0,5

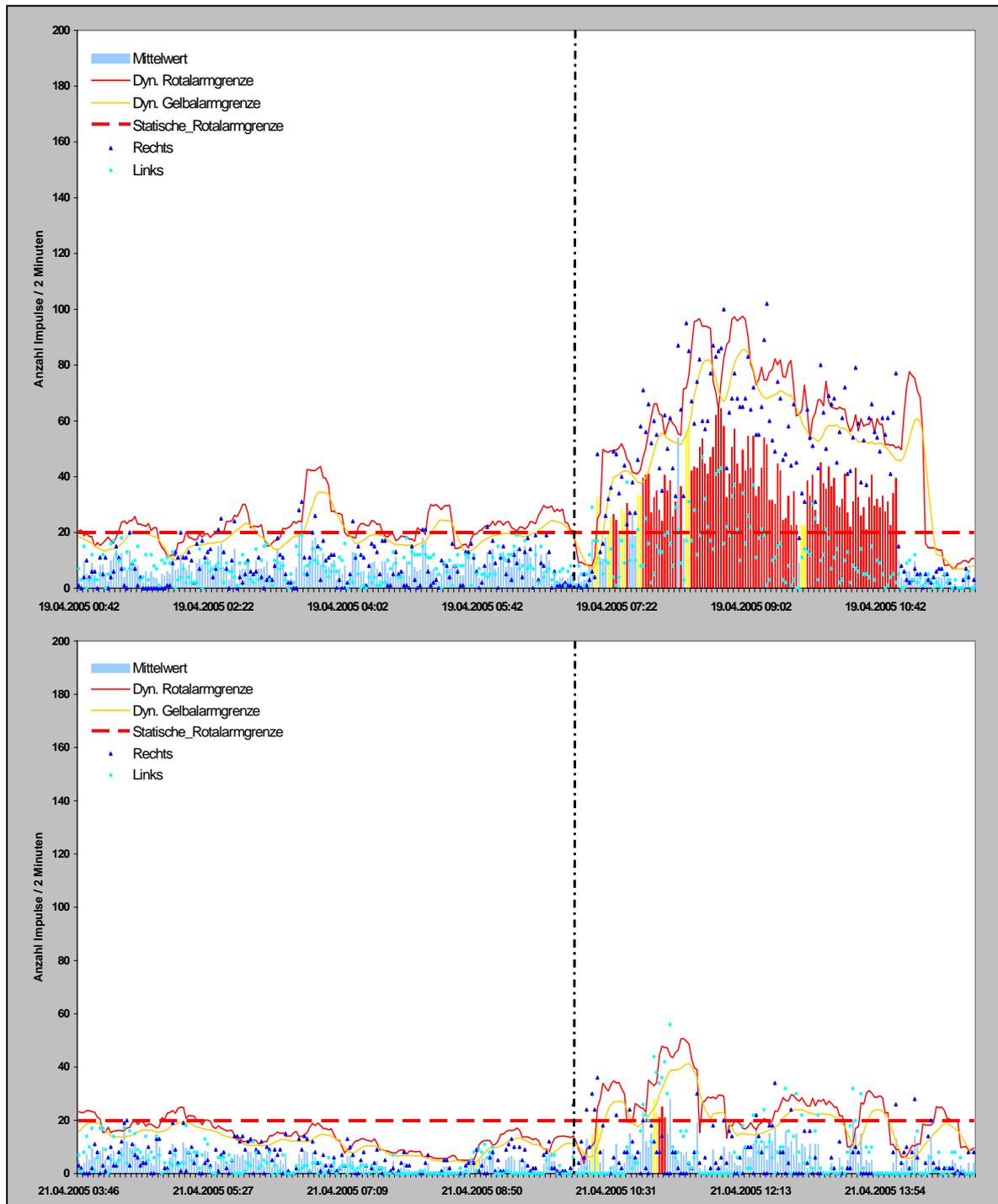
### 3.5 Die Beeinflussung des Driftverhaltens von *G. roeseli* durch Insektizide, aufgenommen mit dem Driftmesser

Die fünf Modellsubstanzen (Lindan, Dimethoat, Carbofuran, Carbaryl und Cypermethrin) wurden mit *G. roeseli* im Driftmesser getestet. Mit Dimethoat konnte bis zu einer Konzentration von 20 mg/L kein Anstieg der Drift beobachtet werden. Die Ergebnisse der anderen vier Stoffe sind im Folgenden beschrieben. Jeder Konzentrationsstufe liegen 2 Doppelmessungen also 4 unabhängige Datensätze zugrunde.

#### 3.5.1 Lindan

Die Gammariden wurden bereits wenige Minuten nach der Lindanzugabe unruhig. Selbst bei der niedrigsten eingesetzten Konzentration von 125 µg/L traten plötzliche Schwimmaktivitäten auf, die bei einer Messung zu einem Alarm führten. Die Schwimmphasen waren meist nur von kurzer Dauer, so dass selten eine Drift über

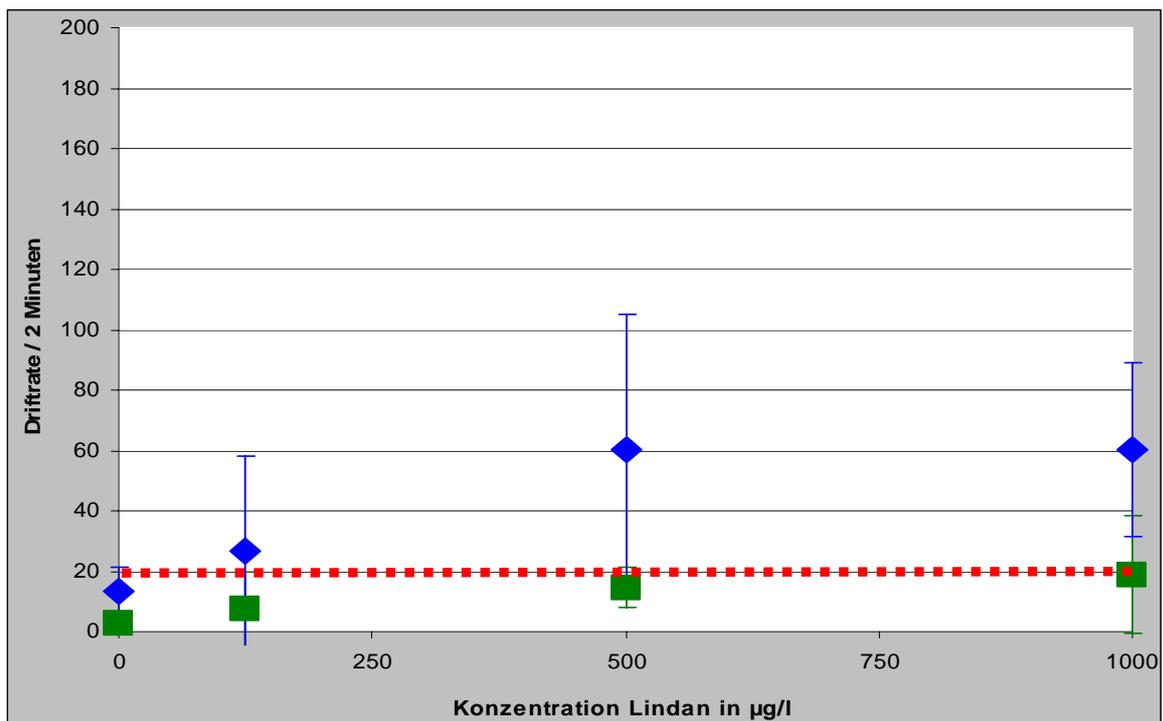
längere Strecken zu beobachten war. Die Aufnahme der Drift mit nur einer Messstelle war aufgrund der meist kurzen Driftstrecken nicht optimal. Die Messergebnisse variierten zwischen den einzelnen Messreihen stark, so dass selbst bei der höchsten hier eingesetzten Konzentration von 1 mg/L eine sichere Alarmierung nicht gewährleistet wäre (Abb. 79).



**Abb. 79:** Variation der Driftraten (2 Minutenintervall) von *G. roeseli* zwischen zwei unabhängigen Doppelmessungen mit 1 mg/L **Lindan**. Die Daten repräsentieren Mittelwerte aus zwei parallelen Versuchsansätzen, die entsprechend ihres Standorts mit Rechts und Links bezeichnet wurden. Die gestrichelten vertikalen Linien markieren den Zeitpunkt der Giftzudosierung.

## Ergebnisse

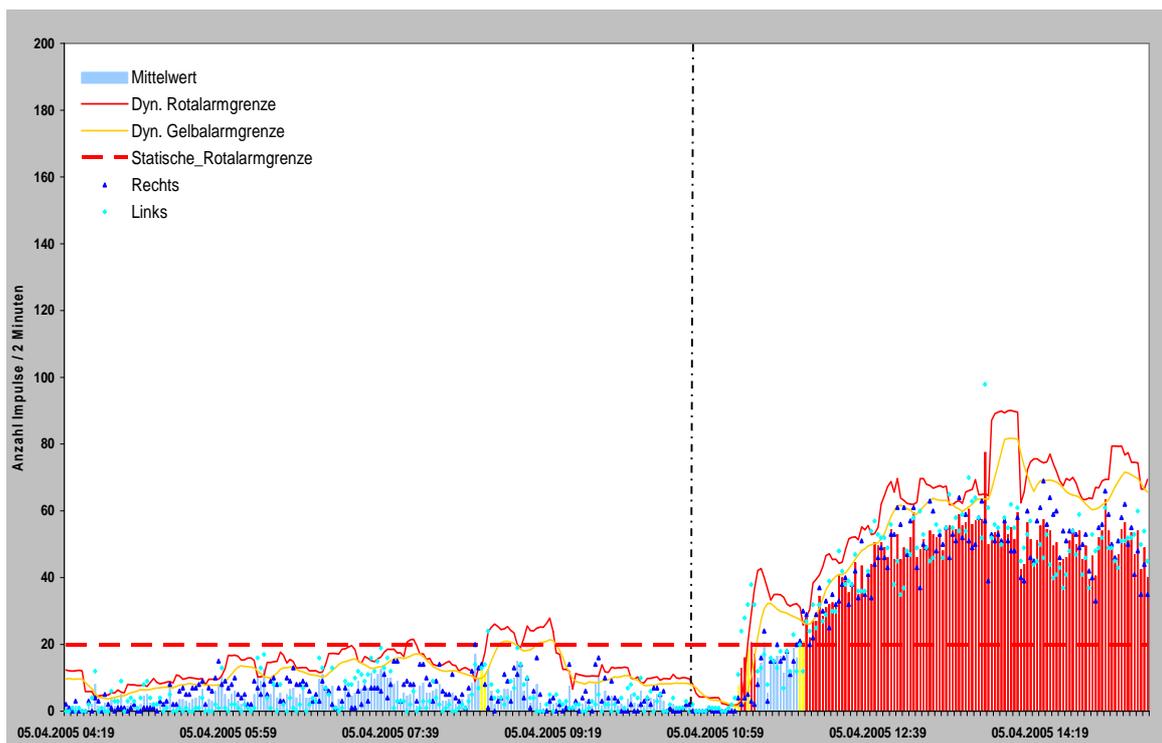
Daraus resultierte, dass gemittelt über den Messzeitraum von 4,5 Stunden, die statische Alarmschwelle nur selten überschritten wurde, obwohl die maximalen Impulsraten im Messzeitraum bei allen drei Konzentrationen über denen vor der Giftzugabe lagen (Abb. 80). Bei den hohen Konzentrationen 500 und 1000  $\mu\text{g/L}$  Lindan lag ein Teil der Tiere am Ende des Messzeitraums inaktiv, teilweise auf den Rücken gedreht zu Boden, so dass hier von einer Schädigung der Tiere ausgegangen werden musste.



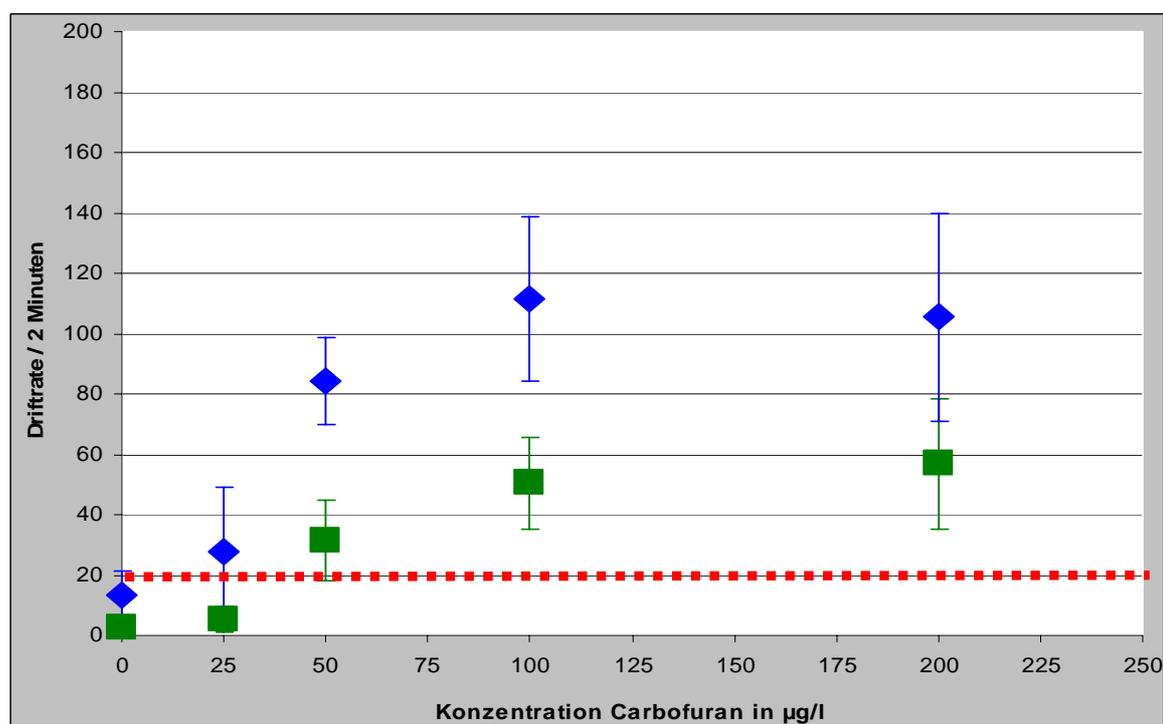
**Abb. 80:** Impulsrate (2 Minutenintervall) bei Messungen zur Wirkung von **Lindan** auf *G. roeseli*. Angegeben sind mittlere Maximal- (◆) und Mittelwerte (■) und deren Standardabweichungen.

### 3.5.2 Carbofuran

Unter dem Einfluss von Carbofuran kam es deutlich zu einer gesteigerten Driftaktivität. Bereits ab einer Konzentration von 25  $\mu\text{g/L}$  war eine leichte Erhöhung der Driftrate erkennbar, die mit zunehmender Konzentration anstieg (Abb. 82). Im Mittel wurde die statische Alarmschwelle ab einer Konzentration von 50  $\mu\text{g/L}$  Carbofuran überschritten. Die Driftraten blieben, wie im Beispiel Abbildung 81 zu sehen, meistens über den gesamten Messzeitraum auf einem ähnlichen Niveau.



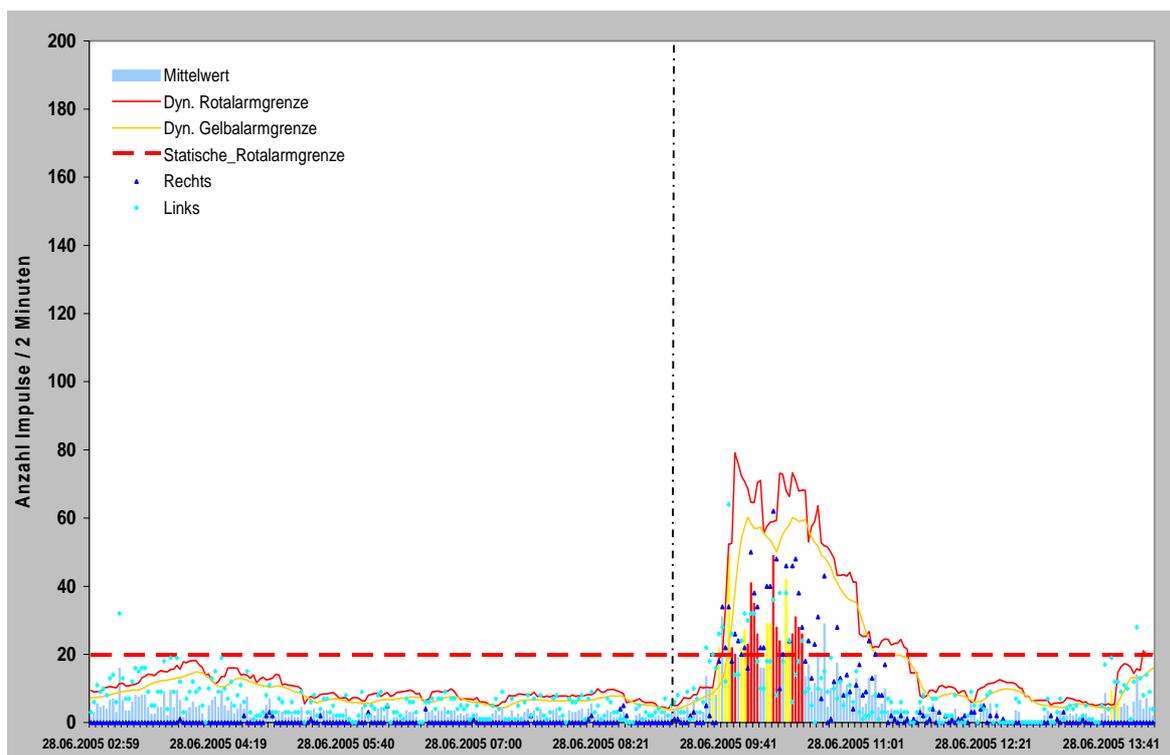
**Abb. 81:** Driftraten (2 Minutenintervall) von *G. roeseli* unter dem Einfluss von 200 µg/L Carbofuran. Die Daten repräsentieren Mittelwerte aus zwei parallelen Versuchsansätzen, die entsprechend ihres Standorts mit Rechts und Links bezeichnet wurden. Die gestrichelte vertikale Linie markiert den Zeitpunkt der Giftzudosierung.



**Abb. 82:** Impulsrate (2 Minutenintervall) bei Messungen zur Wirkung von Carbofuran auf *G. roeseli*. Angegeben sind mittlere Maximal- (◆) und Mittelwerte (■) und deren Standardabweichungen.

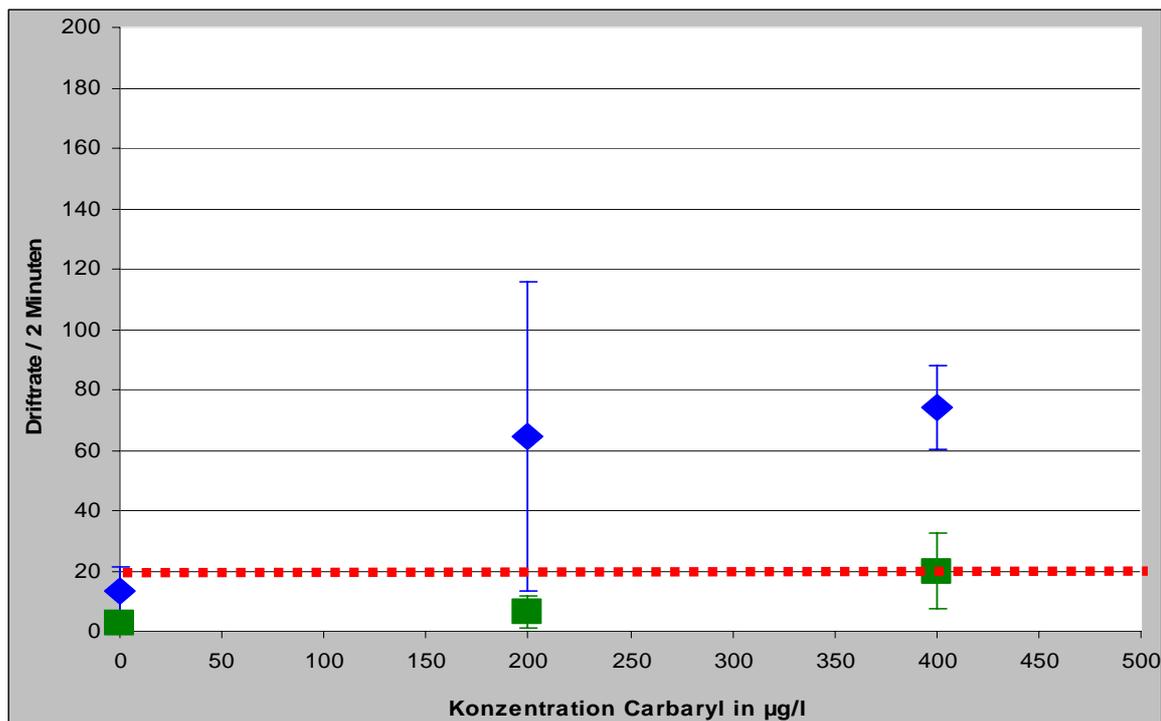
### 3.5.3 Carbaryl

Nach einer Einwirkzeit von etwa 15-20 Minuten wurden die Tiere bei beiden hier eingesetzten Konzentrationen (200 und 400  $\mu\text{g/L}$ ) unruhig, ließen von der Nahrungsaufnahme ab und es kam zu einem leichten Anstieg der Drift. Ähnlich wie bereits für den Wirkstoff Lindan beschrieben, waren auch hier die Driftstrecken meist kurz und die Aufnahme mit den Lichtschranken nicht optimal. Lediglich bei einer Messung konnte über einen längeren Zeitraum eine erhöhte Impulsrate detektiert werden. Bei den anderen Messungen, wie beispielsweise in Abbildung 83, war nur für ca. eine Stunde ein Effekt messbar. Die Tiere wurden im Verlauf der Messungen deutlich geschädigt, einige lagen auf der Seite oder auf dem Rücken und zeigten außer dem Pleopodenschlag keine weiteren Aktivitäten mehr.



**Abb. 83:** Driftraten (2 Minutenintervall) von *G. roeseli* unter dem Einfluss von 400  $\mu\text{g/L}$  Carbaryl. Die Daten repräsentieren Mittelwerte aus zwei parallelen Versuchsansätzen, die entsprechend ihres Standorts mit Rechts und Links bezeichnet wurden. Die gestrichelte vertikale Linie markiert den Zeitpunkt der Giftzudosierung.

Die Maximalwerte lagen deutlich über denen des Normalverhaltens vor Giftzugabe. Die statische Alarmgrenze, wurde aber aufgrund der kurzen Effektzeiten im Mittel nicht überschritten (Abb. 84).



