



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
MÜNCHEN



Wissenschaftszentrum Weihenstephan  
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

Department für Ökologie  
Fachgebiet Ökotoxikologie

Effekte eines Pyrethroids  
auf verschiedene aquatische Ökosysteme  
—  
Ökotoxikologische und genetische Untersuchungen

Stefan Gebauer

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. A. Melzer

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. W. Huber

2. Univ.-Prof. Dr. W. Höll

Die Dissertation wurde am 11.06.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 07.08.2007 angenommen.



## Inhaltsverzeichnis

<b>Abstract</b> .....	6
<b>1 Einleitung</b> .....	9
<b>2 Material und Methoden</b> .....	14
<b>2.1 Modellsysteme</b> .....	14
<b>2.2 Cypermethrin</b> .....	16
<b>2.3 Probenentnahme</b> .....	18
2.3.1 Zooplankton .....	18
2.3.2 Makroinvertebraten .....	19
2.3.3 Physikalisch-Chemische Messungen.....	19
2.3.4 Chlorophyll a und Alkalinität.....	20
2.3.5 Chemische Laboruntersuchungen .....	20
2.3.6 Cypermethrin Rückstandsanalyse.....	21
<b>2.4 Allozym-Elektrophorese</b> .....	21
2.4.1 Probengewinnung und Lagerung .....	21
2.4.2 Gel Präparation .....	21
2.4.3 Elektrophorese .....	23
2.4.4 Enzymassays .....	24
<b>2.5 Berechnungen und Statistik</b> .....	27
2.5.1 Abundanz, Dominanz und Messwerte.....	27
2.5.2 Diversitätsindizes .....	27
2.5.3 Datentransformation.....	29
2.5.4 Principal Response Curves .....	30
2.5.5 Canonical Correspondence Analysis .....	31
2.5.6 Cluster Analysis .....	31
<b>3 Ergebnisse und Diskussion</b> .....	32
<b>3.1 Physikalische und chemische Messwerte</b> .....	32
3.1.1 Temperatur.....	32
3.1.2 Sauerstoff.....	33
3.1.3 pH-Wert.....	34
3.1.4 Leitfähigkeit.....	35
3.1.5 Chlorophyll a .....	36
3.1.6 Alkalinität.....	37
3.1.7 Chemische Parameter .....	38
3.1.8 Messwerte – Statistische Auswertung.....	39

<b>3.2</b>	<b>Zooplankton</b> .....	40
3.2.1	Artenreichtum.....	41
3.2.2	Dominanzen.....	43
3.2.3	Gesamtabundanz.....	46
3.2.4	Rotatoria.....	48
3.2.5	Cladocera.....	50
3.2.6	Ostracoda.....	52
3.2.7	Copepoda.....	52
3.2.8	Diversität.....	56
3.2.9	PRC-Analyse.....	58
3.2.10	Kanonische Korrespondenz Analyse.....	62
<b>3.3</b>	<b>Makroinvertebraten</b> .....	63
3.3.1	Artenreichtum.....	64
3.3.2	Dominanzen.....	65
3.3.3	Gesamtabundanz.....	68
3.3.4	Arachnida, Turbellaria und Bivalvia.....	70
3.3.5	Clitellata.....	72
3.3.6	Gastropoda.....	73
3.3.7	Insecta.....	74
3.3.8	Crustacea.....	80
3.3.9	Diversität.....	82
3.3.10	PRC-Analyse.....	84
3.3.11	Kanonische Korrespondenz Analyse.....	88
<b>3.4</b>	<b>Allozyme</b> .....	89
3.4.1	Glucose-6-Phosphat Isomerase.....	89
3.4.2	Alkalische Phosphatase.....	90
3.4.3	Esterase.....	90
3.4.4	Diversität.....	90
3.4.5	PRC-Analyse.....	93
3.4.6	Cluster-Analyse.....	95
<b>3.5</b>	<b>Cypermethrin-Rückstandsanalyse</b> .....	97
<b>4</b>	<b>Schlussdiskussion</b> .....	99
	<b>Anhang</b> .....	104
	<b>Abkürzungen</b> .....	106
	<b>Abbildungs- und Tabellenverzeichnis</b> .....	107
	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	110
	<b>Danksagung</b> .....	118



## Abstract

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen einer Belastung mit Cypermethrin auf ein aquatisches Modell-Ökosystem untersucht. Die Variablen des Testsystems waren dabei zum einen die unterschiedlichen Belastungsstufen und zum anderen die unterschiedliche Bepflanzung. Dabei wurden drei Wirkstoffkonzentrationen von 0,02 µg/l, 0,4 µg/l und 4 