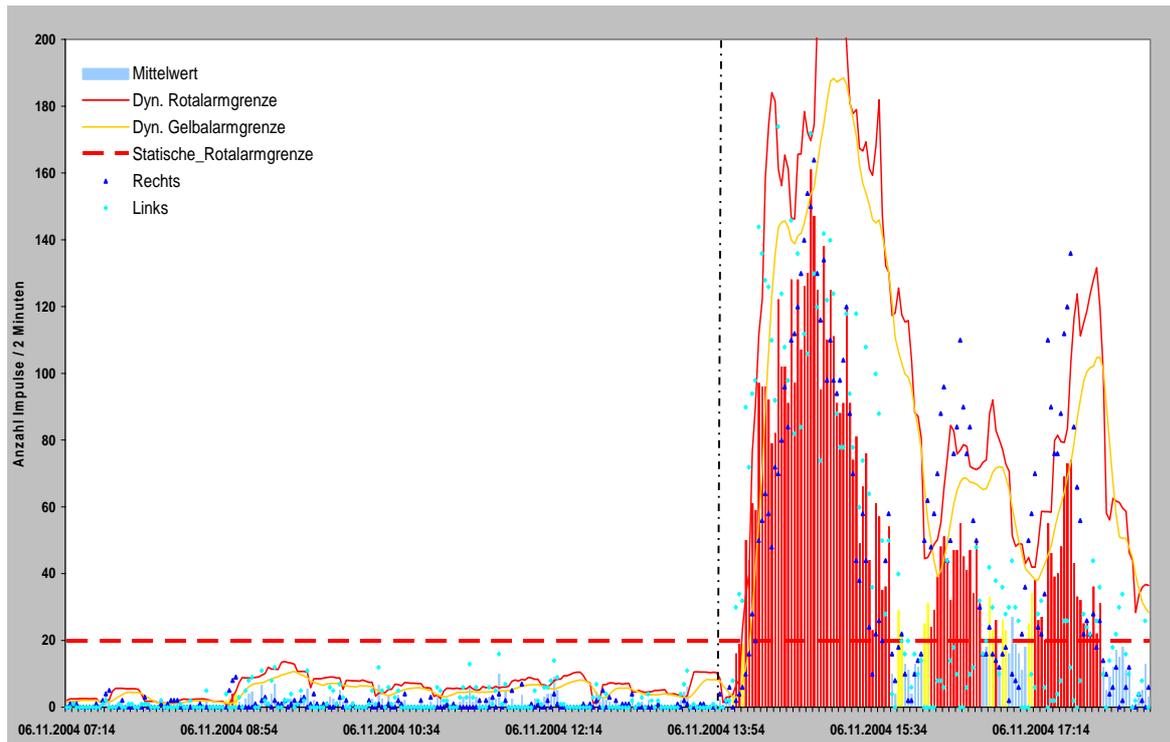
**Abb. 84:** Impulsrate (2 Minutenintervall) bei Messungen zur Wirkung von **Carbaryl** auf *G. roeseli*. Angegeben sind mittlere Maximal- (◆) und Mittelwerte (■) und deren Standardabweichungen.

### 3.5.4 Cypermethrin

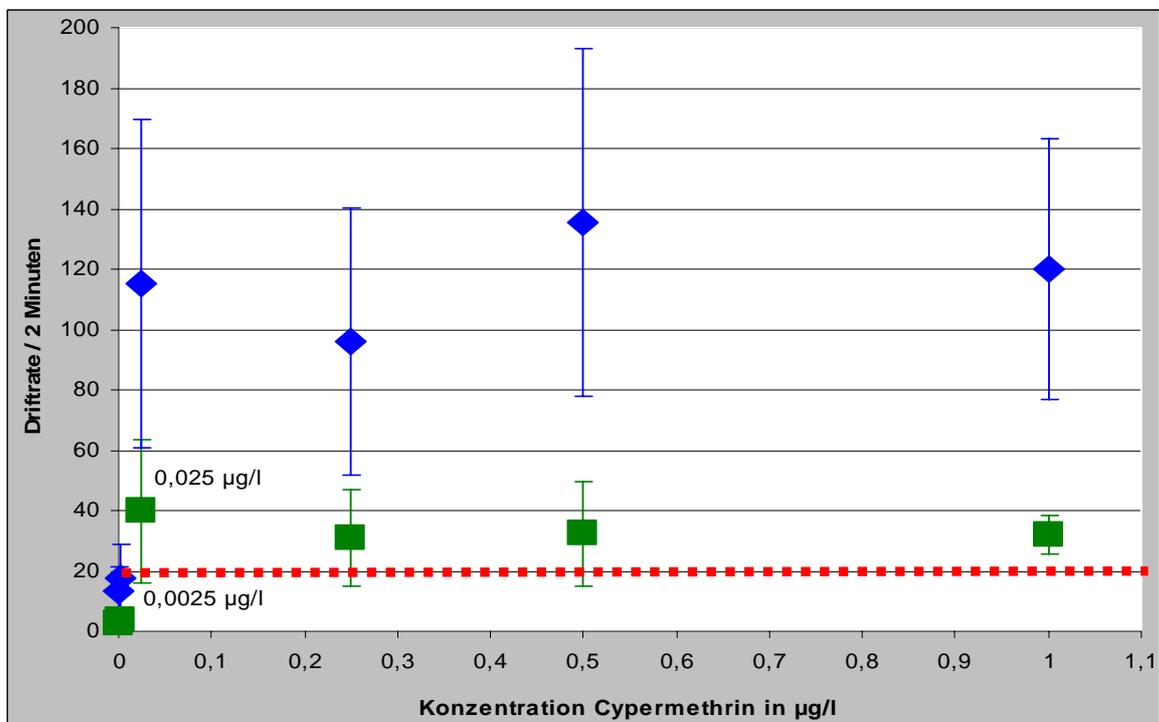
Auch bereits bei geringen Konzentrationen von Cypermethrin war wenige Minuten nach der Giftzugabe ein deutlicher Anstieg der Drift festzustellen. Die Tiere drifteten über lange Strecken mit wenigen Unterbrechungen, so dass die Aufnahme mit nur einer Messstelle zur Erfassung ausreichte. Innerhalb des Messzeitraums unterlag die Intensität der Drift deutlichen Schwankungen, wie dies exemplarisch in Abbildung 85 zu sehen ist.

Im Mittel wurde die statische Alarmgrenze ab einer Konzentration von  $0,025 \mu\text{g/L}$  überschritten. Entsprechend deutlich lagen die maximalen Impulsraten über denen vor der Giftstoffzugabe. Bei der niedrigsten hier eingesetzten Konzentration von  $0,0025 \mu\text{g/L}$  konnte keine alarmwürdige Driftzunahme detektiert werden, obwohl das gemessene Maximum leicht über dem des Normalverhaltens lag (Abb. 86).

## Ergebnisse



**Abb. 85:** Driftraten (2 Minutenintervall) von *G. roeseli* unter dem Einfluss von 0,5 µg/L Cypermethrin. Die Daten repräsentieren Mittelwerte aus zwei parallelen Versuchsansätzen, die entsprechend ihres Standorts mit Rechts und Links bezeichnet wurden. Die gestrichelte vertikale Linie markiert den Zeitpunkt der Giftzudosierung.



**Abb. 86:** Impulsrate (2 Minutenintervall) bei Messungen zur Wirkung von Cypermethrin auf *G. roeseli*. Angegeben sind mittlere Maximal- (◆) und Mittelwerte (■) und deren Standardabweichungen.

### 3.5.5 Zusammenfassung der Ergebnisse von den kontinuierlichen Tests mit *G. roeseli* im Driftmesser

Zwei der fünf untersuchten Insektizide (Lindan, Carbaryl) führten nur zu einer leichten Zunahme der Drift. Die Driftstrecken waren kurz, daher konnte die Drift mit der eingesetzten Messtechnik nur ungenügend aufgezeichnet werden. Alarme wurden bei Einzelmessungen ab einer Konzentration von 125 µg/L für Lindan und ab einer Konzentration von 200 µg/L für Carbaryl gemeldet. Eine reproduzierbare Wirkung war jedoch selbst bei den höchsten hier eingesetzten Konzentrationen (1000 µg/L Lindan und 400 µg/L Carbaryl) nicht gewährleistet.

In Voruntersuchungen mit dem Wirkstoff Dimethoat konnte bis zu einer Konzentration von 20 mg/L kein Anstieg der Drift gemessen werden. Zwei weitere Substanzen (Carbofuran, Cypermethrin) bewirkten eine deutliche Zunahme der Drift. Im Falle von Carbofuran war eine sichere Detektion mit dem Driftmesser ab einer Konzentration von 50 µg/L möglich. Einmalig führten bereits 25 µg/L Carbofuran zu einer Alarmierung. Die weitaus empfindlichste Reaktion und eine überaus heftige Drift zeigten die Gammariden auf den Wirkstoff Cypermethrin, so dass hier bereits 0,025 µg/L einen Alarm verursachten.

**Tab. 11:** Alarmschwellen-Konzentrationen für die Messungen von Insektiziden mit *G. roeseli* im Driftmesser.

<b>Alarmschwellen-Konzentrationen in µg/L</b>	<b>niedrigste gemessene Konzentration über der Alarmschwelle</b>	<b>Statischer Alarm im Mittel über 4,5 h Messzeitraum überschritten</b>
<b>Lindan</b>	125	-
<b>Dimethoat</b>	-	-
<b>Carbofuran</b>	25	50
<b>Carbaryl</b>	200	-
<b>Cypermethrin</b>	0,025	0,025

### 3.6 Ergebnisse der statischen und kontinuierlichen Tests im Vergleich

Die in den statischen Tests (Tab. 9) ermittelten Unterschiede in der Toxizität der eingesetzten Insektizide auf die drei Testspezies, spiegelten sich nur teilweise in der Ansprechempfindlichkeit des bbe-Daphnientoximeter (Tab. 10) und des Driftmessers (Tab. 11).

#### 3.6.1 *D. magna* und *E. vulgaris*

##### Lindan

Lindan wirkte im statischen und im kontinuierlichen Test deutlich stärker auf *E. vulgaris* als auf *D. magna*. Bei *D. magna* lagen sowohl der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert des statischen Tests als auch die Überschreitung der Alarmschwelle des bbe-Daphnientoximeters bei ca. 1 mg/L. Im Gegensatz dazu zeigte sich *E. vulgaris* im kontinuierlichen Biotest mit der Überschreitung der Alarmschwelle bei 150 µg/L sensitiver gegenüber dem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 200 µg/L.

##### Dimethoat

Auch bei anderen Insektiziden erwies sich *E. vulgaris* empfindlicher im bbe-Daphnientoximeter, als in den statischen Tests. So reagierten die Ruderfußkrebse ab einer Konzentration von 120 mg/L auf den Wirkstoff Dimethoat mit Verhaltensänderungen, die bei einzelnen Messungen zur Ausgabe eines Alarms führten, im Mittel allerdings nicht zur Überschreitung der Alarmschwelle ausreichten. Die Empfindlichkeit von *E. vulgaris* war für Dimethoat im statischen Test sehr viel geringer. Hier konnte erst nach 48 Stunden Einwirkzeit und einer Konzentration von 332 mg/L eine Immobilisierung von 50 Prozent der Tiere ermittelt werden. Unter Verwendung von *D. magna* wurde die Alarmschwelle ab einer Konzentration von 3 mg/L im kontinuierlichen Test überschritten, was deutlich über dem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 1,9 mg/L des statischen Tests lag.

##### Carbofuran

Am höchsten fiel der Unterschied zwischen statischem und kontinuierlichem Test bei den Messungen zur Wirkung von Carbofuran auf *E. vulgaris* aus. Hier führten 150 µg/L durchschnittlich zu einer Alarmierung durch das bbe-Daphnientoximeter,

während der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert mit über 1 mg/L deutlich höher lag. Bei *D. magna*, deren 24h-EC<sub>50</sub>-Wert 80 µg/L betrug, wurde im Mittel die Alarmschwelle des bbe-Daphnientoximeter ebenfalls bei 150 µg/L Carbofuran überschritten.

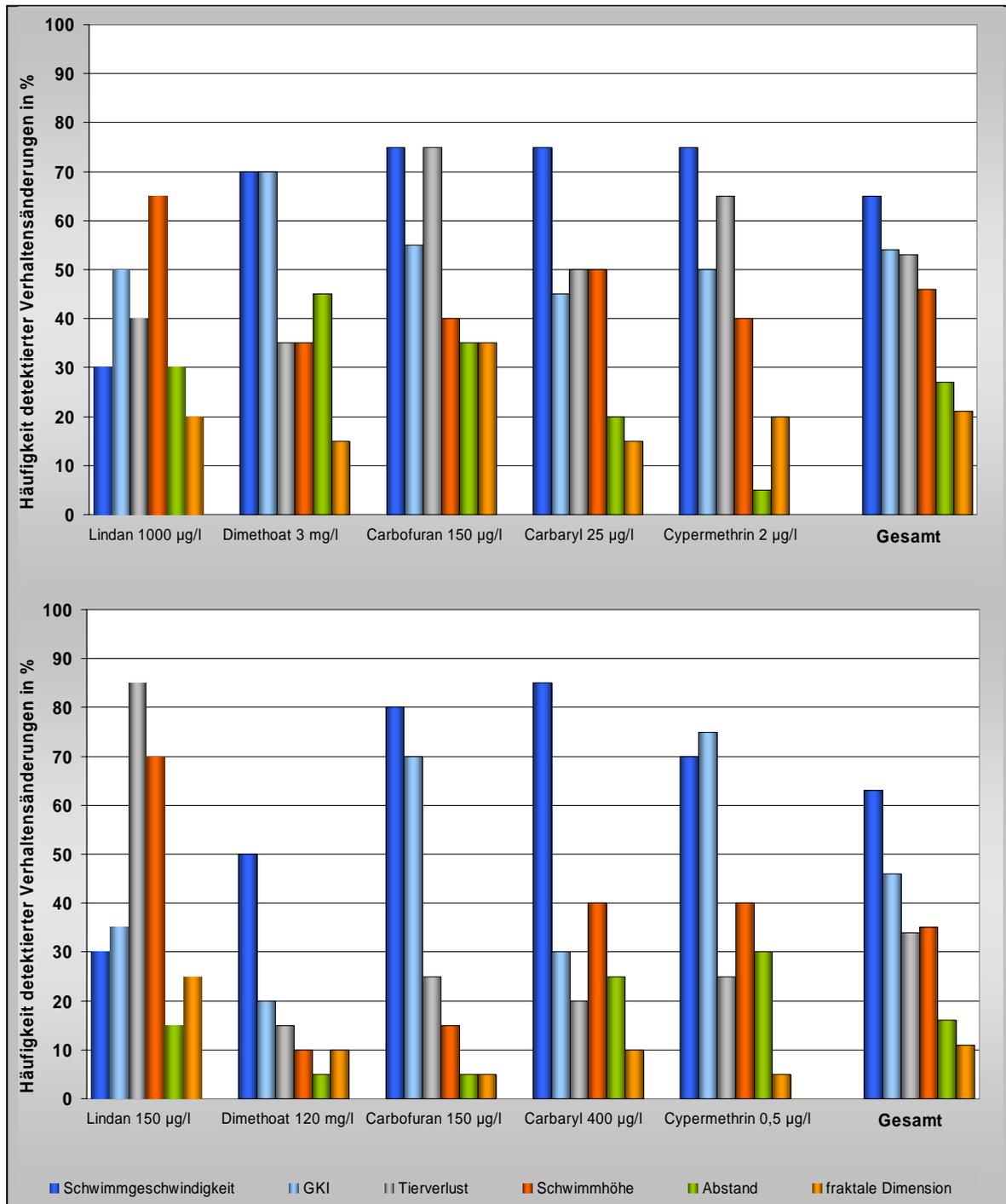
### **Carbaryl**

Auch bei Carbaryl waren unterhalb der in den statischen Tests ermittelten Konzentration (24h-EC<sub>50</sub>-Wert = 603 µg/L) Verhaltensänderungen von *E. vulgaris* mit dem bbe-Daphnientoximeter festzustellen. Die Alarmschwelle des bbe-Daphnientoximeter wurde unter Verwendung von *E. vulgaris* im Mittel bei 400 µg/L überschritten. Der in den statischen Tests empfindlichste Organismus für Carbaryl war *D. magna* (24h-EC<sub>50</sub>-Wert = 18,6 µg/L). Im bbe-Daphnientoximeter wurde beim Einsatz von *D. magna* die Alarmschwelle ab einer Konzentration von 25 µg/L überschritten.

### **Cypermethrin**

Bei der Wirkung von Cypermethrin auf *E. vulgaris* waren der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert im statischen Test und die Alarmwellen-Konzentration im kontinuierlichen Test mit ca. 0,5 µg/L annähernd identisch. Ein ähnliches Verhältnis zeigte sich bei *D. magna*, wo die Alarmschwelle im bbe-Daphnientoximeter durchschnittlich ab 2 µg/L überschritten wurde und eine Konzentration von 1,17 µg/L im statischen Test zur Immobilisierung von 50 Prozent der Testorganismen nach 24 Stunden führte.

Der im bbe-Daphnientoximeter aufgenommene Verlust an Versuchstieren entspricht ihrer Immobilisierung und basierte daher auf dem gleichen Bewertungskriterium wie die statischen Tests. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Einwirkzeit mit 4,5 Stunden im kontinuierlichen Test weitaus geringer war als in den statischen Tests mit 24 Stunden. Unter den für die Einzelparameter detailliert dargestellten Ergebnissen (vgl. 3.4), zeigten sich Korrelationen. So traten Veränderungen in der Schwimmhöhe und im Abstand zumeist erst in Verbindung mit einem Verlust an Versuchstieren auf. Die Bedeutung, welche den einzelnen Parametern bei der Detektion im bbe-Daphnientoximeter zukam unterschied sich bei den beiden Testspezies (Abb. 87).



**Abb. 87:** Häufigkeiten mit denen bei *D. magna* (oben) und *E. vulgaris* (unten) im Bereich der Alarmschwellen-Konzentrationen Auffälligkeiten in den einzelnen Parametern detektiert wurden. Eine 100-prozentige Detektion von Verhaltensänderungen entspricht einer Erkennung durch beide Alarmalgorithmen (Hinkley und Steigung). Hinkley- und Steigungsalarm sind dabei mit jeweils 50 Prozent gewichtet. Um den Parameter Tierverlust ebenfalls mit zwei Einzelgrößen darstellen zu können, wurden zwei Kategorien unterschieden. Tierverluste von 1-2 Testorganismen entsprechen einer 50-prozentigen und Tierverluste ab 3 Testorganismen einer 100-prozentigen Detektion des Parameters.

In den kontinuierlichen Messungen zur Wirkung von Lindan auf *E. vulgaris*, wurden im Bereich der Alarmschwellen-Konzentration Tierverluste stärker detektiert, als bei den anderen vier Wirkstoffen. Der Toxische Index wurde bei der Wirkung von Lindan auf *E. vulgaris* von den für Tierverluste und Schwimmhöhe vergebenen Alarmpunkten dominiert (Abb. 87).

Von den Lindanmessungen abgesehen, war der Parameter Schwimmgeschwindigkeit für die Alarmierung beim Einsatz von *E. vulgaris* von größerer Bedeutung als bei *D. magna* (Abb. 87). Im Bezug auf die oben dargelegten Unterschiede zu den statischen Tests, erwies sich der Parameter Schwimmgeschwindigkeit somit als geeignet für drei Testsubstanzen (Dimethoat, Carbofuran, Carbaryl) subletale Effekte von *E. vulgaris* deutlich oberhalb der Sensitivität in den statischen Tests aufzuzeigen.

### 3.6.2 *G. roeseli*

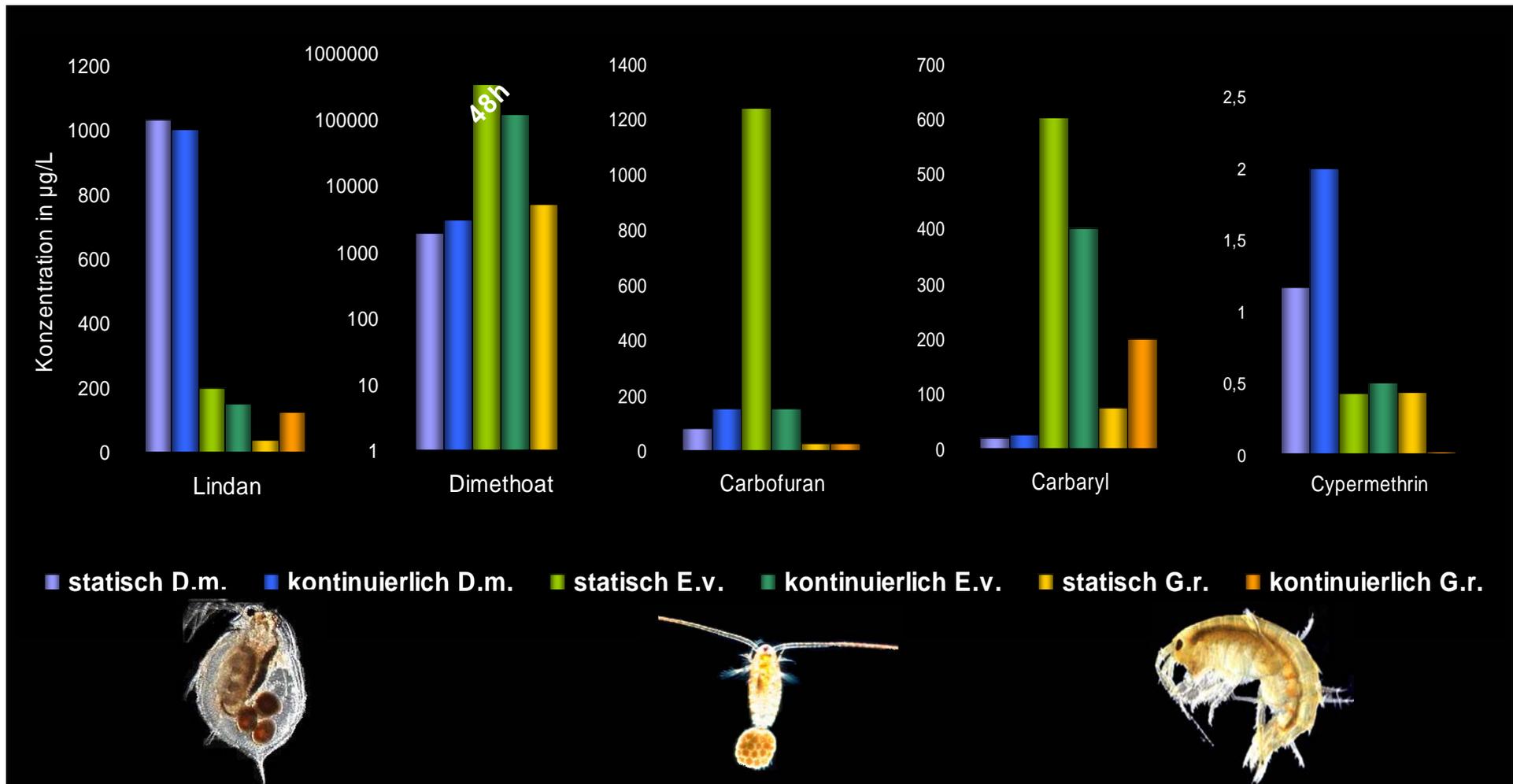
Für Dimethoat konnte bis zu einer Konzentration von 20 mg/L kein Anstieg der Drift ermittelt werden, obwohl bereits 5,3 mg/L nach 24 Stunden zur Immobilisierung von 50 Prozent der Testorganismen führten. Im kontinuierlichen Test konnten ab einer Konzentration von 125 µg/L Lindan Erhöhungen der Drift gemessen werden. Damit lag die Konzentration weit über dem ermittelten 24-EC<sub>50</sub>-Wert von 36 µg/L. Vergleichbares galt für den Wirkstoff Carbaryl, bei dem Steigerungen in der Drift ab einer Konzentration von 200 µg/L gemessen wurden. Der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert für Carbaryl lag bei 75µg/L. Die Gammariden waren am Ende des 4,5-stündigen Messzeitraums bei beiden Wirkstoffen (Carbaryl & Lindan) augenscheinlich geschädigt. Im Fall von Carbofuran wurde ab einer Konzentration von 25 µg/L eine Zunahme der Drift gemessen. Eine sichere Detektion war mit dem Driftmesser ab 50 µg/L möglich. Die Wirkschwellen-Konzentration entsprach daher annähernd den Ergebnissen aus den statischen Tests (24h-EC<sub>50</sub>-Wert = 27 µg/L). Im Falle von Cypermethrin reagierten die Gammariden ab einer Konzentration von 0,025 µg/L mit einem Drifтанstieg. Damit lag die Empfindlichkeit des kontinuierlichen Tests um Faktor 18 höher als der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 0,44 µg/L.

### 3.6.3 Zusammenfassung

Die unterschiedliche Sensitivität in den statischen Tests ließ sich nur teilweise auf die Ansprechempfindlichkeit der kontinuierlichen Biotests übertragen (Abb. 88).

*E. vulgaris* wies bei vier (Lindan, Dimethoat, Carbofuran, Carbaryl) der fünf eingesetzten Insektizide Alarmschwellen-Konzentrationen im kontinuierlichen Test auf, die unterhalb der ermittelten 24h-EC<sub>50</sub>-Werte lagen. In einem Fall (Cypermethrin) waren die Konzentrationen in etwa vergleichbar. Im Gegensatz dazu lagen die Alarmschwellen-Konzentrationen für *D. magna* im kontinuierlichen Test für drei Stoffe (Dimethoat, Carbofuran, Cypermethrin) über den 24h-EC<sub>50</sub>-Werten. In den beiden anderen Fällen (Lindan, Carbaryl) waren die Konzentrationen bei denen die Alarmschwelle des bbe-Daphnientoximeter überschritten wurde mit den 24h-EC<sub>50</sub>-Werten annähernd identisch. Drifanstiege von *G. roeseli* konnten bei zwei Stoffen (Lindan, Carbaryl) oberhalb des 24h-EC<sub>50</sub>-Wertes festgehalten werden. Eine Substanz (Dimethoat) führte bis zur doppelten Konzentration des 24h-EC<sub>50</sub>-Wertes nicht zu einem Anstieg der Driftrate. Bei einem weiteren Stoff (Carbofuran) entsprach die Wirkschwellen-Konzentrationen in etwa dem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert und eine Substanz (Cypermethrin) führte bereits bei einer 18-fach niedrigeren Konzentration als im statischen Test zu einem signifikanten Drifanstieg.

Obwohl die Ergebnisse der statischen und kontinuierlichen Tests teilweise stark voneinander abwichen, waren die Testorganismen, welche sich in den statischen Tests für einen Wirkstoff am empfindlichsten erwiesen, zumeist auch die Sensitivsten im kontinuierlichen Test (Abb. 88). Für zwei Wirkstoffe (Dimethoat, Carbaryl) war die Ansprechempfindlichkeit des bbe-Daphnientoximeters unter Einsatz von *D. magna* am höchsten. Beim Einsatz von *E. vulgaris* in den bbe-Daphnientoximeter konnten im Vergleich zu *D. magna* zwei Wirkstoffe (Lindan, Cypermethrin) mit höherer und einer (Carbofuran) mit vergleichbarer Empfindlichkeit detektiert werden. Die Ansprechempfindlichkeit für drei Substanzen (Lindan, Carbofuran, Cypermethrin) war mit dem Driftmesser unter dem Einsatz von *G. roeseli* am höchsten.



**Abb. 88:** Vergleich der Ergebnisse aus den statischen Tests (24h-EC<sub>50</sub>-Werte bzw. 48h-EC<sub>50</sub>-Wert zur Wirkung von Dimethoat auf *E. vulgaris*) und den kontinuierlichen Tests (erster Messwert über der Alarmschwelle). Die Angaben zur Wirkung von Dimethoat in den kontinuierlichen Tests entsprechen bei *E. vulgaris* der Überschreitung der Alarmschwelle bei Einzelmessungen (im Mittel aller fünf Doppelkanalmessungen wurde die Alarmschwelle hier noch nicht überschritten) Für *G. roeseli* ist kein Wert zur Wirkung von Dimethoat im kontinuierlichen Test angegeben, bis zu einer Konzentration von 20 mg/L zeigten die Tiere keinen Drifanstieg auf diesen Wirkstoff.

### 4. DISKUSSION

Im Bereich der Primärkonsumenten sollten empfindliche Testorganismen ermittelt werden, die sich für den Einsatz in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestgeräten eignen. Es wurde bereits einleitend darauf hingewiesen, dass zur Eignung einer Spezies ihre ganzjährige Verfügbarkeit für den Messbetrieb (vgl. 4.1), sowie eine hohe Sensitivität für neurotoxisch wirkende Substanzen (vgl. 4.2) gehört. Darüber hinaus muss sich das Verhalten mit Hilfe eines kontinuierlichen Biotestverfahrens automatisiert aufzeichnen lassen (vgl. 4.3). Als Voraussetzung für eine hohe Ansprechempfindlichkeit im kontinuierlichen Biotest (vgl. 4.4) sollte das Normalverhalten eine möglichst hohe Kontinuität aufweisen und sich deutlich vom Stressverhalten abgrenzen lassen. Neben den für die Laborstudie aufgestellten Kriterien stellte sich die Frage nach der Bedeutung, der durch die Studie gewonnenen Erkenntnisse für den Messbetrieb am Gewässer (vgl. 4.5). Die gewonnenen Erkenntnisse zur Eignung der drei Testspezies werden abschließend zusammenfassend diskutiert (vgl. 4.6).

#### 4.1 Verfügbarkeit der Testorganismen

Einige in dieser Arbeit für Tests vorgesehene Spezies, wie die Süßwassergarnele *Limnomysis benedeni* und die Eintagsfliege *Ephoron virgo* scheiterten an der Hürde ihrer leichten Verfügbarkeit. Letztlich wurden mit dem Großen Wasserfloh *D. magna*, dem Ruderfußkrebs *E. vulgaris* und dem Bachflohkrebs *G. roeseli* drei Crustacea für die weiteren Untersuchungen eingesetzt. Im Falle von *D. magna* handelt es sich um einen längst als Standardlabortier etablierten und in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestgeräten eingesetzten Organismus (vgl. 1.2), für den es zum einen genormte Zuchtmethoden gibt, zum anderen die Tiere aus einer Klonzucht bezogen werden können (vgl. 2.1.2.1).

Unter den im Allgemeinen nur schwer im Labor zu haltenden Copepoda sind die kleingewässerbesiedelnden Arten wie *E. vulgaris* am anspruchlosesten (KIEFER 1960). Das Nahrungsspektrum von *Eudiaptomus* ist vielseitig, wobei die optimale Größe der aufgenommenen Nahrungspartikel bei 6-12 µm liegt (ZANKAI 1994). Mit

der Fütterung von Grünalgen der Art *Desmodesmus subspicatus* (3-8 µm) und einer wöchentlichen Gabe von Backhefe (4-8 µm), wurde dem Rechnung getragen. Unter natürlichen Bedingungen beschränkt sich das Vorkommen von *E. vulgaris* an einigen Fundorten auf die warme Jahreszeit (HERBST 1951), während an anderen Gewässern die Art ganzjährig, mit einer geringen Abundanz im Frühjahr, nachgewiesen wurde (MAIER 1990). In der Laborzucht konnte keine Beziehung zwischen der Reproduktionsrate und der Jahreszeit festgestellt werden. Sehr wohl traten an sich große Schwankungen in der Reproduktionsrate auf, die zeitweise zu einer "Überproduktion" an Testorganismen führten. In diesen Fällen musste darauf geachtet werden, dass die Larven nicht in zu hoher Dichte herangezogen wurden, da sie sonst als adulte Tiere nicht die gewünschte Größe von ca. 2 mm Länge erreichten. Zu keiner Zeit war die Reproduktionsrate zu gering, so dass die Zucht gefährdet gewesen wäre. Abgesehen von vereinzelt aufgetretenen Verpilzungen, wie sie bei Zuchten von Copepoda häufig vorkommen sollen (EINSLE 1993), konnten keine Krankheiten oder größeren Ausfälle bei der Zucht von *E. vulgaris* festgestellt werden. Die ganzjährige Verfügbarkeit von *E. vulgaris* für den Messbetrieb könnte somit gewährleistet werden.

Während VOBIS (1971/72) über eine problemlose Hälterung von *G. roeseli* auf unbegrenzte Dauer berichtet, verweist SCHWEDHELM (1984) auf durchschnittliche Überlebensraten von ca. 2-4 Wochen, je nach Entnahmeort und Hälterungstemperatur. In vorliegender Arbeit war eine Hälterung der Tiere über einen Zeitraum von mehreren Monaten möglich. In dieser Zeit wurden Jungtiere freigesetzt. Für *G. pulex* belegen Laborstudien, dass eine Aufzucht von Jungtieren möglich ist (SUTCLIFFE & al. 1981). Auch für *G. fossarum* und *G. roeseli* konnte die erfolgreiche Aufzucht unter Laborbedingungen belegt werden (PÖCKL 1995), wobei die Mortalität in den ersten Lebenswochen sehr hoch war. Das schnellste Wachstum stellte PÖCKL (1995) fest, wenn die Hauptbestandteile des natürlichen Nahrungsspektrums, verrottetes Laub und Detritus dargeboten wurden.

Aufgrund der ganzjährigen Präsenz von *G. roeseli* im Gewässer ist zu jedem Zeitpunkt die Verfügbarkeit von Testorganismen gewährleistet, so dass selbst die zitierten kurzen, Hälterungszeiten hinreichend wären. Im Hinblick auf einen standardisierten Messbetrieb wäre jedoch wünschenswert auf Gammariden aus einer Laborzucht zurückgreifen zu können.

### 4.2 Sensitivität in den statischen Tests

Zwischen den drei untersuchten Crustacea zeigten sich deutliche Unterschiede hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit für die fünf eingesetzten Modellsubstanzen. Die Ursachen für die ungleiche Sensitivität der drei untersuchten Spezies können vielfältiger Natur sein. Es können Unterschiede bei der Aufnahme, der Wirkweise und der Metabolisierung der Insektizide Einfluss auf die Toxizität besitzen.

Die Aufnahme kann über die Nahrung und über die Körperoberfläche erfolgen, wobei im Allgemeinen die Aufnahme über die Körperoberfläche überwiegt (PARLAR & ANGERHÖFER 1991). Es ist anzunehmen, dass die Aufnahme über die Körperoberfläche durch die Häutung der Testorganismen beeinflusst wird. Im Hinblick auf die Häutung gibt es deutliche Unterschiede zwischen den drei eingesetzten Arten. Die jungen Daphnien häuten sich bis zum Eintritt der Geschlechtsreife (im Alter von ca. 7 d) 4-5-mal, dabei nehmen die Häutungsabstände mit dem Alter der Tiere zu (FLÖBNER 1972). Somit waren die Tiere bei den statischen Tests mit hoher Wahrscheinlichkeit zum Zeitpunkt einer Häutung dem Giftstoff ausgesetzt. Im Gegensatz dazu häuten sich die geschlechtsreifen Schwebekrebschen nicht mehr (KIEFER 1960). Bei den Gammariden spielte die Häutung nur eine untergeordnete Rolle für die Toxinaufnahme, da hier die Häutungsabstände mehrere Wochen betragen und damit bedeutend länger waren als die Testdauer. Umgekehrt kann das Toxin einen Einfluss auf die Häutung besitzen, so konnten BUCHANAN & al. (1970) zeigen, dass 1 mg/L Carbaryl die Häutung von Larven der Krabbe *Cancer magister* unterbindet.

Physiologisch können unter den Arten Unterschiede in der ACh-Hydrolyseaktivität bestehen, wodurch die Sensitivität für AChE-Inhibitoren variiert. Dies kann auf eine höhere Konzentration von AChE zurückgeführt werden oder in einer unterschiedlichen Affinität zwischen AChE und ACh begründet sein. Beispielsweise weisen die Michaelis-Menten Konstanten auf eine höhere Affinität zwischen AChE und ACh bei herbivoren im Vergleich zu karnivoren Spezies hin (SINGH & RAI 1976). Die Konzentration von AChE kann jedoch selbst bei ein und derselben Spezies je nach Lebensbedingungen und Entwicklungsstadium variieren (CROFT 1990). Zudem gibt es eine so starke genetische Variation, dass Individuen auftreten können, die eine signifikant geringere Ansprechempfindlichkeit auf ein Toxin besitzen. Bei regelmäßigem Kontakt mit einem Wirkstoff können daher durch Selektion insektizidresistente Populationen entstehen, ein Phänomen das bereits zu Beginn des zwanzigsten Jahrhunderts bei der Anwendung von Cyaniden festgestellt wurde und das mit dem zunehmenden Einsatz von Insektiziden seit den späten 40er Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen hat (DENT 2000). Für synthetischen Pyrethroide wurden in den 70er Jahren erstaunlich rasch Resistenzen ausgebildet (KLAUS 2003). Aufgrund der ökonomischen Bedeutung von Resistenzen setzen sich zahlreiche Forscher mit dem Phänomen auseinander (MULLIN 1992), so dass hier bereits in den 70er Jahren die genetischen Ursachen (knockdown resistance kdr und super kdr) untersucht wurden (LEAHEY 1985) deren Erforschung noch immer aktuell ist (LEE & al. 1999, VAIS & al. 2000, WANG & al. 2001).

Weitere physiologische Ursachen für Unterschiede in der Toxizität können in der Fähigkeit zur Entgiftung durch Esterasen, Cytochrom P-450 Monooxygenasen, MFOs, Gluthation-S-transferasen und Epoxid-Hydrolasen bestehen. So weiß man von Fischen, dass sie Cypermethrin langsamer abbauen als Vögel und Säugetiere, was wesentlich zur Erhöhung der Toxizität auf Fische beiträgt (BRADBURY & COATS 1989). Umgekehrt sind es häufig erst die Metaboliten selbst, welche zu einer hohen Toxizität führen. So ist von Dimethoat bekannt, dass häufig erst nach Oxidation entstandenes Dimethoxon (Omethoat), für die Toxizität verantwortlich ist (EHC 90 1989).

Da im Mittelpunkt der Insektizidforschung die Wirkung auf "Schädlinge" und "Nützlinge" steht, liegen hier oftmals genauere Kenntnisse über Ursachen von artspezifischen Sensitivitätsunterschieden vor. Um ein Beispiel zu nennen, die Florfliege *Chrysoperla carnea* ist sehr viel toleranter gegenüber dem Pyrethroid Permethrin als die Motte *Heliothis virescens*, verursacht durch eine höhere Esterase Aktivität und bedingt durch eine andere Bindungsstelle am Rezeptor (CROFT 1990). Eine vergleichbar präzise Erörterung der Sensitivitätsunterschiede bei den in vorliegender Studie eingesetzten Organismen lässt der Kenntnisstand nicht zu.

### Lindan

Die Rolle von *D. magna* als Standardorganismus für toxikologische Studien wird mit einer hohen Sensitivität der Tiere gegenüber einem weiten Spektrum an Xenobiotika begründet. Für einige Wirkstoffe, wie Lindan ist jedoch bekannt, dass sie auf *D. magna* nur mäßig toxisch wirken. In der Literatur werden für die Wirkung von Lindan auf die Schwimmfähigkeit junger Daphnien (*D. magna*), 48h-EC<sub>50</sub>-Werte von 0,5 mg/L (RANDALL & al. 1979) bis 0,8 mg/L (CANTON & al. 1975) und ein 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 1,8 mg/L (DE COEN & al. 1998) angegeben. Dies entspricht größenordnungsmäßig der in vorliegender Studie ermittelten Konzentration von 1,03 mg/L (24h-EC<sub>50</sub>-Wert). Bei den durchgeführten Untersuchungen erwiesen sich die 7-8 Tage alten Tiere als deutlich unempfindlicher, so dass erst nach einer Einwirkzeit von 48 Stunden und einer Konzentration von 2,54 mg/L Lindan eine Immobilisierung von 50 Prozent der Tiere zu verzeichnen war. Zur Wirkung von Lindan waren Vergleichsdaten für ältere Daphnien nicht verfügbar.

Wie bereits einleitend erwähnt, liegen über Effektkonzentrationen der untersuchten Insektizide für die Art *E. vulgaris* keine Daten vor. Untersuchungen zur Wirkung von Lindan im Freiland ergaben, dass die Copepoda unter den Zooplanktern am stärksten durch den Wirkstoff geschädigt wurden (NEUGEBAUER-BÜCHLER & al. 1991). Die Resultate aus einer Laborstudie mit *Spicodiantomus chelospinus* (KADER & al. 1976), einem anderen Vertreter der Calanoida, weisen auf eine höhere Sensitivität für Lindan hin, als die von *D. magna* bekannte. So wurde für

*Spicodiantomus chelospinus* ein 24h-LC<sub>50</sub>-Wert von 170 µg/L ermittelt (KADER & al. 1976). Für *E. vulgaris* konnte mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 200 µg/L ebenfalls eine gegenüber *D. magna* bedeutend höhere Empfindlichkeit für Lindan festgestellt werden.

Für *G. roeseli* lagen keine Daten zur akuten Toxizität der in der vorliegenden Studie eingesetzten Insektizide vor. Aus Studien mit anderen Arten der Gattung *Gammarus* ist ebenfalls eine gegenüber *D. magna* höhere Sensitivität für Lindan bekannt. Die angegebenen 96h-LC<sub>50</sub>-Werte bewegen sich zwischen 34-79 µg/L (ABEL 1980a, TAYLOR & al. 1991) und 225 µg/L (GREEN & al. 1986) für *G. pulex*, 10-11µg/L für *G. fasciatus* (SANDERS 1972), 48 µg/L für *G. lacustris* (SANDERS, 1969) und 26 µg/L für *G. italicus* (PANTANI 1997). Berücksichtigt man die kürzere Einwirkzeit, so scheint *G. roeseli* mit dem ermittelten 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 36 µg/L etwas sensibler auf Lindan zu reagieren als die anderen Gammariden.

### Dimethoat

In den Environmental Health Criteria (EHC 90 1989) sind einige Untersuchungen zur Wirkung von Dimethoat aufgeführt, die eine eher moderate Toxizität für eine Vielzahl aquatischer Organismen belegen. Beispielsweise untersuchten KARIM & al. (1985) aquatische Lebewesen im Sudan, mit dem Resultat, dass es bei einigen Fischen (*Oreochromis niloticus*, *Gambusia affinis*), Libellen (*Pseudagrion spp.*, *Crocothemis erythraea*) und Mollusken (*Lanistes carinatus*) bis zu einer Konzentration von 80 mg/L keine letalen Ausfälle gab.

Von den in der vorliegenden Studie untersuchten Insektiziden erwies sich Dimethoat als der Wirkstoff mit der geringsten Toxizität auf die drei Testspezies, wobei sich *D. magna* mit 24h-EC<sub>50</sub>-Werten von 1,9 mg/L für Jungtiere und 1,85 mg/L für 7-8 Tage alte Tiere, als der sensitivste der drei Organismen darstellte. Von 11 aquatischen Spezies, die SLOOFF & CANTON (1983) Dimethoat aussetzten, war *D. magna* mit einem NOEC-Wert von 0,032 mg/L ebenfalls am sensitivsten. Allerdings war von den 11 untersuchten Spezies *D. magna* der einzige Vertreter der Crustacea. BEUSEN & NEVEN (1989) ermittelten für *D. magna* (Jungtiere) mit 1,5–

1,8 mg/L erst nach der doppelten Einwirkzeit (48h) einen mit den Ergebnissen der eigenen Studie vergleichbaren Effekt.

Zur akuten Toxizität von Dimethoat für Calanoida liegen keinerlei andere Studien vor. Bei den eigenen Untersuchungen erwies sich *E. vulgaris* als außerordentlich unempfindlich für diesen Wirkstoff. Erst nach einer Einwirkzeit von 48 Stunden bei einer Konzentration von 332 mg/L verloren 50 Prozent der Tiere ihre Schwimmfähigkeit. Damit war *E. vulgaris* von den drei untersuchten Spezies der mit Abstand unempfindlichste Organismus für Dimethoat.

LC<sub>50</sub>-Werte für *G. lacustris* von 0,9 mg/L nach 24 Stunden (SANDERS 1969) und für *G. italicus* von 3,8 mg/L nach 96 Stunden (PANTANI 1997) deuten auf nennenswerte Unterschiede in der Empfindlichkeit von Gammariden auf Dimethoat hin. Für *G. roeseli* lag der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert bei 5,3 mg/L. Damit reagierte *G. roeseli* erheblich empfindlicher auf Dimethoat als *E. vulgaris*, jedoch unempfindlicher als *D. magna*.

### Carbofuran

Mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 80 µg/L erwies sich Carbofuran als äußerst toxisch für *D. magna*. Dies bestätigen die Untersuchungen von JOHNSON (1986), mit einem 48h-EC<sub>50</sub>-Wert für *D. magna* von 48 µg/L. *D. pulex* erwies sich mit einer Konzentration von 35 µg/L (48h-EC<sub>50</sub>) vergleichbar sensitiv (HARTMAN & MARTIN 1985). Für den Wirkstoff Carbofuran liegen keine Vergleichsstudien zur Empfindlichkeit älterer Daphnien vor, die sich in der vorliegenden Studie erheblich unempfindlicher zeigten, so dass hier erst bei der 6-fachen Konzentration von 489 µg/L 50 Prozent der 7-8 Tage alten Tiere immobilisiert wurden.

In den statischen Tests erwies sich *E. vulgaris* von den drei untersuchten Testorganismen als die unempfindlichste Spezies für Carbofuran. Bei einer Konzentration von 1241 µg/L waren nach 24 Stunden 50 Prozent der Tiere schwimmunfähig. Zur akuten Toxizität von Carbofuran auf Copepoda lag nur eine weitere Studie vor, in welcher die Wirkung auf die marine Spezies *Tigriopus*

*brevicornis* untersucht wurde. *Tigriopus brevicornis* erwies sich hier als sehr sensitiv, so dass der 96h-LC<sub>50</sub>-Wert für adulte Tiere bei 60 µg/L lag (FORGET & al. 1998).

Auf den Wirkstoff Carbofuran reagierte *G. roeseli* von den drei Testspezies am empfindlichsten. Der ermittelte 24h-EC<sub>50</sub>-Wert betrug bei *G. roeseli* 27 µg/L. In der Literatur wird für andere Vertreter der Gattung *Gammarus* eine sehr hohe Toxizität von Carbofuran beschrieben, so konnte PANTANI (1997) einen 96h-LC<sub>50</sub>-Wert von 12 µg/L für *G. italicus* und MATTHIESSEN & al. (1995) einen 24h-LC<sub>50</sub>-Wert von 21 µg/L für *G. pulex* ermitteln.

### **Carbaryl**

Die Toxizität von Carbaryl auf aquatische Organismen variiert zwischen den taxonomischen Gruppen stark, wobei Arthropoden meist wesentlich empfindlicher auf den Wirkstoff reagieren als Mollusken (EHC 153 1994). Selbst unter den Vertretern der Crustacea konnten große Unterschiede in der Empfindlichkeit auf Carbaryl festgehalten werden. So zeigte sich die Garnele *Palaemonetes kadiakensis* mit einem 96h-LC<sub>50</sub>-Wert von 5,6 µg/L (JOHNSON & FINLEY 1980) deutlich sensitiver als Flusskrebse der Gattung *Procambarus*, für die 96h-LC<sub>50</sub>-Werte von 1,9-2,4 mg/L ermittelt wurden (MAYER & ELLERSIECK 1986, CHAIYARACH & al. 1975).

Über die akute Toxizität von Carbaryl auf *D. magna* gibt es sehr unterschiedliche Angaben anderer Bearbeiter, die zwischen einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 0,66 µg/L (RAWASH & al. 1975) und 48h-LC<sub>50</sub>-Angaben mit > 50 µg/L (HATAKEYAMA & SUGAYA 1989) liegen. Die eigene Untersuchung ergab einen 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 18,6 µg/L. Zu nahezu identischen Resultaten kommen WERNERSSON & DAVE (1997), die eine 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 21 µg/L angeben. Die Empfindlichkeit der älteren Daphnien nahm bei Carbaryl ab, allerdings nur in moderatem Maß, so dass der 24h-EC<sub>50</sub>-Wert hier bei 38,7 µg/L lag.

Zahlreiche Untersuchungen zum Einfluss von Carbaryl auf die Zooplanktongemeinschaft wurden von HANAZATO & YASUNO (1987, 1989 & 1990) durchgeführt. Danach sind die Copepoda toleranter gegenüber Carbaryl als die Cladocera (HANAZATO & YASUNO 1990). Es lag nur eine Laboruntersuchung zur akuten Toxizität für Calanoida von KADER & al. (1976) vor. Hier wird für *Spicodiantomus chelospinus* ein 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 240 µg/L Carbaryl angegeben. Mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 603 µg/L zeigte sich die Art *E. vulgaris* um etwa das 3 fache unempfindlicher als *Spicodiantomus chelospinus*.

In einigen Studien mit Gammariden erwies sich Carbaryl als hochtoxischer Wirkstoff. Es finden sich Angaben zum 96h-LC<sub>50</sub>-Wert für *G. pseudolimnaeus* mit 7-13 µg/L (WOODWARD & MAUCK 1980), *G. italicus* mit 28 µg/L (PANTANI 1997) und *G. lacustris* mit 22 µg/L (JOHNSON & FINLEY 1980). Für die heimische Art *G. pulex* geben BLUZAT & SEUGE (1979) einen 24h-LC<sub>50</sub>-Wert von 35µg/L Carbaryl an. *G. roeseli* zeigte sich mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 75 µg/L etwas unempfindlicher als *G. pulex*.

### Cypermethrin

In Mesokosmos-Studien wurde, bei einer nominalen Konzentration von 5µg/L Cypermethrin, eine deutliche Beeinflussung aller taxonomischen Gruppen des Zooplanktons, mit Ausnahme der Molluskenlarven, festgestellt (MEDINA & AL 2004). Aus zahlreichen Untersuchungen ist eine hohe Sensitivität von aquatischen Invertebraten für Cypermethrin bekannt (EHC 82 1989). Die für Pyrethroide häufig höhere Sensitivität von aquatischen Invertebraten gegenüber terrestrischen Invertebraten könnte auf die Beeinflussung der Osmoregulation, in Folge eines gestörten Ionen-Transports zurückzuführen sein (TANG & SIEGFRIED 1995).

Von den untersuchten Insektiziden erwies sich Cypermethrin als der Wirkstoff mit der höchsten Toxizität für die drei Testspezies, wobei sich *D. magna* mit einem 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 1,17 µg/L als der unempfindlichste der drei Organismen präsentierte. Dieses Ergebnis entspricht in etwa dem von STEPHENSON (1982) angegebenen 24h-EC<sub>50</sub>-Wert für *D. magna* von 2 µg/L. Zu einem deutlich höheren

Wert kommen RUPARELIA & al. (1995), die für *D. magna* einen 24h-LC<sub>50</sub>-Wert von 18-19 µg/L Cypermethrin ermittelten. Dies entspricht annähernd dem Wert von 15,4 µg/L, der in vorliegender Studie für die 7-8 Tage alten Exemplare verifiziert wurde. Die von RUPARELIA & al. (1995) verwendeten Tiere waren weniger als 25 Stunden alt, stammten allerdings von Wildfängen ab und nicht, wie bei den anderen Studien, aus einer Laborzucht.

Aus den Mesokosmos-Studien von MEDINA & al. (2004) geht hervor, dass die Copepodenpopulation durch den Einfluss von 5 µg/L Cypermethrin längerfristig in ihrer Zusammensetzung beeinflusst wurde, wohingegen bei den Cladocera 14 Tage nach der Gifteinwirkung kein signifikanter Unterschied mehr zur unbehandelten Referenz festzustellen war. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit von Copepoda auf Cypermethrin, wird der Wirkstoff zur Medikation von Fischen aus Aquakulturen gegen parasitische Copepoda eingesetzt (STONE & al. 1999, MEDINA & al. 2004). Die akute Toxizität von Cypermethrin wurde von WILLIS & LING (2004) an vier marinen Spezies der Copepoda untersucht, von denen drei (*Acartia clausi*, *Pseudocalanus elongatus*, *Temora longicornis*) zu den Calanoida zählen. Die 48h-EC<sub>50</sub>-Werte für die adulten Tiere liegen hier zwischen 1,65 µg/L für *Temora longicornis* und > 5 µg/L für *Pseudocalanus elongatus*. Im Vergleich dazu reagierte der Süßwasserorganismus *E. vulgaris* mit 0,43 µg/L (24h-EC<sub>50</sub>) sensitiver auf Cypermethrin.

FARMER & al. (1995) konnte in Mesokosmos-Studien die deutlichste Cypermethrinbeeinflussung von Makroinvertebraten bei den Asellidae und Gammaridae konstatieren. Zur akuten Toxizität (24h-EC<sub>50</sub>/LC<sub>50</sub>) von Cypermethrin auf Gammariden gibt es Angaben für *G. pulex*, die bei 0,04-0,13 µg/L liegen (STEPHENSON 1982, SHIRES 1983). Im Verhältnis zu den Literaturdaten von *G. pulex* stellte sich *G. roeseli* mit 0,44 µg/L etwas unempfindlicher dar.

### 4.3 Möglichkeiten und Grenzen der eingesetzten Messverfahren

#### 4.3.1 Das bbe-Daphnientoximeter

Das bbe-Daphnientoximeter setzt in seiner bestehenden Auswertekonfiguration für den verwendeten Testorganismus eine permanente Schwimmaktivität im Normalverhalten voraus. Voruntersuchungen mit Vertretern der Ostracoda und Amphipoda, also Spezies, die in ihrem Normalverhalten nur zeitweise Ortsbewegungen vollziehen, konnten mit dem bbe-Daphnientoximeter nicht zufriedenstellend aufgenommen werden. Das bbe-Daphnientoximeter eignete sich jedoch gut zur Aufzeichnung des Schwimmverhaltens der beiden Planktonorganismen *D. magna* und *E. vulgaris*. Dennoch vielen im Verlaufe des Betriebs einige Aspekte seitens der Geräte- und Auswertetechnik auf, deren Verbesserungsfähigkeit geprüft werden sollte. Sie sind im Folgenden näher beschrieben.

Die zur Auswertung der Messungen verwandten Parametereinstellungen orientierten sich an den derzeit im Messbetrieb am Rhein bei Karlsruhe angewendeten. Im Bezug auf den Geschwindigkeitsklassenindex (GKI) war dies nicht möglich, da der verwendete DViewer (Offline- Programm) mit der Einstellung nicht arbeitet. Dieses Problem konnte umgangen werden, indem für die Auswertungen die obere Klassen-Grenze von 1 cm/s auf 0,8 cm/s herabgesetzt wurde. Laut Hersteller soll dies in der folgenden DViewer Generation behoben werden. Die neuere der beiden eingesetzten Softwareversionen verwendet zur Berechnung der GKI ohnehin ein anderes Verfahren, das Zwecks Vergleichbarkeit der Messergebnisse, zu den mit der älteren Softwareversion aufgenommenen Daten, an dieser Stelle nicht angewendet wurde.

Eine weitere Frage hinsichtlich der Parametereinstellung bleibt offen: ist für den Testorganismus *E. vulgaris* grundsätzlich eine andere Einstellung zu wählen, als die derzeitig auf *D. magna* ausgerichtete, um Verhaltensänderungen optimal darzustellen und zu bewerten? Für die vorliegende Arbeit war es zunächst sinnvoll mit den gleichen Auswertmodi zu arbeiten, da dies einen direkten Vergleich zwischen den Daten der beiden Testorganismen *D. magna* und *E. vulgaris*

ermöglichte. Im Hinblick auf die ermittelten Unterschiede im Normalverhalten (vgl. 4.4.1) ist davon auszugehen, dass Parameter wie die Schwimmggeschwindigkeit, die bei *E. vulgaris* eine höhere Kontinuität aufwies als bei *D. magna*, mit einem höheren Gewicht bewertet werden könnten.

Beim Auslesen der Daten in Exceltabellen waren gehäuft Fehlwerte für den Parameter fraktale Dimension aufgefallen, die in der geräteinternen graphischen Datenpräsentation nicht in Erscheinung traten. Ob dies Einfluss auf die Auswertung des Parameters durch die Alarmalgorithmen hatte, ist unklar. Am Gesamtergebnis sollte dies aufgrund der ohnehin geringen Bewertung des Parameters (maximal zwei Alarmpunkte) keinen nennenswerten Einfluss gehabt haben. Von den beiden für die fraktale Dimension vergebenen Alarmpunkten ist einer im Falle eines Steigungsalarms und einer für den Fall eines Hinkleyalarms vorgesehen. In der Praxis hat sich gezeigt, dass es äußerst unwahrscheinlich war einen Steigungsalarm für den Parameter der fraktalen Dimension zu erhalten, so dass auf diese Bewertung sicher verzichtet werden könnte. Fehlwerte in den anderen Verhaltensparametern, insbesondere im Abstand, stellten sich häufig bei starken Tierverlusten ein. Insgesamt erwies sich bei hohen Giftkonzentrationen, die zu einem schnellen Tierverlust führten, die Erkennung durch die Alarmalgorithmen, insbesondere im Fall der Schwimmggeschwindigkeit, oft als beeinträchtigt. Dies führte dazu, dass weniger Alarmpunkte vergeben wurden als bei den Messungen mit niedrigeren Giftstoffkonzentrationen. Ein Phänomen, das sich in der Erniedrigung der Erkennungsrate widerspiegelt und seitens des Herstellers bekannt ist (bbe-MOLDAENKE 2002).

Die Durchflussuntersuchungen (vgl. 3.1.1) zeigten, dass es bei den derzeit im Messbetrieb verwendeten Küvetteneinsätzen (Typ-B, Abb. 9) bei Passungenauigkeiten zwischen Küvette und Einsatz zu einem Bypass kommen kann. LEWANDOWSKA (2004) stellte darüber hinaus fest, dass auch Passungenauigkeiten zwischen Küvetteneinsatz und Temperaturfühler auftreten können, wovon der Wassereinstrom in die Messküvetten beeinflusst wird. Bei der Messung führte dies dazu, dass keine Verhaltensänderungen der Daphnien festzustellen waren, da kaum

Wasser in die Küvette einströmte (LEWANDOWSKA 2004). LEWANDOWSKA (2004) schlägt daher vor den oberen Bereich des Küvetteinsatzes mit einem Sieb zu versehen um die homogene Durchströmung der Messzelle zu verbessern. Für die Effektmessungen mit den Insektiziden wurden Küvetteneinsätze vom Typ-A (Abb. 9) verwendet. Nachteil dieser Küvetteneinsätze ist die beidseitig angebrachte Gaze, die sich im Messbetrieb am Gewässer leicht mit Partikeln zusetzen kann, wodurch die seitliche Beleuchtung stark reduziert wird und die Versuchstiere letztlich nicht mehr erkannt werden. Andererseits hat der testweise Einsatz von *E. vulgaris* in die Typ-B Küvetteneinsätze ergeben, dass die Tiere, die sich vorwiegend in den oberen Bereichen der Messküvette aufhalten (vgl. 3.2.1) und ein wesentlich passiveres Schwimmverhalten zeigen als *D. magna*, von dem im Bereich des Temperaturfühlers einströmenden Wasser mitgerissen werden.

### 4.3.2 Der Driftmesser

Anfängliche Schwierigkeiten mit der Korrosion an der Elektronik und dem Zusetzen der Gaze im Bereich der Pumpenansaugung mit Partikeln, konnten durch den Umbau der Versuchsbecken behoben werden (vgl. 2.3.2.1). Bestehen blieb ein Defizit bei der Datenaufnahme mit der veralteten Lichtschrankentechnik. Es wurden nicht alle driftenden Tiere gezählt und der Anteil gezählter Tiere an der Gesamtdrift variierte zwischen 22 und 64 Prozent (vgl. 3.1.2). Eine Ursache war der mit über einem Zentimeter große Abstand zwischen den einzelnen Sender- / Empfängereinheiten. Außerdem führten aufgrund des schlechten Auflösungsvermögens der Lichtschranken geringfügige Veränderungen der Durchströmungsverhältnisse zu unterschiedlichen Detektionsraten. Mit anderen Worten, Tiere die zu schnell an den Lichtschranken vorbei drifteten, konnten nicht erfasst werden. Die mit dem Driftmesser aufgezeichneten Ergebnisse, zusammen mit eigenen Beobachtungen, erlauben jedoch eine grundsätzliche Aussage zur Eignung der Drift von *G. roeseli* als zu bewertender Verhaltensparameter in einem kontinuierlichen Biotestgerät.

## 4.4 Ansprechempfindlichkeit in den kontinuierlichen Tests

### 4.4.1 Abgrenzung des Normalverhaltens vom Stressverhalten

Der Vergleich zwischen statischen und kontinuierlichen Testergebnissen (vgl. 3.6), zeigte für *E. vulgaris*, im Gegensatz zu *D. magna*, zumeist eine höhere Empfindlichkeit im kontinuierlichen Test als im statischen Test. Besonders groß war der Unterschied bei Carbofuran wo bereits ein Achtel der Konzentration des statischen Tests zur Überschreitung der Alarmschwelle des bbe-Daphnientoximeter ausreichte.

Um die höhere Empfindlichkeit in kontinuierlichen Tests diskutieren zu können, ist es erforderlich die Bedeutung der im bbe-Daphnientoximeter aufgenommenen Einzelparameter zu betrachten (vgl. 3.6). Es waren vor allem Veränderungen der Schwimmgeschwindigkeit, die bereits bei subletalen Konzentrationen, also vor dem Eintritt von Tierverlusten, auftraten. Umgekehrt sprachen die Alarmalgorithmen bei den Parametern Schwimmhöhe und Abstand häufig erst mit dem Eintritt eines Tierverlustes an. Die Häufigkeiten mit denen im Bereich der Alarmschwellen-Konzentrationen Auffälligkeiten in den einzelnen Parametern auftraten (Abb. 87), unterschieden sich zwischen *D. magna* und *E. vulgaris*. Für *E. vulgaris* waren, mit Ausnahme der Lindanmessungen, die Parameter Schwimmgeschwindigkeit und GKI maßgeblich für die Ausgabe des Alarms. Bei *D. magna* kam der Schwimmgeschwindigkeit zwar ebenfalls eine hohe Bedeutung zu, der Anteil anderer Parameter, insbesondere der Schwimmhöhe und des Tierverlustes, fiel jedoch bedeutend höher aus als bei *E. vulgaris*.

Eine Erklärung liegt im unterschiedlichen Verhaltensmuster der beiden Spezies. Während *D. magna* sich durch regelmäßiges Schlagen, mit den im Verhältnis zur Körpergröße kurzen Antennen, nur aktiv im Wasserkörper halten kann, ist es *E. vulgaris* möglich, mit Hilfe der im Verhältnis vielfach längeren Antennen, die Sinkgeschwindigkeit derart zu verringern, dass sich die Tiere über längere Zeit passiv im Wasserkörper treiben lassen können. Erhöhen die Tiere unter dem Einfluss eines Stressors ihre Schwimmaktivität, so bedeutet dies für *D. magna* eine Erhöhung der ohnehin das Schwimmverhalten prägenden Schlagfrequenz,

wohingegen es bei *E. vulgaris* eine Verringerung des normalerweise das Schwimm-bild prägenden passiven Sinkverhaltens bedeutet. Anders ausgedrückt, umso größer der Kontrast zwischen dem unbeeinflussten Normalverhalten und der Reaktion im Stressfall, umso leichter ist eine sichere Detektion möglich.

Im Parameter Schwimmgeschwindigkeit war das Normalverhalten von *E. vulgaris* konstanter, also die Variationsbreite geringer als bei *D. magna*. Da *D. magna*, im Gegensatz zu den adult verwendeten Schwebekrebsen als Jungtier eingesetzt wird und entsprechend eines einwöchigen Wartungszyklus, während der Messung heranwächst, stellte sich darüber hinaus die Frage, ob das Wachstum einen Einfluss auf die Schwimmgeschwindigkeit hat. Anhand von Daten aus dem Rheinmessbetrieb wurde aufgezeigt, dass gerade der Parameter Schwimmgeschwindigkeit, mit dem Wachstum von *D. magna* Veränderungen unterlag. Die Schwimmgeschwindigkeit stieg im Mittel mit der Größe der Tiere an. Ein Zusammenhang wie ihn DODSON & RAMCHARAN (1991) auch für *D. pulex* beschreiben. Aufgrund der dynamischen Auswertung mit Driftabzug geht dies nicht mit einer Veränderung der Messempfindlichkeit einher. Mit dem Wachstum zeigte sich neben dem Anstieg der Schwimmgeschwindigkeit als solches, eine Zunahme der Streuung. Eine solche Erhöhung des Grundrauschens ist zwangsläufig mit einer Erniedrigung der Ansprechempfindlichkeit verbunden, da die Standardabweichung in die Berechnungen der Alarmalgorithmen mit eingeht. Somit ist bei der Verwendung von *D. magna* als Testorganismus im Gegensatz zum Einsatz von *E. vulgaris*, von einer veränderlichen Sensitivität innerhalb des einwöchigen Messzeitraums auszugehen.

Wie so eben beim Vergleich zwischen *D. magna* und *E. vulgaris* dargelegt, ist es zur Detektion subletaler Effekte entscheidend, dass sich das Normalverhalten deutlich vom Stressverhalten abgrenzen lassen kann. Wünschenswert ist daher ein möglichst passives Normalverhalten im Verhältnis zu einem möglichst aktiven Stressverhalten. Für die im Pelagial lebenden Planktonorganismen, ist die Voraussetzung für ein Höchstmaß an Passivität im Normalverhalten, eine niedrige Sinkgeschwindigkeit, wie sie für *E. vulgaris* bezeichnend ist. Das Höchstmaß an

Aktivität in der Stressreaktion wird bei den Planktonorganismen durch das Schwimmvermögen der jeweiligen Spezies limitiert. Ganz andere Bedingungen herrschen für das Makrozoobenthos der Fließgewässer. Zur Besiedelung des Benthals eines Fließgewässers ist es normalerweise erforderlich sich vor der Strömung zu schützen, um nicht abzudriften. Im Bedarfsfall ermöglicht das Driften jedoch eine schnelle Flucht, mit einer Geschwindigkeit, die über der des artspezifischen Schwimmvermögens liegen kann.

Die Drift gehört zu den natürlichen Verhaltensweisen von Gammariden und tritt auch ohne den Einfluss eines Stressors auf. Unter natürlichen Bedingungen wird ein nocturnaler Anstieg der Driftrate von Gammariden, mit einem Maximum in den ersten Nachtstunden beschrieben (MÜLLER 1963, MEIJERING 1972, BRITAIN & EIKELAND 1988, ELLIOTT 2002a). Licht scheint ein beeinflussender Faktor für die circadianen Schwankungen zu sein. MÜLLER (1966) konnte den Anstieg der Drift durch künstliche Beleuchtung des Breitenbachs zur Nachtzeit unterdrücken. In der vorliegenden Arbeit fand keine künstliche Beleuchtung statt, so dass seitens der Beeinflussung durch die natürlichen Lichtverhältnisse eine Tagesperiodik zu erwarten gewesen wäre. Bei Einsetzen der Dämmerung war eine leichte Zunahme der Aktivität zu beobachten, die jedoch nicht zu einer Erhöhung der Impulsrate führte. In anderen Laborstudien ist das Fehlen eines Tag-/Nachtrhythmus festgestellt worden (HUGHES 1970, MEIJERING 1972), so dass davon auszugehen ist, dass unter natürlichen Bedingungen weitere Faktoren, beispielsweise Temperaturunterschiede, die nächtliche Zunahme der Drift beeinflussen. Schwankungen der Driftrate im Normalverhalten, die keinem Tagesgang zugeordnet werden konnten, waren bei den Aufnahmen mit dem Driftmesser öfters zu verzeichnen. Zumeist waren es kurze, einige Minuten andauernde Erhöhungen der Drift. Zwischen den Chargen eingesetzter Testorganismen zeigten sich Unterschiede in der Aktivität, die bei einer mittleren Impulszahl (2 Minuten) zwischen 0,2 und 8,2 lagen. Teilweise handelte es sich dabei um Tiere aus der gleichen Probenahme, die schon mehrere Wochen unter den gleichen Bedingungen gehalten wurden, so dass über die Ursachen für die unterschiedliche Aktivität nur spekuliert werden kann. Die Zunahme der Drift unter dem Einfluss einiger

Insektizide (vgl. 4.4.3) lag messbar über der maximalen Drift im Normalverhalten. Unter den Bedingungen, wie sie im Messbetrieb am Gewässer herrschen, könnte sich das Normalverhalten der Gammariden anders darstellen. Hierzu liegen bislang keine Erfahrungen vor.

### **4.4.2 Wirkschwellen mit *D. magna* und *E. vulgaris* im bbe-Daphnientoximeter**

Unter Verwendung des Standardorganismus *D. magna* wurde die Sensitivität des bbe-Daphnientoximeters (Tab. 2) für eine begrenzte Zahl an Substanzen getestet (SCHWÖRER 1999b & 2000, GRESENS 2000, GREEN & al. 2003, LUCKAS 2002 & 2003, LEWANDOWSKA 2004). Bislang wurden mit dem Gerät keine Untersuchungen mit anderen Testspezies durchgeführt, so dass folglich keine Vergleichsdaten für *E. vulgaris* vorliegen konnten. Die für *D. magna* angegebenen Wirkschwellen basieren häufig auf wenigen Messungen, in einigen Fällen handelt es sich sogar um Einzelwerte. Angesichts der bei vorliegender Studie ermittelten Schwankungsbreiten in den Messergebnissen (vgl. 3.4) muss daher davon ausgegangen werden, dass die betreffenden Angaben höchstens näherungsweise die Wirkschwellen beschreiben. Erschwerend kommt hinzu, dass die Testdurchführung, die angewendeten Auswertemodi sowie die eingesetzten Geräte- und Softwareversionen zwischen den Untersuchungen variierten. Dies kann zu unterschiedlicher Sensitivität führen, so dass ein Vergleich der angegebenen Alarmschwellen-Konzentrationen nur eingeschränkt möglich ist.

Bei der Testdurchführung haben im Wesentlichen zwei Aspekte Bedeutung für die Vergleichbarkeit der bislang ermittelten Alarmschwellen-Konzentrationen. Da wäre zunächst das verwendete Testwasser zu nennen. Untersucht wurde die Sensitivität des bbe-Daphnientoximeter mit Flusswasser (GRESENS 2000, SCHWÖRER 2000, LEWANDOWSKA 2004), M4-Medium mit Schwebstoffen (LUCKAS 2002) und reinem M4-Medium (SCHWÖRER 1999b). Bei der Verwendung von Flusswasser können Wechselwirkungen mit anderen, unter Umständen selbst toxischen Substanzen auftreten. Beispielsweise ermittelte SCHWÖRER (2000) eine 6-fach höhere Sensitivität auf Lindan, bei Messungen mit Rheinwasser im Vergleich zu

Labormessungen mit M4-Medium. Die Zugabe von Schwebstoffen (LUCKAS 2002) ermöglicht, bei den filtrierenden Testorganismen, die Aufnahme von partikelgebundenem Toxin über die Nahrung. Da in den meisten Messstationen unfiltriertes Flusswasser das bbe-Daphnientoximeter passiert, können derartige Effekte für den Messbetrieb relevant sein. Bei stark adsorbierenden Stoffen, wie Lindan und Cypermethrin, ist von einer partikelgebundenen Aufnahme auszugehen, so dass die Schwebstoffe in diesen Fällen Einfluss auf die Toxizität besitzen. Eine Quantifizierung der Bedeutung von partikelgebundener Toxinaufnahme für die Sensitivität des bbe-Daphnientoximeter lässt die Datenlage derzeit nicht zu. In der vorliegenden Studie wurde mit M4-Medium ohne Schwebstoffzusätze gearbeitet, wobei dem Testwasser Futteralgen zugesetzt waren, an die Toxine adsorbiert werden konnten.

Die Applikation des Toxins ist ein weiterer Aspekt, der für die Vergleichbarkeit der Alarmschwellen-Konzentrationen relevant ist. Im Hinblick auf den Einsatz am Fließgewässer wurden zumeist Schadstoffwellen simuliert (SCHWÖRER 1999b, GRESENS 2000, LUCKAS 2002, LEWANDOWSKA 2004). Im Gewässer ist der Verlauf einer Schadstoffwelle von zahlreichen Faktoren, wie Einleitungsort, Fließgeschwindigkeit, Wasserführung und Durchmischungsverhältnissen, abhängig. Aus diesem Grund sind in der Praxis zahllose Szenarien einer Schadstoffwelle denkbar. Die Schadstoffwellenverläufe variieren bei den bislang durchgeführten Studien. LEWANDOWSKA (2004), die in ihrer Studie drei verschiedene Schadstoffwellenverläufe untersucht hat, konnte für den organischen Phosphorsäureester Trichlorfon feststellen, dass bei kurzen Schadstoffwellen die Konzentration viel höher gewählt werden musste um einen Effekt zu erzielen als bei länger andauernden Schadstoffwellen. Es ist nicht auszuschließen, dass bei anderen Stoffen, die Einwirkzeit weniger entscheidend für den Grad der Wirkung ist als bei Trichlorfon, beispielsweise wenn die sensorische Wahrnehmung noch vor der Schädigung der Testorganismen zu Verhaltensänderungen führt. In solchen Fällen wäre dann im Hinblick auf Gewöhnungseffekte mit einer empfindlicheren Detektion bei einer kürzen Schadstoffwelle zu rechnen. In der vorliegenden Studie wurde auf die Simulation einer Schadstoffwelle verzichtet.

Die Messungen der anderen Bearbeiter wurden sowohl mit einkanaligen als auch mit zweikanaligen Versionen des bbe-Daphnientoximeters aufgezeichnet. Betrachtet man die großen Standardabweichungen, welche die Messungen der vorliegenden Studie ergaben (vgl. 3.4), wird ersichtlich, welche hohe Bedeutung der Kontrolle durch einen zweiten unabhängigen Messkanal zukommt. Durch diese Absicherung kann das Risiko von Fehlalarmen verringert werden, wodurch folgerichtig die Empfindlichkeit der Datenauswertung erhöht werden kann. Mit Ausnahme der Arbeiten von SCHWÖRER (1999b & 2000) kamen bei den aufgeführten Untersuchungen einkanalige Geräteversionen zum Einsatz. Allerdings wurden selbst innerhalb der mit der einkanaligen Geräteversion aufgenommenen Messreihen von den Bearbeitern unterschiedliche Auswertmodi gewählt, mit der Folge, dass identische Messergebnisse zu unterschiedlichen Bewertungen führen können.

Unter dem Vorbehalt der in den vorangegangenen Abschnitten erläuterten Unterschiede bei der Ermittlung der Sensitivitätsschwellen werden im Folgenden die Ergebnisse mit denen der anderen Bearbeiter verglichen.

### **Chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKWs)**

Im Bereich der CKWs wurde in vorliegender Studie die Wirkung von Lindan auf *D. magna* und *E. vulgaris* mit dem bbe-Daphnientoximeter aufgenommen. Der Testorganismus *E. vulgaris* zeigte den Wirkstoff Lindan, mit einer Alarmschwellen-Konzentration von 150 µg/L, erheblich empfindlicher an als *D. magna*, mit einer Alarmschwellen-Konzentration von ca. 1 mg/L. Hierin spiegelte sich die in den statischen Tests festgestellte höhere Sensitivität von *E. vulgaris* gegenüber dem Wirkstoff Lindan. Maßgebliche Parameter bei der Detektion waren die Schwimmhöhe und der Tierverlust.

Für *D. magna* gab es bereits von SCHWÖRER (1999b & 2000) und LUCKAS (2002) Messungen mit dem bbe-Daphnientoximeter zur Wirkung von Lindan. SCHWÖRER (1999b & 2000) konnte Effekte zwischen 0,03 mg/L und 3 mg/L verzeichnen,

wobei eine sichere Alarmierung bei 0,5 mg/L im Messbetrieb am Rhein und 3 mg/L im Labor erfolgte. In vorliegender Studie wurde bei Labormessungen die Alarmschwelle im Mittel bei einer dreifach geringeren Konzentration (1 mg/L) überschritten. Betrachtet man die Messdaten (Abb. 33) nochmals im Detail, so ist anhand der Standardabweichung festzustellen, dass bei einem Milligramm pro Liter extreme Schwankungen zwischen den Einzelmessungen auftraten und die Alarmschwelle im Mittel nur knapp überschritten wurde, wodurch sich der Unterschied zwischen der hier ermittelten Alarmwellen-Konzentration von 1 mg/L zu den von SCHWÖRER (2000) angegebenen 3 mg/L relativiert. LUCKAS (2002) hat Lindanmessungen nur bis zu einer Konzentration von 0,1 mg/L durchgeführt und dabei zweimal einen Alarm erhalten, der jedoch mit einem hohen Grundrauschen einherging, so dass letztlich, auch nach seinen eigenen Darlegungen, keine aussagekräftigen Ergebnisse festgehalten werden konnten.

Untersuchungen anderer CKWs wurden von SCHWÖRER (1999b) zur Wirkung von Endosulfan und Pentachlorphenol und von LUCKAS (2002) ebenfalls zur Wirkung von Pentachlorphenol durchgeführt. Für Endosulfan verzeichnete SCHWÖRER (1999b) Effekte ab 0,01 mg/L und eine sichere Alarmierung ab 0,1 mg/L. Deutlich unempfindlicher zeigten sich die Daphnien bei der Wirkung von Pentachlorphenol, wo detektierbare Effekte im Bereich von 1mg/L bis 3 mg/L festgehalten wurden (SCHWÖRER 1999b). Die Messungen von LUCKAS (2002) lagen mit einer maximalen Konzentration von 0,1 mg/L unterhalb der Alarmschwelle.

### **Organische Phosphorsäureester**

Im Bereich der organischen Phosphorsäureester wurde in vorliegender Studie die Wirkung von Dimethoat auf *D. magna* und *E. vulgaris* mit dem bbe-Daphnientoximeter aufgenommen. Für den Wirkstoff Dimethoat liegen keine Vergleichsmessungen von anderen Bearbeitern vor. Die Alarmschwelle wurde beim Einsatz von *D. magna* im Mittel bei einer Konzentration von 3 mg/L überschritten. Die Standardabweichungen waren jedoch so hoch, dass eine sichere Detektion erst bei 10 mg/L stattfand (Abb. 43). *E. vulgaris* reagierte deutlich unempfindlicher auf den Wirkstoff Dimethoat.

Ein Großteil der bislang mit dem bbe-Daphnientoximeter untersuchten Substanzen gehört zur Gruppe der organischen Phosphorsäureester. Für alle diesbezüglichen Wirkstoffe konnte eine sehr viel höhere Empfindlichkeit belegt werden als für Dimethoat.

Im Bereich der Insektizide betrifft dies die Wirkung von Trichlorfon (SCHWÖRER 2000, GRESENS 2000, LEWANDOWSKA 2004) und Propetamphos (SCHWÖRER 1999b) sowie Parathionethyl, Malathion und Diazinon (LUCKAS 2002). Besonders empfindlich reagierten die Daphnien auf Trichlorfon, wobei bei diesem Wirkstoff erst nach mehrstündiger Einwirkzeit Verhaltensänderungen auftraten (SCHWÖRER 2000, LEWANDOWSKA 2004). LEWANDOWSKA (2004) ermittelte Alarmschwellen-Überschreitungen, die je nach Schadstoffwellenverlauf zwischen 1 µg/L und 20 µg/L lagen. GRESENS (2000) verzeichnete Effekte ab 2 µg/L mit einer sicheren Alarmierung ab 5 µg/L und SCHWÖRER (2000) konnte nach einer Einwirkzeit von etwa 4 Stunden Trichlorfon ab einer Konzentration von 3 µg/L detektieren. Bei den anderen vier Insektiziden Propetamphos, Parathionethyl, Malathion und Diazinon wurde die Alarmschwelle jeweils ab einer Konzentration von 100 µg/L überschritten (SCHWÖRER 1999b, LUCKAS 2002). Während den Angaben zur Alarmschwellen-Konzentration für Propetamphos (SCHWÖRER 1999b) und Malathion (LUCKAS 2002) mindestens drei unabhängigen Messungen zugrunde liegen, basieren die Angaben Parathionethyl und Diazinon auf den Ergebnissen von Einzelmessungen (LUCKAS 2002).

Unter den organischen Phosphorsäureestern befinden sich ausgesprochen wirbeltiergiftige Substanzen, weswegen einige Vertreter dieser Stoffgruppe vom Militär als chemische Kampfmittel geführt werden. In den vergangenen Jahren gerieten chemische Kampfmittel im Zusammenhang mit Terroranschlägen immer wieder in die Schlagzeilen. Wie sich erst kürzlich an einem Anschlag mit Pflanzenschutzmitteln auf die Bodensee-Wasserversorgung zeigte (SPIEGELONLINE 13.11.2005), ist die Trinkwasserversorgung ein mögliches Angriffsziel. Aus diesem Grund wurden zur Zeit der Olympischen Spiele in Salt Lake City bbe-Daphnientoximeter an den 6 wichtigsten Wasserwerken installiert (GREEN & al. 2003). Die

Sensitivität des bbe-Daphnientoximeters wurde für eine Auswahl chemischer Kampfstoffe (Sarin, Soman, Tabun und Cyclosarin) am wehrwissenschaftlichen Institut für Schutztechnologie der Bundeswehr untersucht (GREEN & al. 2003). Als Kriterium für die Humantoxizität beziehen sich GREEN & al. (2003) auf die zulässigen Grenzwerte bezüglich einer kurzfristigen Trinkwasseraufnahme durch Soldaten im Feld (U.S. ARMY 1995). Die im bbe-Daphnientoximeter ermittelten Wirkschwellen für die Kampfstoffe lagen klar unter den Grenzwerten der U.S. Army. Für Sarin liegt der Grenzwert der U.S. Army für eine kurzfristige Trinkwasseraufnahme durch Soldaten im Feld bei 10 µg/L. Nach 2 Stunden Einwirkzeit von 10 µg/L Sarin waren im bbe-Daphnientoximeter 50 Prozent der Tiere immobilisiert. Vergleichbare Effekte waren nach einer Einwirkzeiten von 1-4,5 Stunden bei 6,4 µg/L Soman, 35,5 µg/L Tabun und 60 µg/L Cyclosarin zu verzeichnen (GREEN & al. 2003).

### **Carbamate**

Die eigenen Untersuchungen zur Wirkung von Carbaryl und Carbofuran auf *D. magna* und *E. vulgaris*, sind bislang die einzigen Messungen zur Wirkung von Carbamaten mit dem bbe-Daphnientoximeter. Carbaryl konnte mit einer Alarmschwellen-Konzentration von ca. 25 µg/L, deutlich empfindlicher mit *D. magna* erkannt werden als mit *E. vulgaris* (Alarmschwellen-Konzentration bei ca. 400 µg/L). Im Fall von Carbofuran lag die Alarmschwellen-Konzentration für beide Testspezies bei ca. 150 µg/L, obwohl sich *E. vulgaris* in den statischen Tests deutlich unempfindlicher darstellte als *D. magna*.

### **Pyrethroide**

Im Bereich der Pyrethroide wurde die Wirkung von Cypermethrin auf *D. magna* und *E. vulgaris* mit dem bbe-Daphnientoximeter aufgenommen. Für den Wirkstoff Cypermethrin liegen keine Vergleichsmessungen von anderen Bearbeitern vor. Die Alarmschwelle wurde im Mittel ab einer Konzentration von 2 µg/L bei *D. magna* und ab 0,5 µg/L bei *E. vulgaris* überschritten.

Untersuchungen anderer Wirkstoffe aus der Gruppe der Pyrethroide wurden von GRESENS (2000) zur Wirkung von L-Cyhalothrin und von LEWANDOWSKA (2004) zur Wirkung von Esfenvalerat durchgeführt. Bei der Messung von L-Cyhalothrin handelt es sich um eine Einzelmessung mit einer Konzentration von 500 µg/L, die zu einem massiven Tierverlust führte. Nach der Reinigung des Testgerätes und dem Besatz mit neuen Testorganismen, waren die Schlauchkontaminationen noch immer ausreichend um die neu eingesetzten Daphnien zu töten, so dass GRESENS (2000) erst nach dem Austausch der Schläuche das bbe-Daphnientoximeter wieder in Betrieb nehmen konnte. Die tatsächliche Alarmschwellen-Konzentration für L-Cyhalothrin dürfte demnach erheblich geringer sein als die angegebenen 500 µg/L. Unter Simulation einer 24-stündigen Schadstoffwelle mit Esfenvalerat konnte LEWANDOWSKA (2004) Verhaltensänderungen der Daphnien ab einer Konzentration von 0,2-0,4 µg/L feststellen. Bei den Maxima der Schadstoffwellen, (1 µg/L und 2 µg/L) wurde bei allen 8 durchgeführten Messungen die Alarmschwelle überschritten (LEWANDOWSKA 2004).

Die Pyrethroide sind die einzige Stoffgruppe, bei denen Empfindlichkeiten im Nanogrammbereich festgehalten werden konnten. Die Feststellung von LEWANDOWSKA (2004), dass es sich bei der Reaktion auf Esfenvalerat um eine schnelle akute Wirkung kurz nach Beginn der Messung handelt, deckt sich mit eigenen Erfahrungen beim Wirkstoff Cypermethrin. Unter Berücksichtigung der starken Reaktion nach kurzer Einwirkzeit ist neben der Schadwirkung eine sensorische Wahrnehmung als Ursache für die schnellen Verhaltensänderungen in Betracht zu ziehen. Dafür sprechen die geringen Tierverluste im Bereich der Alarmschwellen-Konzentrationen. In Anbetracht der hohen Adsorptionsverluste von ca. 70 Prozent, die während eines 4,5-stündigen Messbetriebs im bbe-Daphnientoximeter für Cypermethrin festgehalten wurden (Tab. 8) ist davon auszugehen, dass die Tiere bereits unterhalb der hier angegebenen Nominalkonzentrationen auf Cypermethrin reagieren.

## Andere Stoffe

Neben den Insektiziden und Kampfstoffen wurden mit *D. magna* im bbe-Daphnientoximeter noch fünf Herbizide (Atrazin, Isoproturon, Glyphosat, Pendimethalin und Terbutylazin), zwei Lösungsmittel (Xylol und Chloroform) und die Wirkung von CuSO<sub>4</sub> untersucht (SCHWÖRER 1999b, GRESENS 2000, LUCKAS 2002).

Für Atrazin konnte LUCKAS (2002) bis zu einer Konzentration von 0,1 mg/L keine Wirkung auf die Daphnien feststellen. SCHWÖRER (1999b) der Atrazin in höheren Konzentrationen einsetzte ermittelte einen Effekt im Konzentrationsbereich von 3-10 mg/L. Ebenfalls ausgesprochen unempfindlich erwiesen sich die Daphnien für Isoproturon und Glyphosat, so dass GRESENS (2000) bis zu einer Konzentration von 1 mg/L keinen Effekt messen konnte. Bei den beiden anderen von GRESENS (2000) untersuchten Herbizide Pendimethalin und Terbutylazin war eine Detektion mit dem bbe-Daphnientoximeter bei 100 µg/L bzw. 250 µg/L möglich.

Xylol löste Effekte ab 0,1 mg/L aus wobei eine sichere Detektion erst ab 1 mg/L festgehalten werden konnte (SCHWÖRER 1999b). Wesentlich unempfindlicher erwiesen sich die Daphnien bei Messungen mit Chloroform, so dass eine sichere Detektion hier erst bei 10 mg/L möglich war (SCHWÖRER 1999b). Die Wirkung von CuSO<sub>4</sub> konnte von SCHWÖRER (1999b) im Bereich von 0,3 bis 3 mg/L mit dem bbe-Daphnientoximeter erkannt werden.

### 4.4.3 Wirkschwellen mit *G. roeseli* im Driftmesser

LISS (1993) konnte in Folge eines Regenereignisses, wenige Tage nach einer Lindanapplikation auf einem Zuckerrübenschlag, eine stark erhöhte Drift von *G. pulex* feststellen. Im kontinuierlichen Biotest konnte ab einer Konzentration von 125 µg/L Lindan ein Drifanstieg mit *G. roeseli* aufgenommen werden. Die Konzentration lag weit über dem im statischen Test ermittelten 24h-EC<sub>50</sub>-Wert von 36 µg/L.

Aus Beobachtungen im Freiland ist eine gesteigerte Drift bei Invertebraten in Folge des Einsatzes von Carbaryl mehrfach beschrieben worden (COUTANT 1964, COURTEMANCH & GIBBS 1980, BEYERS & al. 1995), wobei hier in erster Linie Insektenlarven betroffen waren. Im kontinuierlichen Biotest konnte ein Drifтанstieg von *G. roeseli* unter dem Einfluss von Carbaryl festgestellt werden. Die eingesetzte Konzentration lag mit 200-400 µg/L weit über dem ermittelten 24-EC<sub>50</sub>-Wert von 75 µg/L Carbaryl.

Die weit über den 24h-EC<sub>50</sub>-Werten gelegenen Konzentrationen, die für Lindan und Carbaryl im Driftmesser eingesetzt wurden, zusammen mit der Tatsache, dass die Gammariden am Ende des 4,5-stündigen Messzeitraums bei beiden Wirkstoffen augenscheinlich geschädigt waren, lässt vermuten, dass es sich hier weniger um eine aktive Drift im Sinne eines Fluchtverhaltens handelte, sondern der Anstieg der Drift bereits die Schädigung selbst abgebildet hat. Eventuell waren die Konzentrationen, als Folge von zu kurzen Einwirkzeiten in den Vortests, zu hoch gewählt. Bei einer Studie von LIESS (1993) mit *G. pulex* reagierten die Tiere auf eine Lindanapplikation von 50 µg/L, erst nach einer längeren Verzögerungsdauer, so dass die maximale Drift nach 2 Stunden eintrat.

Ganz anders stellte sich die Erhöhung der Driftrate bei Carbofuran und Cypermethrin da. Im Fall von Carbofuran wurden ab einer Konzentration von 25 µg/L Effekte gemessen, die sich vom Normalverhalten abgrenzen ließen. Eine sichere Detektion war ab 50 µg/L möglich. Damit war die Empfindlichkeit des Driftmessers unter Verwendung von *G. roeseli*, im Vergleich zum bbe-Daphnientoximeter, unter Verwendung von *D. magna* und *E. vulgaris*, um etwa Faktor 3 höher. Die Alarmschwellen-Konzentration entsprach annähernd den Ergebnissen aus den statischen Tests (24h-EC<sub>50</sub> => 27 µg/L).

Im Falle von Cypermethrin reagierten die Gammariden derart empfindlich, dass eine Detektion bereits ab einer Konzentration von 0,025 µg/L möglich war. Somit lag die Ansprechempfindlichkeit des Driftmessers unter Verwendung von *G. roeseli* um Faktor 10-20 höher als bei *E. vulgaris* und um Faktor 40-80 höher als bei

*D. magna* im bbe-Daphnientoximeter. In Anbetracht der Ergebnisse aus den statischen Tests, die um Faktor 18 höher lagen ( $24\text{h-EC}_{50} = 0,44 \mu\text{g/L}$ ), ist bei der Zunahme der Drift von einer "tatsächlichen" Verhaltensänderung auszugehen, wie sie Gammariden unter natürlichen Bedingungen zur Flucht einsetzen. Beobachtungen einer "Katastrophendrift" von Gammariden und anderen Invertebraten, durch Einträge von Cypermethrin konnten im Freiland mehrfach festgestellt werden (CROSSLAND & al. 1982, ZWICK 1992, DAVIES & COOK 1993). Andere Pyrethroide können ebenfalls bei sehr niedrigen Konzentrationen die Driftrate von Gammariden erhöhen (LIESS 1993, SCHULZ 1997). LIESS (1993) hielt bei seinen Studien eine gesteigerte Driftaktivität unter dem Einfluss von Fenvalerat ab einer Konzentration von  $0,1 \text{ ng/L}$  fest und führte erste Untersuchungen zur Wirkung von Deltamethrin durch, die auf eine noch niedrigere Reaktionsschwelle hinweisen.

#### **4.5 Bedeutung der Labordaten für den Einsatz am Gewässer**

Die Empfindlichkeit kontinuierlicher Tests mit Invertebraten variiert stark mit dem Wirkstoff (vgl. 4.4). Die höchste Sensitivität zeigte sich bei den Pyrethroiden, deren Wirkung teilweise im Nanogrammbereich nachweisbar war. Hier liegt der kontinuierliche Biotest mit seiner Empfindlichkeit im Bereich der Nachweisgrenzen der chemischen Analytik. Die niedrigste Empfindlichkeit unter den getesteten Neurotoxinen wurde für Dimethoat nachgewiesen, das erst im Milligrammbereich Reaktionen auslöste.

Dimethoat wurde bis 1997 in Bitterfeld-Wolfen hergestellt und gelangte in großen Mengen in die Mulde und anschließend in die Elbe (ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR DIE REINHALTUNG DER ELBE 2000). Es konnten Dimethoat-Konzentrationen in der Mulde von bis zu  $200 \mu\text{g/L}$  ermittelt werden (GANDRAß & al. 1995). Selbst diese verhältnismäßig hohen Konzentrationen hätten nach den Ergebnissen der Laboruntersuchungen nicht zur Ausgabe eines Alarms durch das bbe-Daphnientoximeter geführt (vgl. 4.4.2). Allerdings bleiben bei Labormessungen einige Einflüsse unberücksichtigt, die im Messbetrieb am Gewässer auf die Empfindlichkeit der Messung einwirken können.

Einige für die Sensitivität der kontinuierlichen Biotestverfahren in der Praxis relevanten Punkte wurden in den vorangegangenen Abschnitten bereits erwähnt. Hierzu zählt die Schadstoffwelle, wie sie nach einer Einleitung im Fließgewässer, abhängig vom Einleitungsort und den Gewässereigenschaften, entsteht. In den meisten Studien wurden aus diesem Grund Schadstoffwellen simuliert (vgl. 4.4.2). Hierbei konnte festgestellt werden, dass die Ansprechempfindlichkeit abhängig sein kann vom Schadstoffwellenverlauf (LEWANDOWSKA 2004). Abhängig von der Bedeutung der Einwirkzeit auf die Wirkung des Toxins können, die in vorliegender Studie ermittelten Wirkschwellen, in der Praxis anders ausfallen. Wobei hier sowohl eine höhere Empfindlichkeit denkbar ist, wie für den Wirkstoff Trichlorfon ermittelt wurde (LEWANDOWSKA 2004), als auch eine niedrigere Empfindlichkeit, wenn die Sinneswahrnehmung der auslösende Faktor für die Verhaltensänderung darstellt.

Ein weiterer entscheidender Unterschied zu den Laboruntersuchungen besteht hinsichtlich der Zusammensetzung des Testwassers (vgl. 4.4.2). Einerseits befinden sich entsprechend den jeweiligen Gewässereigenschaften und Witterungsbedingungen im Flusswasser unterschiedliche Schwebstofffrachten, an denen sich hydrophobe Toxine binden und dadurch über die Nahrung von den Testorganismen aufgenommen werden können. Andererseits sind im Flusswasser zahlreiche Substanzen gelöst, die in ihrer Mischung einen toxischen Einfluss auf die Testorganismen auslösen können. Beispielsweise zeigte sich für Lindan eine um das 6-fache höhere Sensitivität, bei Messungen mit Rheinwasser im Vergleich zu Labormessungen mit M4-Medium (SCHWÖRER 2000).

Gerade die Frage nach der Wirkung von Stoffgemischen spielt für die Erkennung an den großen Flüssen, welche durch die Fracht von Einleitern einer Grundbelastung ausgesetzt sind, eine wichtige Rolle. Zur Beschreibung der Toxizität von Stoffgemischen werden zwei Annahmen zugrunde gelegt. Die Konzentrations-Additivität, bei der von einer vergleichbaren Wirkweise der einzelnen Komponenten ausgegangen wird, so dass sich eine Substanz wie die Verdünnung der anderen verhält (LOEWE & MUSCHINEK 1926) und die unabhängige Wirkung,

mit der Annahme, dass sich die Wirkweisen der Stoffe unterscheiden (BLISS 1939). Eine Zuordnung der Wirkung von Stoffgemischen als unähnlich bzw. ähnlich erweist sich in der Praxis oft als schwierig. Vorhersagen nach dem Konzept der Konzentrations-Additivität liefern im Regelfall niedrigere Effekt-Konzentrationen und bergen daher eine geringere Gefahr der Unterschätzung der Mischungstoxizität (GRIMME & al. 2000). Dies rechtfertigt, dass in der Praxis vorrangig mit dem Modell der Konzentrations-Additivität gearbeitet wird. Die Gültigkeit beider Vorhersagemodelle setzt voraus, dass die einzelnen Stoffkomponenten sich in ihrer toxischen Wirkung nicht gegenseitig beeinflussen. Bei einer gegenseitigen Beeinflussung der toxischen Wirkung kommt es entsprechend zu einer Verstärkung (Synergismus) bzw. einer Abschwächung (Antagonismus) der Toxizität, bezogen auf den Vorhersagewert.

Die bisherigen Erkenntnisse über die Wirkung von Stoffgemischen wurden umfassend ausgewertet (GRIMME & al. 1998, ECOTOC 2001), mit dem Resultat, dass die Mehrzahl multipler Stoffgemische zu einer additiven Wirkung führen, wohingegen synergistische und antagonistische Effekte die absolute Ausnahme darstellten. Unter den Ausnahmen finden sich einige Kombinationen von Pestiziden. DENEER (2000) hat die Ergebnisse aus 26 Studien zur Toxizität von Pestizidmischungen in aquatischen Systemen zusammengefasst. Danach lagen 8 der 202 getesteten Mischkomponenten über dem Niveau der Konzentrations-Additivität (Tab. 12).

**Tab. 12:** Synergistische Effekte von Pestizidgemischen auf aquatische Organismen (DENEER 2000).

Stoffgemisch	Testorganismus	Vergleich zu Additivität	Referenz
Pirimicarb + Monocrotophos	<i>Tilapia nilotica</i>	2,7-fach	ABDEL-NASSER (1991)
Quinalphos + Penthoate	<i>Oreochromis mossambicus</i>	10-fach	DURAIRAJ & SELVARAJAN (1995)
Malathion + Dioxathion	<i>Salmo gairdneri</i>	8,2-fach	MARKING & DAWSON (1975)
Carbaryl + Phenthoate	<i>Channa punctatus</i>	2,2-fach	SAMBASIVA et al. (1985)
Deltamethrin + Carbaryl	<i>Lymnaea acuminata</i>	20-fach	TRIPATHI & AGARWAL (1997)
Anilazine + Tri-allate	<i>Chlorella fusca</i>	3,5-fach	FAUST et al. (1994)
Atrazine + Trichlorfon	<i>Chironomus tentans</i>	3,8-fach	PAPE-LINDSTROM & LYDY (1997)
Atrazine + Malathion	<i>Chironomus tentans</i>	2,8-fach	PAPE-LINDSTROM & LYDY (1997)

In Flüssen mit hoher Wasserführung wie Rhein, Elbe oder Donau treten Konzentrationen von Einzelsubstanzen, die im Bereich der für die Primärkonsumenten ermittelten Wirkschwellen liegen, oftmals erst bei Unfällen oder direkten Einleitungen auf. So geschehen beim Brand der Firma Sandoz am 01.11.1986 oder durch Einleitung von Thiodan (Endosulfan) in den Rhein bei Bingen am 20.06.1969. Kleinere Gewässer, die im Verhältnis zu ihrem Wasservolumen eine große Kontaktfläche zum Umland aufweisen sind dahingegen ungleich gefährdeter. Dabei können die Auswirkungen von verheerendem Ausmaß sein, wie dies beispielsweise von ZWICK (1992) für den Breitenbach beschrieben wurde. Der Eintrag von Cypermethrin, mit einer Spitzenbelastung von ca. 91 µg/L führte am 21.05.1986 zur Vergiftung von Millionen Arthropoden, so dass sich der Breitenbach wochenlang als Gewässer mit vorzüglichen Lebensbedingungen aber einer verödeten Biozönose präsentierte (ZWICK 1992).

Von einigen in der vorliegenden Studie untersuchten Wirkstoffen, sind im Freiland bereits Konzentrationen gemessen worden, deren Wirkung mit Hilfe eines kontinuierlichen Biotestverfahrens hätte erkannt werden können. So wurden nach regulärem Einsatz in der Landwirtschaft Carbofuran-Konzentrationen in Entwässerungsgräben von bis zu 264 µg/L festgestellt, die in einem nahe gelegenen Fließgewässer zu einer Spitzenbelastung von 26 µg/L führten (MATTHIESSEN & al. 1995). Mit *G. roeseli* konnten im Driftmesser Effekte ab einer Konzentration von 25 µg/L Carbofuran aufgezeichnet werden. Der Einsatz von Carbaryl in der Landwirtschaft führte in einigen Fließgewässern zu Carbaryl-Konzentrationen von mehreren hundert Mikrogramm (EHC 153 1994). Die Alarmschwelle des bbe-Daphnientoximeter wurde unter Verwendung von *D. magna* bei 25 µg/L Carbaryl überschritten. Die Spitzenbelastungen dauern an kleineren Gewässern nur wenige Stunden, so dass Nachweise durch chemische Überwachungsprogramme kaum möglich sind. Umso bedeutsamer wenn am 16.06.2003 bei monatlichen Kontrollmessungen, Cypermethrin mit einer Konzentration von 0,103 µg/L in der Murr-Mündung nachgewiesen wurde (LfU 2005). Bei *G. roeseli* löste Cypermethrin ab einer Konzentration von 0,025 µg/L eine Zunahme der Drift aus.

Bedenkt man die ökologische Bedeutung, die vielen naturnahen kleinen Fließgewässern zukommt, wäre ihre Überwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren wünschenswert. Es liegt auf der Hand, dass eine dauerhafte flächendeckende Überwachung aus Kostengründen nicht praktikabel ist. Denkbar wäre jedoch eine punktuelle Überwachung in Sinne von Stichproben oder bei Verdachtsmomenten. Die LfU Karlsruhe erwägt zu diesem Zweck die Einrichtung einer mobilen Messstation (MARTEN, persönliche Mitteilung)

#### **4.6 Abschließende Diskussion zur Eignung der drei Testspezies für die Immissionsüberwachung mit kontinuierliche Biotestverfahren**

##### ***D. magna***

Der derzeit am häufigsten in der Immissionsüberwachung Deutscher Fließgewässer eingesetzte Primärkonsument ist *D. magna*. Es war naheliegend bei der Entwicklung der ersten kontinuierlichen Biotestsysteme auf *D. magna* zurückzugreifen, nachdem mit diesem Testorganismus bereits seit der Mitte des letzten Jahrhunderts Erfahrungen in toxikologischen Studien gemacht wurden (NAUMANN 1933, ANDERSON 1944). Bei der Etablierung von *D. magna* als Standardlabororganismus in der Toxikologie, welche mit der Normung von statischen Testverfahren (DIN 38 412, EN ISO 5667-16) und deren gesetzlichen Verankerung (Chemikaliengesetz, Wasserhaushaltsgesetz, Pflanzenschutzgesetz) einherging, spielte sicher die unkomplizierte Zucht der Tiere eine entscheidende Rolle. Insbesondere die, durch die parthenogenetische Vermehrung, hohen Reproduktionsraten und die damit verbundene genetische Vergleichbarkeit der Testorganismen, dürften eine große Bedeutung bei der Wahl von *D. magna* gehabt haben. Für den Betrieb von kontinuierlichen Biotestverfahren ist eine gute und unkomplizierte Verfügbarkeit der Testorganismen (vgl. 4.1) vorauszusetzen, wobei die Reproduktionsrate aufgrund des ungleich geringeren Verbrauchs an Tieren eher von untergeordneter Bedeutung ist. Für den Einsatz im kontinuierlichen Biotestverfahren bedeutet die parthenogenetische Vermehrungsweise von *D. magna*, dass die Tiere vor Erlangen ihrer Geschlechtsreife eingesetzt werden müssen, damit die Individuenzahl nicht zu

groß wird. Mit ansteigender Individuenzahl wird die Zuordnung der Schwimmbahnen zunehmend erschwert. Eine entscheidende Eigenschaft von kontinuierlichen Biotestverfahren ist ihre automatisierte Arbeitsweise, die mit möglichst wenig Wartungsaufwand verbunden sein sollte. Beim Einsatz des bbe-Daphnientoximeter bedarf es einer wöchentlichen Wartung, bei der das Gerät gereinigt und die Testorganismen gegen neue ausgetauscht werden. Bezogen auf die zu vermeidende Reproduktion bedeutet dies, dass zu Beginn der Messung Jungtiere im Alter von ca. 2 Tagen eingesetzt werden, die bei Entnahme am Ende des einwöchigen Wartungszyklus gerade ihre Geschlechtsreife erlangt haben. Legt man die Ergebnisse aus den statischen Tests (vgl. 4.2) mit jungen und 7-8 Tage alten Daphnien zugrunde, so war festzustellen, dass die Sensitivität der älteren Tiere in der Regel geringer war. Es kann somit nicht von einer gleich bleibenden Ansprechempfindlichkeit im bbe-Daphnientoximeter ausgegangen werden. Darüber hinaus zeigten sich im Normalverhalten (vgl. 4.4.1), wachstumsabhängige Veränderungen der Schwimmgeschwindigkeit, die mit einem Anstieg des Grundrauschens einhergingen. Da sich gerade der Parameter Schwimmgeschwindigkeit, im Bezug auf eine empfindliche subletale Erkennung durch die Alarmalgorithmen, als entscheidend erwiesen hat, ist durch die Zunahme des Grundrauschens mit zunehmender Betriebszeit von einer nennenswerten Beeinträchtigung in der Ansprechempfindlichkeit auszugehen.

### *E. vulgaris*

Mit dem Einsatz eines sich ausschließlich getrenntgeschlechtlich vermehrenden Testorganismus wie *E. vulgaris*, der adult in die Messungen eingesetzt werden kann, wären die mit dem Wachstum von *D. magna* verbundenen Schwierigkeiten, hinsichtlich der Kontinuität im Messbetrieb, auszuschließen. Hinsichtlich der Verfügbarkeit der Tiere (vgl. 4.1) bestünden keine Schwierigkeiten, da *E. vulgaris* dauerhaft im Labor gezüchtet werden kann. Die Aufnahme des Schwimmverhaltens (vgl. 4.3.1), mit dem bereits in der Gewässerüberwachung etablierten bbe-Daphnientoximeter, erwies sich als problemlos. Ein für den Einsatz im Messbetrieb entscheidender Aspekt betrifft die Küvetteneinsätze. Die derzeit in der Messstation eingesetzten Küvetteneinsätze (Typ-B, Abb.9) sind, aufgrund von

Verwirbelungen des Probewassers im Messraum, für den Einsatz von *E. vulgaris* ungeeignet und das Vorläufermodell (Typ-A, Abb.9), könnte sich im Messbetrieb mit ungefiltertem schwebstoffreichen Wasser leicht zusetzen. Vor einem Einsatz im Messbetrieb müsste hier noch eine technische Lösung gefunden werden. Im Bezug auf die Sensitivität der Tiere, ergaben die statischen Tests (vgl. 4.2), dass *E. vulgaris* für zwei der fünf untersuchten Modellschwebstoffe empfindlicher ist als *D. magna*. Diese beiden Substanzen (Lindan, Cypermethrin) hatten auch in den kontinuierlichen Tests (vgl. 4.4.2), niedrigere Wirkschwellen bei *E. vulgaris* als bei *D. magna*. Bei den anderen drei Stoffen (Dimethoat, Carbofuran, Carbaryl), bei denen *E. vulgaris* sich mit Abstand unempfindlicher in den statischen Tests zeigte, war die Ansprechempfindlichkeit im bbe-Daphnientoximeter deutlich höher als im statischen Tests, so dass hier in einem Fall (Carbofuran) die Erkennung durch die Alarmalgorithmen mit einer vergleichbaren Sensitivität wie für *D. magna* möglich war. Hintergrund war die hohe Ansprechempfindlichkeit des Parameters Schwimmgeschwindigkeit, was sich mit der unterschiedlichen Fortbewegungsweise der beiden Testspezies erklären lässt (vgl. 4.4.1). Gekoppelt mit einer höheren Kontinuität der Schwimmgeschwindigkeit im Normalverhalten von *E. vulgaris* ließ sich das Stressverhalten klarer abgrenzen, wodurch es von den Alarmalgorithmen empfindlicher erkannt werden konnte. ***Es bleibt festzuhalten, dass hinsichtlich der Kontinuität im Messbetrieb E. vulgaris dem Einsatz von D. magna vorzuziehen wäre, wobei die anhand verschiedener Toxine untersuchte Ansprechempfindlichkeit des bbe-Daphnientoximeters keine Favorisierung einer der beiden Spezies zulässt. Es war vielmehr festzustellen, dass sich die beiden Organismen mit ihrer unterschiedlichen Sensitivität für die eingesetzten Substanzen ergänzen, so dass hier die Frage nach der Notwendigkeit eines Multispeziesystems gestellt werden sollte.***

### ***G. roeseli***

Im Hinblick auf die Messtechnik besteht noch umfassender Entwicklungsbedarf (vgl. 4.3.2). Dennoch konnte bei den Untersuchungen von *G. roeseli* mit dem Driftmesser das Normalverhalten (vgl. 4.4.1) deutlich vom Stressverhalten (vgl. 4.4.3) abgegrenzt werden. Die Driftreaktion war je nach Wirkstoff unterschiedlich stark

ausgeprägt. Bei einigen Substanzen (Lindan & Carbaryl), ging die Erhöhung der Drift augenscheinlich mit der Schädigung der Tiere einher, wohingegen bei anderen Stoffen (Carbofuran & Cypermethrin) von einer aktiven Drift im Sinne einer Fluchtreaktion ausgegangen werden konnte. Im letzteren Fall war eine empfindlichere Detektion mit dem Driftmesser möglich, als mit dem bbe-Daphnientoximeter. *Das Driftverhalten von Gammariden ist ein vielversprechender Verhaltensparameter zur Verbesserung der Ansprechempfindlichkeit in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren.*

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Arbeit war es, neue Primärkonsumenten für den Einsatz in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren zu ermitteln. Kriterien für die Eignung einer Testspezies waren ihre ganzjährige Verfügbarkeit, eine möglichst hohe Sensitivität für Toxine, die Möglichkeit ihr Verhalten automatisiert aufzuzeichnen, eine hohe Kontinuität in ihrem Normalverhalten und ein Stressverhalten, das sich möglichst deutlich vom Normalverhalten absetzt.

Mit dem Ruderfußkrebs *E. vulgaris* und dem Bachflohkrebs *G. roeseli* wurden zwei in kontinuierlichen Biotestverfahren bisher nicht eingesetzte Vertreter der Crustacea auf ihre Eignung untersucht und mit *D. magna* als etabliertem Standardlabororganismus verglichen. Von *E. vulgaris* wurde erstmals eine Laborzucht angelegt. Aufgrund der ganzjährigen Präsenz von *G. roeseli* im Gewässer konnte hier auf Wildfänge zurückgegriffen werden, die über mehrere Monate im Labor gehältert wurden.

Die Sensitivität der drei Testspezies wurde für die Wirkung von fünf Insektiziden (Lindan, Dimethoat, Carbofuran, Carbaryl, Cypermethrin) in statischen und kontinuierlichen Tests untersucht. In den statischen Tests wurde die Immobilisierung der Tiere, angegeben als EC<sub>50</sub>-Werte, ermittelt. Als kontinuierliche Testverfahren kamen der etablierte bbe-Daphnientoximeter für die Messungen mit den Planktonorganismen (*D. magna*, *E. vulgaris*) und ein eigens entwickelter Driftmesser für die Untersuchungen mit *G. roeseli* zum Einsatz.

In den statischen Tests erwies sich *G. roeseli* für zwei Insektizide (Lindan, Carbofuran) als der sensitivste Organismus. Auf eine Substanz reagierten *G. roeseli* und *E. vulgaris* ähnlich hoch sensitiv (Cypermethrin). *D. magna* war für zwei weitere Substanzen (Dimethoat, Carbaryl) am empfindlichsten. Mit einer Ausnahme (Dimethoat) reagierte *D. magna* als Jungtier (< 24h) empfindlicher auf die untersuchten Insektizide als im Alter von 7-8 Tagen.

Bei den kontinuierlichen Tests mit dem bbe-Daphnientoximeter wurde die Giftwirkung durch Veränderungen in fünf Verhaltensparametern und durch Tierverluste festgestellt. Vier der fünf Insektizide wurden erstmals mit dem bbe-Daphnientoximeter auf ihre Wirkung untersucht. Zur Wirkung von Lindan und einigen anderen Stoffen lagen für *D. magna* bereits Kenntnisse vor. In keiner zuvor mit dem bbe-Daphnientoximeter durchgeführten Studie wurde für Wirkstoffe eine ausreichend umfangreiche Datenbasis erhoben, um Dosis-Wirkungs-Beziehung und Reproduzierbarkeit ausführlich darzustellen, wie dies für die fünf hier untersuchten Insektizide geschehen ist.

Subletale Wirkungen schlugen sich am deutlichsten im Parameter Schwimmgeschwindigkeit nieder. Das Normalverhalten von *E. vulgaris* war in der Schwimmgeschwindigkeit konstanter als bei *D. magna*, so dass Toxin bedingte Veränderungen besser von der dynamischen Alarmerkennung erfasst werden konnten. Die Ansprechempfindlichkeit des bbe-Daphnientoximeter war für zwei Stoffe (Dimethoat, Carbaryl) beim Einsatz von *D. magna* am höchsten. Zwei Substanzen (Lindan, Cypermethrin) führten bei *E. vulgaris* in geringeren Konzentrationen zur Wirkung. In einem Fall (Carbofuran) war die Ansprechempfindlichkeit beim Einsatz beider Testspezies vergleichbar.

Aus den Ergebnissen lässt sich für die Praxis ableiten, dass hinsichtlich der Kontinuität im Messbetrieb *E. vulgaris* dem Einsatz von *D. magna* vorzuziehen wäre, wobei die anhand der Insektizide ermittelten Ansprechempfindlichkeiten des bbe-Daphnientoximeter keine Favorisierung einer der beiden Spezies zulässt. Es war vielmehr festzustellen, dass sich die beiden Organismen mit ihrer unterschiedlichen Sensitivität für die eingesetzten Substanzen ergänzten, so dass zu erwägen ist, künftig einen Multispeziesansatz zu fahren.

Die kontinuierlichen Messungen mit *G. roeseli* erfolgten im so benannten Driftmesser, einem für die vorliegende Arbeit gebauten Gerät, das mittels Lichtschrankentechnik die Aufnahme von driftenden Gammariden ermöglicht. Auf zwei Substanzen (Lindan, Carbaryl) reagierte *G. roeseli* mit einer leichten

Driftzunahme. Zwei weitere Stoffe (Carbofuran, Cypermethrin) bewirkten eine starke Driftreaktion von *G. roeseli*. Im Vergleich zum bbe-Daphnientoximeter führte die eine Substanz (Carbofuran) bereits bei einer 3-fach geringeren Konzentration und die andere (Cypermethrin) bei einer 10-80-fach geringeren Konzentration zu einer Alarmierung. Das Driftverhalten von *G. roeseli* erwies sich somit als ein viel versprechender Verhaltensparameter zur Verbesserung der Ansprechempfindlichkeit in der Immissionsüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren.

## 6. LITERATUR

- ABDEL-NASSER, M. (1991): Determination of LC<sub>50</sub> of pirimor and nuvacron on *Tilapia nilotica* fish.— Assiut. Vet. Med. J. 25: 132-139
- ABEL, P.D. (1980a): Toxicity of  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane (Lindane) to *Gammarus pulex*: mortality in relation to concentration and duration of exposure.— Freshwat. Biol. 10: 251-259
- ABEL, P.D. (1980b): A new method for assessing the lethal impact of short- term, high-level discharges of pollutants on aquatic animals.— Prog. Wat. Tech. 13: 347-352
- ACKERBLUM, N. (2004): Agricultural pesticide toxicity organisms – a literature review, Department of Environmental Assessment.— Swedish University of Agricultural Sciences, Rapport 16: 31 pp.
- AGENDA 21 (1992): Konferenz der Vereinten Nationen für Umwelt und Entwicklung im Juni 1992 in Rio de Janeiro / Dokument Teil II. Erhaltung und Bewirtschaftung der Ressourcen für die Entwicklung / Kapitel 18: Schutz der Güte und Menge der Süßwasserressourcen: Anwendung integrierter Ansätze zur Entwicklung Bewirtschaftung und Nutzung der Wasserressourcen.
- ANDERSON, B.G. (1944): The toxicity thresholds of various substances found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*.— Sewage Works Journal, 16 (6): 1156-1165
- AQS-MERKBLATT (2000): zu den Rahmenempfehlungen der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) für die Qualitätssicherung bei Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchungen, P-9/2.— Erich Schmidt Verlag, Berlin
- ARBEISGEMEINSCHAFT FÜR DIE REINHALTUNG DER ELBE (2000): Ausgewählte organische Spurenverunreinigungen in der Elbe und Elbnebenflüssen im Zeitraum 1994-1999.— 120 pp.
- BAEKKEN, T. & AANES, K.J. (1994): Sublethal effects of the insecticide dimethoate on invertebrates in experimental streams.— Norwegian Journal of Agricultural Sciences, Supplement 13: 163-177
- BAILLIEUL, M. & BLUST, R. (1999): Analysis of the swimming velocity of cadmium-stressed *Daphnia magna*.— Aquat. Toxicol. 44: 245-254
- BAUDOUIN, M.F. & SCOPPA, P. (1974): Acute toxicity of various metals to freshwater zooplankton.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 12 (6): 745-751

- bbe-MOLDAENKE, (2002): Handbuch zum bbe-Daphnientoximeter, Version 1.5.0.8 2-Kanal D1; November 2002: 130 pp.
- BECKMANN, M. & HAACK, K.J. (2003): Chemische Schädlingsbekämpfung, Insektizide für die Landwirtschaft.— Chem. Unserer Zeit 37: 88-97
- BESCH, W.K., JUHNKE, I. & KEMBALL, A. (1972): Zur Standardisierung des Fischwarntestes.— Schr. Reihe Ver. Wass.- Boden- Lufthyg. Berlin-Dahlem, H.37, Stuttgart
- BESCH, W.K., KEMBALL, A., MEYER-WAARDEN, K. & SCHARF, B. (1977): A biological monitoring system employing rheotaxis of fish.— Special Technical Publication 607, American Society of Testing and Materials 1916 Race Street, Philadelphia, Pa. 19103: 56-74
- BESCH, W. (1977): Studien zum Gewässerschutz 2, Bioteste in der limnischen Toxikologie.— Landesanstalt für Umweltschutz Baden Württemberg, Institut für Wasser und Abfallwirtschaft: 217 pp.
- BEUSEN, J.M. & NEVEN, B. (1989): Toxicity of dimethoate to *Daphnia magna* and freshwater fish.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42: 126-133
- BEYERLE-PFNUR, R., BURKHARDT, G. & PEITHER, A. (1991): Chronic ecotoxicity of 3,4-dichloraniline to freshwater ecosystems.— Toxicol. Environ. Chem. 31/32: 367-373
- BEYERS, D.W., FARMER, M.S. & SIKOSKI, P.J. (1995): Effects of rangeland aerial application of sevin-4-oil<sup>®</sup> on fish and aquatic invertebrate drift in the little missouri river, north dekota.— Arch. Environ. Contam. Toxicol. 28: 27-34
- BLASIUS, B. J. & MERRITT, R. W. (2002): Field and laboratory investigations on the effects of road salt (NaCl) on stream macroinvertebrate communities.— Environ. Pollut. 120: 219-231
- BLISS, C. (1939): The toxicity of poisons applied jointly.— Ann. Appl. Biol. 26: 585-615
- BLÜHBAUM-GRONAU, E., SPIESER, O.H. & KREBS, F. (1992): Bewertungskriterien für einen Verhaltensfischtest zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung.— Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene 89, Biologische Testverfahren, Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989-1992, Herausgegeben von K.G. Steinhäuser & P.-D. Hansen.— Gustav-Fischer Verlag Stuttgart: 333-348

- BLÜHBAUM-GRONAU, E., HOFFMANN, M., SPIESER, O.H. & KREBS, F. (1994): Der Koblenzer Verhaltensfischtest, ein auf dem Meßsystem BehavioQuant beruhender Biomonitor zur Gewässerüberwachung. — Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene 93, Biomonitoring in der Gewässerüberwachung, Herausgegeben von H.-J. Pluta, J. Knie & R. Leschber.— Gustav-Fischer Verlag Stuttgart: 87-117
- BLUZAT, R. & SEUGE, J. (1979): Effets de trois insecticides (Lindane, Fenthion et Carbaryl): Toxicité Aigue sur Quatre Espèces D'Invertébrés Limniques; Toxicité Chronique Chez le Mollusque Pulmoné Lymnea.— Environ. Pollut. 18: 51-70
- BORCHERDING, J. (1992): Another early warning system for the detection of toxic discharges in the aquatic environment based on valve movements of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*; Limnologie aktuell Vol 4: The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*.— Gustav Fischer Verlag Stuttgart: 127-146
- BORLAKOGLU, J.T. & KICKUTH, R. (1990): Behavioural changes in *Gammarus pulex* and its significance in the toxicity assessment of very low levels of environmental pollutants.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45: 258-265
- BOROWSKY, B. (1991): Patterns of reproduction of some amphipod crustaceans and insights into the nature of their stimuli.— Bauer, R.T. Martin, J.W. Crustacean Sexual Biology, Columbia Univ. Press. New York, Oxford: 31-49
- BRADBURY, S.P. & COATS, J.R. (1989): Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides.— Review of Environmental Contamination and Toxicol. 108: 133-177.
- BRITAIN, J.E. & EIKELAND, T.J. (1988): Invertebrate drift – A review.— Hydrobiologia 166: 77-93
- BROCK, T.C.M., VAN WIJNGAARDEN, R.P.A. & VAN GEEST, G.J. (2000): Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems, Part 2: Insecticides.— Project 020-10074, Alterra-Rapport 089, Grenn World Research, Wageningen: 142 pp.
- BUCHANAN, D.V., MILLEMANN, R.E. & STEWART, N.E. (1970): Effects of the insecticide sevin on various stages of the dungeness crab, *Cancer magister*.— J. Fish. Res. Board Can. 27: 93-104
- CANTON, J.H., GREVE, P.A., SLOOFF, W. & VAN ESCH, G.J. (1975): Toxicity, accumulation and elimination studies of  $\alpha$ -hexachlorocyclohexane ( $\alpha$ -HCH) with freshwater organisms of different trophic levels.— Water Res. 9: 1163-1169

- CASPER, N. (1988): Kritische Betrachtung des „Dynamischen Daphnientests“.— Z. Wasser- Abwasser- Forsch. 21: 152-154
- CHAIYARACH S., RATANANUN, V. & HARREL, R.C. (1975): Acute toxicity of the insecticides toxaphene and carbaryl and the herbicides propanil and molinate to four species of aquatic organisms.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14 (3): 281-284
- COURTEMANCH, D.L. & GIBBS, K.E. (1980): Short- and long- term effects of forest spraying of carbaryl (sevin-4-oil<sup>®</sup>) on stream invertebrates.— Can. Ent. 112: 271-276
- COUTANT, C.C. (1964): Insecticide sevin: Effect of arial spraying on drift of stream insects.— Science 146: 420-421
- CROFT, B.A. (1990): Arthropod biological control agents and pesticides.— John Wiley & Sons, New York: 723 pp.
- CROSSLAND, N.O. (1982): Aquat. Toxicol. of cypermethrin. II. Fate and biological effects in pond experiments.— Aquat. Toxicol. 2: 205-222
- CROSSLAND, N.O., SHIRES, S.W. & BENNETT, D. (1982): Aquat. Toxicol. of cypermethrin. III. Fate and biological effects of spray drift deposits in fresh water adjacent to agricultural land.— Aquat. Toxicol. 2: 253-270
- 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
- CZECZUGA, B. (1959): Oviposition in *Eudiaptomus gracilis* G. O. Sars and *E. graciloides* Lillj. (Diptomidae, Crustacea) in relation to season and trophic level of lakes.— Bull. Acad. Pol. Sci. Cl. II., ser. Sci. boil. 7: 227-230
- DAVIES, P.E. & COOK, L.S.J. (1993): Catastrophic macroinvertebrate drift and sublethal effects on brown trout, *Salmo trutta*, caused by cypermethrin spraying on a Tasmanian stream.— Aquat. Toxicol. 27: 201-224
- DAY, K.E. (1990): Pesticide residues in freshwater and marine zooplankton: A Review.— Environ. Pollut. 67: 205-222
- DE COEN, W.M., VANGHELUWE, M.L. & JANSSEN, C.R. (1998): The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing. III. Rapid toxicity testing of pure chemicals and sediment pore waters using ingestion and digestive enzyme activity.— Chemosphere 37 (13): 2677-2694

- DENEER, J.W. (2000): Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems.— *Pest Management Science* 56 (6): 516-520
- DENT, D. (2000): *Insect pest management*.— CABI Publishing, New York: 410 pp.
- DERMOTT, R.N. & SPENCE, H.J. (1984): Changes in population and drift of stream invertebrates following lampricide treatment.— *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 14: 1695-1701
- DEVENTER, K. (1991): Der Dynamische Daphnientest: Erste Erfahrungen in der Immissions- und Emissionsüberwachung an Gewässern und Einleitungen in Hessen.— *Umweltplanung, Arbeits- und Umweltschutz Heft Nr. 112*, Schriftenreihe der Hessischen Landesanstalt für Umwelt: 33 pp.
- DIN 38 412- L30: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, Testverfahren mit Wasserorganismen. Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen (L30).— Beuth Verlag, Berlin
- DODSON, S.I. & HANAZATO, T. (1995): Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behaviour, and reproduction of *Daphnia*, a key member of aquatic ecosystems.— *Environ. Health Perspect. Suppl.* 103: 7-11
- DODSON, S. & RAMCHARAN, C. (1991): Size-specific swimming behaviour of *Daphnia pulex*.— *J. Plankton Res.* 13 (6): 1367-1379
- DURAIRAJ, S. & SELVARAJAN, V.R. (1995): Synergistic action of organophosphorus pesticides on fish, *Oreochromis mossambicus*.— *J. Environ. Biol.* 16:51-53
- ECKERT, R., RANDALL, D. & AUGUSTINE, G. (1993): *Tierphysiologie*, Übersetzt und bearbeitet von Apfelbach R. — Thieme Verlag Stuttgart: 724 pp.
- ECOTOC (2001): *Aquatic toxicity of mixtures*.— Technical Report No. 80, European centre for ecotoxicology and toxicology of chemicals, Brussel: 57 pp.
- EGGERS, T.O. & MARTENS, A. (2001): Bestimmungsschlüssel der Süßwasser-Amphipoda (Crustacea) Deutschlands.— *Lauterbornia* 42: 1-68
- EGGERS, T.O. & MARTENS A. (2004): Ergänzungen und Korrekturen zum "Bestimmungsschlüssel der Süßwasser-Amphipoda (Crustacea) Deutschlands".— *Lauterbornia* 50: 1-13
- EHC 64 (1986): Carbamate pesticides: A general introduction: International Programme on chemical safety / Environmental Health Criteria 64.— World Health Organization, Geneva, Schweiz: 96 pp.

- EHC 82 (1989): Cypermethrin: International Programme on chemical safety / Environmental Health Criteria 82.— World Health Organization, Geneva, Schweiz: 101 pp.
- EHC 90 (1989): Dimethoate: International Programme on chemical safety / Environmental Health Criteria 90.— World Health Organization, Geneva, Schweiz: 55 pp.
- EHC 124 (1991): Lindane: International Programme on chemical safety / Environmental Health Criteria 124, Bearbeiter: Herbst & Van Esch. — World Health Organization, Geneva, Schweiz: 148 pp.
- EHC 153 (1994): Carbaryl: International Programme on chemical safety / Environmental Health Criteria 153, Bearbeiter: Kaloyanova & Simeonova.— World Health Organization, Geneva, Schweiz: 218 pp.
- EINSLE, U. (1993): Crustacea Copepoda Calanoida und Cyclopoida, in Süßwasserfauna von Mitteleuropa (Schwoerbel J. & Zwick P.).— Gustav Fischer Verlag: 209 pp.
- ELENDT, B.P. (1990): Selenium deficiency in crustacea. An ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Straus. — Protoplasma 154: 25-33
- ELLIOTT, J.M. (1965): Daily fluctuations of drift invertebrates in a Dartmoor stream.—Nature / London 205: 1127-1129
- ELLIOTT, J.M. (1967): Invertebrate drift in a Dartmoor stream.— Arch. Hydrobiol. 63: 202-237
- ELLIOTT, J.M. (2002a): A continuous study of the total drift of freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream in the English Lake District. — Freshwat. Biol. 47: 75-86
- ELLIOTT, J.M. (2002b): Time spent in the drift by downstream-dispersing invertebrates in a Lake District stream.— Freshwat. Biol. 47: 97-103
- ELLIOTT, J.M. (2002c): The drift distances and time spent in the drift by freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream, and their implications for the interpretation of downstream dispersal.— Freshwat. Biol. 47: 1403-1417
- EN ISO 5667-16: Europäische Norm: Deutsche Fassung, Wasserbeschaffenheit, Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren, Stand Oktober 1998.
- 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., BOEDEKER, W. & GRIMME, L.H. (1994): Algal toxicity of binary combinations of pesticides.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 53 134-141
- FEST, C. & SCHMIDT, K.J. (1973): The chemistry of organophosphorus pesticides; reactivity • synthesis • mode of action • toxicology.— SpringerVerlag Berlin: 339 pp.
- FLÖBNER, D. (1972): Krebstiere, Crustacea, Kiemen- und Blattfüßer, Branchipoda Fischläuse, Branchiura, in die Tierwelt Deutschlands, herausgegeben von Dahl.— VEB Gustav Fischer Verlag Jena: 501 pp.
- FOECKLER, F. & SCHRIMPF, E. (1985): Gammarids in streams of northeastern Bavaria, F.R.G. II. The different hydrochemical habitats of *Gammarus fossarum* Koch, 1835 and *Gammarus roeseli* Gervais, 1835.— Arch. Hydrobiol. 104 (2): 269-286
- FORGET, J., PAVILLON, J.F., MENASRIA, M.R. & BOCQUENÉ, G. (1998): Mortality and LC<sub>50</sub> values for several stages of the marine copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) exposed to the metals arsenic and cadmium and the pesticides atrazine, carbofuran, dichlorvos, and malathion.— Ecotoxicol. Environ. Saf. 40: 239-244
- FRIEDRICH, G. (1998): Gewässerbewertung als Aufgabe beim Schutz der Fließgewässer. Deutsche Gesellschaft für Limnologie.— Tagungsbericht 1997 Band 1: 101-117
- GANDRAB, J., BORMANN, G., WILKEN, R.D. (1995): N-/P-pesticides in the Czech and German part of the river Elbe — Analytical methods and trends of pollution.— Fres. J. Anal. Chem. 353: 70-74
- GELLER, W. & MÄCKLE, H. (1976): Über ein automatisches Biosystem zur Wasserüberwachung auf toxische Stoffe.— Vortr. Tag. deutschspr. Limnologen d. IVL 4. – 9. Okt. 1976, Mskr. 10 pp.: zitiert aus Besch 1977b: Studien zum Gewässerschutz 2, Bioteste in der limnischen Toxikologie, Landesanstalt für Umweltschutz Baden Württemberg, Institut für Wasser und Abfallwirtschaft: 217 pp.
- GERHARDT, A., SVENSSON, E., CLOSTERMANN, M. & FRIDLUND, B. (1994): Monitoring of behavioural patterns of aquatic organisms with an impedance conversion technique.— Environ. Int. 20 (2): 209-219
- GERHARDT, A. (1996): Behavioural early warning responses to polluted water, performance of *Gammarus pulex* L. (crustacea) and *Hydropsyche angustipennis* (Curtis) (insecta) to a complex industrial effluent.— Environ. Sci. & Pollut. Res. 3 (2): 63-70

- GERHARDT, A., CARLSSON, A., RESSEMANN, C., STICH, K.P. (1998): A new online biomonitoring system for *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea): in situ test below a copper effluent in South Sweden.— Environ. Sci. Technol. 32 (1): 150-156
- GERHARDT, A., QUINDT, K. (2000): Abwassertoxizität und –überwachung mit dem Bachflohkrebs *Gammarus pulex* (Sexton) (Crustacea: Amphipoda).— Wasser und Boden 52 (10): 19-26
- GERHARDT, V. & PUTZGER, J. (1992): Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins AG „Wirkungstests Rhein“ (WIR), Teilvorhaben 5: „Verzögerte Algenfluoreszenz“: DF-Algentest und Regensburger Leuchtbakterientest.— Abschlußbericht an der Universität Regensburg, Fakultät Physik: 18 pp.
- GERHARDT, V. & PUTZGER, J. (1999): Forschungsbericht Regensburger Leuchtbakterientest, Ein Online-Biotestverfahren zur Überwachung von Oberflächengewässern.— Universität Regensburg, Fakultät für Physik-Institut II: 85 pp.
- GIBBS, K.E., MINGO, T.M. & COURTEMANCH, D.L. (1984): Persistence of carbaryl (sevin-4-oil) in woodland ponds and its effects on pond macroinvertebrates following forest spraying.— Can. Ent. 116: 203-213
- GIRLING, A.E., TATTERSFIELD, L.J., MITCHELL G.C., PEARSON, A.P., WOODBRIDGE A.P. & BENNETT, D. (2000): Development of methods to assess the effects of xenobiotics in outdoor artificial streams.— Ecotoxicol. Environ. Saf. 45: 1-26
- GREEN, D.W.J., WILLIAMS, K.A. & PASCOE, D. (1986): Studies on the acute toxicity of pollutants to freshwater macroinvertebrates 4. Lindane ( $\gamma$ -Hexachlorocyclohexane).— Arch. Hydrobiol. 106 (2): 263-273
- GREEN, U., KREMER, J.H., ZILLMER, M., MOLDAENKE, C. (2003): Detection of chemical threat agents in drinking water by an early warning real-time biomonitor.— Environ. Toxicol. 18 (6): 368-374
- GRESENS, E. (2000): Untersuchungen am Biologischen Frühwarnsystem der Hansestadt Hamburg über die Auswirkungen ausgewählter Schadstoffe der Land- und Teichwirtschaft auf das Schwimmverhalten von *Daphnia magna* und auf die Aktivität von *Chlorella vulgaris*.— Diplomarbeit an der Universität Lüneburg, Institut für Ökologie und Umweltchemie, angefertigt bei der Umweltbehörde Hamburg: 123 pp.

- GRIMME, L.H., ALTENBURGER, R., BACKHAUS, T., BÖDEKER, W. FAUST, M. & SCHOLZE, M. (1998): Vorhersagbarkeit und Beurteilung der aquatischen Toxizität von Stoffgemischen.— UFZ-Berichte 25, Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Sektion Chemische Ökotoxikologie: 319 pp.
- GRIMME, L.H., ALTENBURGER, R., BACKHAUS, T., FAUST, M. BÖDEKER, W. & SCHOLZE, M. (2000): Kombinationswirkungen von Umweltchemikalien in der Ökotoxikologie.— UWSF-Z Umweltchem Ökotox 12 (4): 226-234
- GRUNER, H.E. (2000): Wirbellose Tiere 2. (Crustacea).— In die große farbige Enzyklopädie Urania- Tierreich.— Berlin
- HANAZATO, T. & YASUNO, M. (1987): Effects of a carbamate insecticide, carbaryl, on the summer phyto- and zooplankton communities in ponds.— Environ. Pollut. 48: 145-159
- HANAZATO, T. & YASUNO, M. (1989): Effects of carbaryl on the spring zooplankton communities in ponds.— Environ. Pollut. 56:1-10
- HANAZATO, T. & YASUNO, M. (1990): Influence of persistence period of an insecticide on recovery patterns of a zooplankton community in experimental ponds.— Environ. Pollut. 67: 109-122
- HANAZATO, T. (1999): Anthropogenic chemicals (insecticides) disturb natural organic chemical communication in the plankton community.— Environ. Pollut. 105: 137-142
- HANAZATO, T. (2001): Review: Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective.— Environ. Pollut. 112: 1-10
- HARTMAN, W.A. & MARTIN, D.B. (1985): Effects of four agricultural pesticides on *Daphnia pulex*, *Lemna minor*, and *Potamogeton pectinatus*.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 35: 646-651
- HASSALL, K.A. (1982): The chemistry of pesticides; Their metabolism, mode of action and uses in crop protection.— Verlag chemie, Weinheim: 372 pp.
- HASSAN, A., ZAYED S.M.A.D., & BAHIG M.A.E. (1969): Metabolism of organophosphorus insecticides. XI. Metabolic fate of dimethoate in the rat.— Biochem. Pharmacol. 18: 2429-2438
- HATAKEYAMA S. & SUGAYA Y. (1989): A freshwater shrimp (*Parataya compressa improvisa*) as a sensitive test organism to pesticides.— Environ. Pollut. 59: 325-336

- HEINZE, K. (1932): Fortpflanzung und Brutpflege bei *Gammarus pulex* L. und *Carinogammarus roeselii* Gerv.— Zool. Jb. (physiol) 51: 397-440
- HERBST, B. (1997): Methodische Untersuchungen eines DF-Algentestgerätes zur ökotoxikologischen Gewässerüberwachung.— Diplomarbeit an der Fachhochschule Bingen, Fachbereich Umweltschutz, angefertigt bei der Hessischen Landesanstalt für Umwelt: 107 pp.
- HERBST, H.V. (1951): Ökologische Untersuchungen über die Crustaceenfauna südschleswigscher Kleingewässer mit besonderer Berücksichtigung der Copepoden.— Arch. Hydrobiol. 45: 413-542
- HESSEN, D.O., KÄLLQVIST, T., ABDEL-HAMID, M.I. & BERGE, D. (1994): Effects of pesticides on different zooplankton taxa in mesocosm experiments.— Norwegian Journal of Agricultural Sciences. Supplement 13: 153-161
- HUGHES, D.A. (1970): Some factors affecting drift and upstream movements of *Gammarus pulex*.— Ecology 51: 301-305
- HYNES, H.B.N. (1955): The reproductive cycle of some British freshwater Gammaridae.— Anim. Ecol. 24(2): 352-387
- INDUSTRIEVERBAND AGRAR (2000): Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln, Physikalisch-chemische und toxikologische Daten.— BLV Verlag München: 576 pp.
- JOHNSON, B.T. (1986): Potential impact of selected agricultural chemical contaminants on a northern prairie wetland: a microcosm evaluation.— Environ. Toxicol. Chem. 5: 473-485
- JOHNSON, W.W. & FINLEY, M.T. (1980): Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates.— U. S. Dep. Interior, Fish and Wildlife Serv., Resource Publ. 137: 98 pp.
- KADER, H.A., THAYUMANAVAN, B. & KRISHNASWAMY, S. (1976): The relative toxicities of ten biocides on *Spicodiantomus chelospinus* Rajendran (1973) (copepoda : calanoida).— Comp. Physiol. Ecol. 1 (3): 78-82
- KARIM, A.A., HARIDI, A.A. & EL RAYAH, E.A. (1985): The environmental impact of four insecticides on non-target organisms in the gezira irrigation scheme canals of Sudan. — J. trop. Med. Hyg. 88 (2): 161-168
- KIEFER, F. (1960): Ruderfuss-Krebse (Copepoden), Einführung in die Kleinlebewelt.— Kosmos-Verlag Franckh Stuttgart: 97 pp.
- KLAUS, G. (2003): Insektizidresistenz und ihre Geschichte.— UNI NOVA Wissenschaftsmagazin der Universität Basel 93, Erfindungen: 21-23

- KNIE, J. (1988): Der dynamische Daphnientest – praktische Erfahrungen bei der Gewässerüberwachung.— Gewässerschutz-Wasser-Abwasser 102: 341-356
- KOLACZINSKI, J.H. & CURTIS, C.F. (2004): Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a review of the debate.— Food Chem. Toxicol. 42: 697-706
- LANCASTER, J., HILDREW, A.G. & GJERLOV, C. (1996): Invertebrate drift and longitudinal transport processes in streams.— Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53: 572-582
- LAWA (1996): Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA): Empfehlungen zum Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren für die Gewässerüberwachung, Ausgearbeitet vom LAWA-Arbeitskreis Biomonitoring.— Kulturbuchverlag Berlin: 37 pp.
- LAWRENCE, A.J. & POULTER, C. (1998): Development of a sub-lethal pollution bioassay using the estuarine amphipod *Gammarus duebeni*.— Wat. Res. 32 (3): 569-578
- LAY, J.P., MÜLLER, A., PEICHL, L., LANG, R. & KORTE, F. (1987): Effects of  $\gamma$ -BHC (lindane) on zooplankton under outdoor conditions.— Chemosphere 16 (7): 1527-1538
- LEAHEY, J.P. (1985): The pyrethroid insecticides.— Taylor & Francis, London, Philadelphia: 440 pp.
- LEE, D., PARK, Y., BROWN, T.M. & ADAMS, M.E. (1999): Altered properties of neuronal sodium channels associated with genetic resistance to pyrethroids.— Mol. Pharmacol. 55: 584-593
- LEHMANN, U. (1967): Funktion und Bedeutung der Drift bei *Gammarus pulex fossarum* Koch; Dissertation an der Universität Gießen.— Z. Morph. Ökol. Tiere 60: 227-274
- LEWANDOWSKA, I. (2004): Untersuchungen des Einflusses unterschiedlicher Schadstoffwellenverläufe auf die Sensitivität des bbe-Daphnientoximeters.— Diplomarbeit an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg, angefertigt bei der Umweltbehörde Hamburg: 160 pp.
- LfU (2005): Beschaffenheit der Fließgewässer Baden-Württemberg, Jahresdatenkatalog 1972-2003.— Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg Bd. 93: CD-ROM
- LIESS, M. (1993): Zur Ökotoxikologie der Einträge von landwirtschaftlich genutzten Flächen in Fließgewässern.— Dissertation an der Universität Braunschweig: 133 pp.

- LISS, M. (1995): Insektizid-Belastung landwirtschaftlicher Gewässer: Erfassung und Bewertung.— Tagungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Limnologie (Berlin): 877-881
- LOEWE, S. & MUISCHNEK, H. (1926). Über Kombinationswirkungen I. Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung.— Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. u. Pharmakol. 114: 313-326
- LUCKAS, S. (2002): Prüfung und Beurteilung der Praxistauglichkeit von drei kontinuierlichen Biotestgeräten in der Gewässerüberwachung.— Diplomarbeit an der Fachhochschule Wiesbaden, Fachbereich Umwelttechnik: 246 pp.
- LUCKAS, S. (2003): Kontinuierlichen Biotestverfahren in der Gewässerüberwachung. Ein neues Verfahren zur Beurteilung der Praxistauglichkeit, bbe-Daphnientoximeter • Dynamischer Daphnientest • DF-Algentest.— Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz: 120 pp.
- MAIER, G. (1990): The life history of two copepods with special reference to *Eudiaptomus vulgaris* Schmeil, 1898.— Crustaceana 59 (2): 204-212
- MARKING, L.L. & DAWSON, V.K. (1975): Method for assessment of toxicity or efficacy of mixtures of chemicals.— Investigations in Fish Control 67: 1-7
- MARTEN, M. (1996): Erfahrungen mit dem Routinebetrieb kontinuierlicher Biotest-Verfahren in der Gütemeßstation in Karlsruhe am Rhein.— Deutsche Gesellschaft für Limnologie (DGL), Tagungsbericht der Jahrestagung 1996 in Schwedt/Oder: 660-664
- MARTEN, M. & SCHWÖRER, R. (2000): Stand der Entwicklung kontinuierlicher Biotestverfahren zur Überwachung von Stoßbelastungen in der Bundesrepublik Deutschland aus Sicht des Anwenders im Labor- und Messstationsbetrieb.— Deutsche Gesellschaft für Limnologie (DGL), Tagungsbericht der Jahrestagung 2000 in Magdeburg: 687-691
- MARTEN, M. (2003): Echtzeit-Gewässerüberwachung – Fernsteuerung, Alarmauswertung und Alarmweiterleitung von kontinuierlichen Biotestverfahren im Messstationsbetrieb.— Deutsche Gesellschaft für Limnologie (DGL), Tagungsbericht der Jahrestagung 2003 in Köln: 607-612
- MATTHIAS, U. (1990): Ökologische Bewertung des SANDOZ-Schadenfalles.— Landesanstalt für Umweltschutz, Baden Württemberg, Endbericht: 15 pp.
- MATTHIAS, U. & PUZICHA, H. (1990): Erfahrungen mit dem Dynamischen Daphnientest- Einfluß von Pestiziden auf das Schwimmverhalten von *Daphnia magna* unter Labor- und Praxisbedingungen.— Z. Wasser-Abwasser- Forsch. 23: 193-198

- MATTHIESSEN, P., SHEAHAN, D., HARRISON, R., KIRBY, M., RYCROFT, R., TURNBULL, A., VOLKNER, C. & WILLIAMS, R. (1995): Use of a *Gammarus pulex* bioassay to measure the effects of transient carbofuran runoff from farmland.— *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 30: 111-119
- MAYER, F.L. & ELLERSIECK, M.R. (1986): Manual of acute toxicity: Interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals.— Washington, DC, US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Resource Publication 160: 506 pp.
- MCDONALD, S. (1962): Rapid detection of chlorinated hydrocarbon insecticides in aqueous suspension with *Gammarus lacustris lacustris* (SARS.)<sup>1</sup>.— *Can. J. of Zool.* 40: 719-723
- MEDINA, M., BARATA, C., TELFER, T. & BAIRD, D.J. (2004): Effects of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms.— *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 58 (2): 236-245
- MEIJERING, M.P.D. (1972): Experimentelle Untersuchungen zur Drift und Aufwanderung von Gammariden in Fließgewässern.— *Arch. Hydrobiol.* 70 (2): 133-205
- MEIJERING, M. & TEICHMANN, W. (1978): Zeitpläne limnischer Gammariden unter naturnahen Bedingungen.— *Schlitzer produktionsbiologische Studien (30)-Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, Kiel: 191-199
- MENCONI, M. & GRAY, S. (1992): Hazzard Assessment of the insecticide carbofuran to aquatic organisms in the Sacramento river system.— State of California, The Resources Agency Department of Fish and Game, Environmental Services Division, Administrative Report 92-3: 58 pp.
- MOLDAENKE, C. (1997): Endbericht des Projektes: Weiterentwicklung eines mathematischen Modells zur On- line- Erkennung von signifikanten Meßwertänderungen in dynamischen Biotestverfahren.— Von der Firma bbe-Moldaenke, mit Sitz in Kiel, dem LAWA- AK „Biomonitoring“ vorgelegt.
- MORETTO, A. & JOHNSON, M.K. (1987): Toxicology of organophosphates and carbamates, in *Toxicology of pesticides: Experimental, clinical and regulatory perspectives*. — Edited by Costa, Galli & Murphy, Series H: Cell Biology Vol.13: Springer-Verlag in cooperation with NATO Scientific Affairs Division: 320 pp.
- MÜLLER, K. (1954): Die Drift in fließenden Gewässern. — *Arch. Hydrobiol.* 49: 539-545

- MÜLLER, K. (1963): Diurnal rhythm in 'organic drift' of *Gammarus pulex*.— Nature / London 198: 806-807
- MÜLLER, K. (1966): Zur Periodik von *Gammarus pulex*.— Oikos 17: 207-211
- MULLIN, C.A. (1992): Molecular mechanisms of insecticide resistance, Developed from a symposium sponsored by the Division of Agrochemicals of the American Chemical Society, National Meeting of the American Society, New York, 25 – 30 August 1991.— American Chem. Soc.: 322 pp.
- MUNN, M.D. & GILLIOM, R.J.(2001): Pesticide toxicity index for freshwater aquatic organisms.— U.S. Geological Survey, Water-Resources Investigations Report 01-4077, U.S. Geological Survey Water Resources Division, Sacramento, California: 55 pp.
- MUSKO, I.B. (1987): Effect of pesticides on the ultrastructure of the alimentary canal of two freshwater copepods, crustacea.— Eur. J. Cell Biol. 43 (Suppl.18): 24
- NAUMANN, E. (1933): *Daphnia magna* Straus als Versuchstier.— K. Fysiografiska Sällskapet i Lund, Förhandlingar 3: 15-25
- NAUWERCK, A. (1962): Nicht-algische Ernährung bei *Eudiaptomus gracilis* (SARS).— Arch. Hydrobiol. Suppl. 25: 393-400
- NEUGEBAUER-BÜCHLER, K.E., ZIERIS, F.J. & HUBER, W. (1991): Reaction of an experimental outdoor pond to lindane application.— Z. Wasser- Abwasser-Forsch. 24: 81-82
- NEUMANN, D. & BORCHERDING, J. (1993): Makrozoobenthos-Arten als Bioindikatoren im Rhein, Muschel *Dreissena* als ökologischer Zeiger- und Testorganismus. Teil A, Der *Dreissena*-Monitor – Ein biologisches Frühwarnsystem für die kontinuierliche Gewässerüberwachung.— Universität Köln, Zoologisches Institut Physiologische Ökologie: 93 pp.
- OTTERPOHL, R. (2000): Zwischen Utopie und Realität: Weg von der anthropogenen Gewässerbelastung.— Schriftenreihe Wasserforschung Heft 6: Symposium Chemische Stressfaktoren in aquatischen Systemen: 189-197
- PANTANI, C., PANNUNZIO, G., DE CRISTOFARO, M., NOVELLI, A.A. & SALVATORI, M. (1997): Comparative acute toxicity of some pesticides, metals, and surfactants to *Gammarus italicus* Goedm. and *Echinogammarus tibaldii* Pink. and Stock (Crustacea: Amphipoda).— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 59: 963-967

- PAPE-LINDSTROM, P.A. & LYDY, M.J. (1997): Synergistic toxicity of atrazine and organophosphate insecticides contravenes the response addition mixture model.— *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 2415-2420
- PARLAR, H. & ANGERHÖFER, D. (1991): *Chemische Ökotoxikologie*.— Springer, Berlin: 384 pp.
- PEITHER, A., JÜTTNER, I., KETTRUP, A. & LAY, J.P. (1996): A pond mesocosm study to determine direct and indirect effects of lindane on a natural zooplankton community.— *Environ. Pollut.* 93 (1): 49-56
- PÖCKL, M. (1993): Beiträge zur Ökologie des Bachflohkrebses (*Gammarus fossarum*) und Flussflohkrebses (*Gammarus roeseli*). Entwicklungszyklus und Fortpflanzungskapazität.— *Natur und Museum* 123 (4): 114-125
- PÖCKL, M. (1995): Laboratory studies on growth, feeding, moulting and mortality in the freshwater amphipods *Gammarus fossarum* and *G. roeseli*.— *Arch. Hydrobiol.* 134 (2): 223-253
- PRÉSING, M. & PONYI, J.E. (1986): Studies on the acute and chronic effect of a 2,4-D-containing herbicide (Diknonirt) on *Eudiaptomus gracilis* (G.O. Sars) (crustacea, copepoda).— *Arch. Hydrobiol.* 106 (2): 275-286
- PRÉSING, M. (1989): Data to toxic effect of K-Othrine on crustaceans.— *Arch. Hydrobiol.* 114 (4): 621-629
- RANDALL, W.F., DENNIS, W.H. & WARNER, M.C. (1979): Acute toxicity of dechlorinated DDT, chlordane and lindane to bluegill (*Lepomis macrochirus*) and *Daphnia magna*.— *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 21: 849-854
- RAWASH, I.A., GAABOUB, I.A., EL-GAYAR, F.M. & EL-SHAZLI, A.Y. (1975): Standard curves for nuvacron, malathion, sevin, DDT and kelthane tested against the mosquito *Culex pipiens* L. and the microcrustacean *Daphnia magna* Straus.— *Toxicology* 4: 133-144
- RICHTER, A.K. (1998): Erfahrungen mit kontinuierlichen Biotests in der Praxis, DF-Algentest bbe-Algentoximeter.— Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz: 41 pp.
- RINDERHAGEN, M., RITTERHOFF, J. & ZAUKE, G.P. (2000): Crustaceans as bioindicators.— *Biomonitoring of Polluted Water – Reviews on Actual Topics*, Trans. Tech. Publications – Scitech Publications, Environmental Research Forum 9: 161-194

- RUPARELIA, S.G., VERMA, Y., HARGAN, M.C., VENKAIAH, K. & KULKARNI, P.K. (1995): Toxicity of synthetic pyrethroid (cypermethrin) to chichlid (*Sarotherodon mossambicus*) and daphnid (*Daphnia magna*).— Indian J. Environmental Protection 15 (6): 415-419
- SAMBASIVA RAO K.R.S., PRASADA RAO, K.S., AHAMMAD SAHIB I.K. & RAMANA RAO K.V. (1985): Combined action of Carbaryl and phenthoate on a freshwater fish (*Channa punctatus* Bloch).— Ecotoxicol. Environ. Saf. 10: 209-217
- SANDERS, H.O. (1969): Toxicity of pesticides to crustaceans *Gammarus lacustris*.— Washington DC, US Fish and Wildlife Service, Bureau of Sport, Fish and Wildlife, Technical Paper 25: 18 pp
- SANDERS, H.O. (1972): The toxicities of some insecticides to four species of malacostracan crustacea.— Washington DC, US Fish and Wildlife Service, Bureau of Sport, Fish and Wildlife, Technical Paper 66: 19 pp
- SCHANOWSKI, A. (2005): Entomologische Begleituntersuchungen zur Waldmaikäferbekämpfung im Natura 2000-Gebiet „Hardtwald zwischen Graben und Karlsruhe“.— Abschlussbericht zu einem Werkvertrag im Auftrag der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg Karlsruhe: 25 pp.
- SCHELLENBERG, A. (1942): Krebstiere oder Crustacea IV: Flohkrebse oder Amphipoda in Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile, herausgegeben von Dahl, F.— Gustav Fischer Verlag Jena: 252 pp.
- SCHLINK, R. (1999): Vergleichsuntersuchungen zum praktischen Einsatz von kontinuierlichen Algentestgeräten in der Gewässerüberwachung.— Diplomarbeit, Private Fachhochschule Fresenius Idstein, Angefertigt in der Rheingütestation Worms: 178 pp.
- SCHMIDT, K., STEINBERG, C.E.W., STAAKS, G.B.O. & PFLUGMACHER, S. (2005): Influence of a xenobiotic mixture (PCB and TBT) compared to single substances on swimming behavior or reproduction of *Daphnia magna*.— Acta hydrochim. hydrobiol. 33 (4): 287-300
- SCHNELL, N. (1999): Untersuchungen zum tageszeitlichen Aktivitätsrhythmus der Zebrauschel (*Dreissena polymorpha*) mit dem biologischen Frühwarnsystem „Dreissena-Monitor“.— Schriftliche Hausarbeit im Rahmen der Ersten Staatsprüfung für das Lehramt, Universität Köln, Fachbereich Biologie: 113 pp.
- SCHULZ, R. (1997): Aquatische Ökotoxikologie von Insektiziden, Auswirkungen diffuser Insektizideinträge aus der Landwirtschaft auf Fließgewässer-Lebensgemeinschaften.— ecomed Verlagsgesellschaft Landsberg: 167 pp.

- SCHULZ, R. & LIESS, M. (1999): A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics.— *Aquat. Toxicol.* 46: 155-176
- SCHWEDHELM, E. (1982): Thermopräferenz von *Gammarus fossarum* Koch, 1835 und *Gammarus roeselii* Gervais, 1835 (Crustacea, Amphipoda) in Abhängigkeit von der Jahreszeit.— *Zool. Anz., Jena* 208 5/6: 367-374
- SCHWEDHELM, E. (1984): Morphologische und Ökologisch/Physiologische Untersuchungen an *Gammarus roeselii*-Populationen aus drei verschiedenen Biotopen (Crustacea, Amphipoda).— Dissertation Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn: 191 pp.
- SCHWEIGER (1957): Die toxikologische Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Fische und Fischnährtiere.— *Arch. für Fischereiwiss.* 8: 54-78
- SCHWÖRER, R. (1999a): Kontinuierliche Biotestverfahren in der Gewässerüberwachung, Literaturstudie im Auftrag der Landesanstalt für Umweltschutz Baden- Württemberg.— Angefertigt an der Universität Hohenheim, Institut für Landschafts- und Pflanzenökologie: 38 pp.
- SCHWÖRER, R. (1999b): Erprobung dreier Biotestverfahren zur Gewässerüberwachung unter Laborbedingungen.— Diplomarbeit an der Universität Hohenheim, Institut für Landschafts- und Pflanzenökologie, erstellt an der Landesanstalt für Umweltschutz Baden- Württemberg: 116 pp.
- SCHWÖRER, R. (2000): Abschlussbericht zum Projekt: Biologische Untersuchungen an der Dauerbeobachtungsmessstelle Rheingütestation. – Implementation neuer Biotestgeräte mit Vergleichsuntersuchungen zur Angleichung der Alarmbewertung, Projekt-Nr. 23.1-99-2.— erstellt an der Landesanstalt für Umweltschutz Baden- Württemberg: 58 pp.
- SHIRES, S.W. (1983): The use of small enclosures to assess the toxic effects of Cypermethrin on fish under field conditions.— *Pestic. Sci.* 14: 475-480
- SINGH, H.N. & RAI, L.(1976): Properties of cholinesterase in herbivorous and carnivorous insects and its implication in developing specific insecticides.— *Indian J. Entomol.* 38: 305-312
- SLOOF, W. & CANTON, J.H. (1983): Comparison of the susceptibility of 11 freshwater species to 8 chemical compounds. II. (Semi) chronic toxicity tests.— *Aquat. Toxicol.* 4: 271-282
- SPIEGELONLINE 13.11.2005: Pflanzenschutzmittel, Gift-Anschlag auf Bodensee-Wasserversorgung <http://www.spiegel.de/>: letzter Zugriff 13.11.2005

- SPIESER, O.H., SCHOLZ, W., BLÜHBAUM-GRONAU, E., HOFFMANN, M., GRILLITSCH, B. & VOGL, C. (1994): Das System BeavioQuant zur Bioindikation anhand des Verhaltens von Fischen und von anderen aquatischen Organismen; ECOINFORMA`94, 3. Fachtagung und Ausstellung für Umweltinformation und Umweltkommunikation, Sonderdruck aus Band 5: Umweltmonitoring und Bioindikation.— Herausgegeben von K. Alef, H. Fiedler & O. Hutzinger: 429-448
- STEPHENSON, R.R. (1982): Aquat. Toxicol. of cypermethrin. I acute toxicity to some freshwater fish and invertebrates in laboratory tests.— Aquat. Toxicol. 2: 175-185
- STEPHENSON, R.R. (1983): Effects of water hardness, water temperature, and size of the test organism on the susceptibility of the freshwater shrimp, *Gammarus pulex* (L.), to Toxicants.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 31: 459-466
- STONE, J., SUTHERLAND, I.H., SOMMERVILLE, C.S., RICHARDS, R.H. & VARMA, K.J. (1999): The efficacy of emamectin benzoate as an oral treatment of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer), infestations in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. — J. Fish Dis. 22: 261-270
- SUTCLIFFE, D.W., CARRICK, T.R. & WILLOUGHBY, L.G. (1981): Effects of diet, body size, age and temperature on growth rates in the amphipod *Gammarus pulex*.— Freshwat. Biol. 11: 183-214
- TANG, J.X. & SIEGFRIED B.D. (1995): Comparative uptake of a pyrethroid and organophosphate insecticide by selected aquatic insects.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 55: 130-135
- TAYLOR, E.J., MAUND, S.J. & PASCOE, D. (1991): Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (insecta: diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (crustacea: amphipoda.— Arch. Environ. Contam. Toxicol. 21: 371-376
- TAYLOR, E.J., REES, E.M. & PASCOE, D. (1994): Mortality and a drift-related response of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) exposed to natural sediments, acidification and copper.— Aquat. Toxicol. 29: 83-101
- THURÉN, A. & WOIN, P. (1991): Effects of phthalate esters on the locomotor activity of the freshwater amphipod *Gammarus pulex*.— Bull. Environ. Contam. Toxicol. 46: 159-166
- TRIPATHI, A.M. & AGARWAL, R.A. (1997): Synergism in tertiary mixtures of pesticides.— Chemosphere 35: 2365-2374
- UBA (1995): Berichte, Kontinuierliche Biotestverfahren zu Überwachung des Rheins.— Erich Schmidt Verlag, Berlin: 289 pp.

- UBA (2001): Umweltpolitik- Wasserwirtschaft in Deutschland- Teil 2 Gewässergüte Oberirdischer Binnengewässer: 75 pp.
- UBA (2002): Wasser – Veröffentlichungen, letzte Aktualisierung 12. März 2002 Pestizideinträge in die Oberflächengewässer, [http://www.umweltbundesamt.de/wasser/veroeffentlich/kurzfassungen/03\\_00.htm](http://www.umweltbundesamt.de/wasser/veroeffentlich/kurzfassungen/03_00.htm): letzter Zugriff 29.11.2005
- UMWELT (2003): Internationale Kommission zum Schutz des Rheins: Ergebnisse der 69. Plenarsitzung vom 30. Juni bis 1. Juli 2003 in Bonn.— Umwelt (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit) 9: 505 -506
- U.S. ARMY (1995): Guidelines for chemical warfare agents in military field drinking water.— National Academy Press. U.S.: 49-54
- VAIS, H., WILLIAMSON, M.S., GOODSON, S.J., DEVONSHIRE, A.L., WARMKE, J.W, USHERWOOD, P.N.R. & COHEN, C.J. (2000): Activation of *Drosophila* sodium channels promotes modification by deltamethrin: Reductions in affinity caused by knock-down resistance mutations.— J. Gen. Physiol. 115 (3): 305-318
- VAN DEN BRINK, P.J., HARTGERS, E.M., GYLSTRA, R., BRANSEN, F. & BROCK, C.M. (2001): Effects of a mixture of two insecticides in freshwater microcosms: II. Responses of plankton and ecological risk assessment.— Ecotoxicology 11: 181-197
- VAN WIJNGAARDEN, R.P.A., BROCK, T.C.M. & VAN DEN BRINK, P.J. (2005): Threshold levels for effects of insecticides in freshwater ecosystems: A Review.— Ecotoxicology 14: 355-380
- VOBIS, H. (1971/72): Rheotaktisches Verhalten von *Gammarus pulex*, *Gammarus roeseli* und *Gammarus fossarum* bei verschiedenem Sauerstoffgehalt des Wassers; Bericht über die im Jahre 1971/72 durchgeführten Arbeiten zur Methodik toxikologischer Untersuchungen an Wirbellosen.— Bericht der Landesstelle für Gewässerkunde und wasserwirtschaftliche Planung Baden-Württemberg, Karlsruhe: 32 pp.
- VON DANWITZ, B. (2000): Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren zur Gewässerüberwachung – in: Gewässergütebericht 2000, 30 Jahre Biologische Gewässerüberwachung in Nordrhein –Westfalen.— Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein- Westfalen: 344 pp.
- WAGLER, E. (1957): Weichtiere \* Krebstiere \* Tausendfüßler, in die Tierwelt Mitteleuropas.— herausgegeben von Brohmer, Ehrmann & Ulmer, Verlag von Quelle & Meyer in Leipzig: 223 pp.

- WALLACE, R.R. & HYNES, H.B.N. (1975): The catastrophic drift of stream insects after treatment with methoxychlor (1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-methoxyphenyl) ethane).— *Environ. Pollut.* 8: 255-268
- WANG, S.Y., BARILE, M. & WANG, G.K. (2001): A phenylalanine residue at segment D3-S6 in Nav1.4 voltage-gate Na<sup>+</sup> channels is critical for pyrethroid action.— *Mol. Pharmacol.* 60: 620-628
- WAYLAND, M. & BOAG, D.A. (1990): Toxicity of carbofuran to selected macroinvertebrates in prairie ponds.— *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 45: 74-81
- WAYLAND, M. (1991): Effect of carbofuran on selected macroinvertebrates in a prairie parkland pond: An enclosure approach.— *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 270-280
- WERNERSSON, A.S. & DAVE, G. (1997): Phototoxicity identification by solid phase extraction and photoinduced toxicity to *Daphnia magna*.— *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32: 268-273
- WHO: Data sheet on pesticides no. 56 Carbofuran. — [http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest56\\_e.htm](http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest56_e.htm): letzter Zugriff 25.08.2005
- WILLIS, K.J. & LING, N. (2004): Toxicity of the aquaculture pesticide cypermethrin to planktonic marine copepods.— *Aquacult. Res.* 35: 263-270
- WOGRAM, J. (2001): Auswirkungen der Pflanzenschutzmittelbelastung auf Lebensgemeinschaften in Fließgewässern des Landwirtschaftlich geprägten Raumes.— Dissertation an der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig: 121 pp.
- WONG, C.K. (1996): Response of copepods to hydromechanical stimuli.— *Crustaceana* 69 (7): 853-859
- WOODWARD, D.F. & MAUCK, W.L. (1980): Toxicity of five forest insecticides to cutthroat trout and two species of aquatic invertebrates.— *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 25: 846-853
- WRRRL (2000): Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik.
- ZÁNKAI, N.P. (1994): Feeding of copepodite and adult stages of *Eudiaptomus gracilis* (G.O.Sars, 1863) (copepoda, calanoida) on mixed plastic beads.— *Crustaceana* 66 (1): 90-109

## Literatur

---

ZIMMERMANN, R.D. (1996): Begriffsdefinitionen zur Bioindikation.— UWSF- Z. Umweltchem. Ökotox. 8 (3): 169-171

ZWICK, P. (1992): Fließgewässergefährdung durch Insektizide.— Naturwissenschaften 79: 437-442

Weitere Quellen aus dem Internet:

Pesticide Action Network (PAN) Germany: Überschreitungen der LAWA-Zielvorgaben im Zeitraum von 2000 bis 2002 in Prozent  
[http://www.pestizidreduktion.de/pestizide\\_im\\_wasser/oberflaechengewaesser.htm](http://www.pestizidreduktion.de/pestizide_im_wasser/oberflaechengewaesser.htm):  
letzter Zugriff 29.11.2005

Pesticide Action Network (PAN) North America: Pesticides Database  
<http://www.pesticideinfo.org/Index.html>: letzter Zugriff 29.11.2005

Crustacea . net, an information retrieval system for crustaceans of the world  
<http://www.crustacea.net/crustace/calanoidea/index.htm>: letzter Zugriff 29.11.2005

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Online- Datenbank Pflanzenschutzmittel [http://www.bvl.bund.de/cln\\_027/nn\\_492012/DE/04\\_\\_Pflanzenschutzmittel/02\\_\\_ZugelassenePflanzenschutzmittel/02\\_\\_OnlineDatenbank/onlineDB\\_\\_node.html\\_\\_nnn=true](http://www.bvl.bund.de/cln_027/nn_492012/DE/04__Pflanzenschutzmittel/02__ZugelassenePflanzenschutzmittel/02__OnlineDatenbank/onlineDB__node.html__nnn=true): letzter Zugriff 20.11.2005

Umweltkalender gein, das Portal für Umweltfragen, Umweltinformationen von Bund und Ländern <http://www.gein.de/html/calendar/calKatastrophen.html>: letzter Zugriff 05.12.2005





## 7. DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Dr. Michael Marten, der mir das spannende Gebiet der Gewässerüberwachung mit kontinuierlichen Biotestverfahren nahe brachte. Sein Engagement schuf die Voraussetzungen zur Durchführung der Studie.

Herrn Prof. Dr. Horst Taraschewski danke ich für die Unterstützung der Arbeit und die Übernahme des Referats.

Herrn Prof. Dr. Norbert Leist danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Darüber hinaus gilt mein Dank den Mitarbeitern des Referats 23 der LfU Karlsruhe für das angenehm kollegiale Arbeitsklima. Hervorheben möchte ich Frau Dr. Karin Deventer, deren Diskussionsbereitschaft ich wertvolle Anregungen verdanke und Herrn Lothar Kitt, dessen handwerkliches Geschick und große Erfahrung mit den eingesetzten Geräten eine unverzichtbare Hilfe bei technischen Fragen war. Nicht unerwähnt will ich die Praktikanten Frau Link, Frau Hartig und Herr Klein lassen, die mich im Rahmen ihrer Arbeiten tatkräftig unterstützten.

Die Zusammenarbeit in der Arbeitsgruppe des Zoologischen Instituts I der Universität Karlsruhe (TH) war von großer Hilfsbereitschaft geprägt. Hier gilt mein spezieller Dank den Mitdoktoranden Felix Reitze, Frankie Thielen und Marcel Münderle, sowie Frau Bärbel Seufert Dausmann, die mich bei administrativen Fragen unterstützte.

Herrn Prof. Dr. Gerhard Maier von der Universität Ulm danke ich für die Nachbestimmung von *Eudiaptomus vulgaris*.

Herr Dr. Armin Kureck von der Universität Köln hat mir zuvorkommender Weise Eier der Eintagsfliege *Ephoron virgo* zur Verfügung gestellt.

Für die Durchführung der chemischen Analysen danke ich den Mitarbeitern des Chemielabors der LfU Karlsruhe.



## **LEBENS LAUF**

Christine Werth  
geboren am 24. Mai 1973 in Berlin

### **Schulbildung**

09 / 1979 - 07 / 1983	Moscherosch-Grundschule in Willstätt
09 / 1983 - 07 / 1990	Tulla-Realschule in Kehl, Abschluss mit der Mittleren Reife
09 / 1990 - 08 / 1993	Integriertes berufliches Gymnasium in Lahr, Abschluss mit der Fachgebundenen Hochschulreife

### **Studium**

10 / 1994 - 02 / 2002	Studium der Biologie an der Universität Karlsruhe (TH) Abschluss als Diplom Biologin
seit 06 / 2002	Doktorandin an der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg (LfU)

### **Tätigkeit**

06 / 2002 - 11 / 2005	Wissenschaftliche Angestellte an der Universität Karlsruhe
-----------------------	---------------------------------------------------------------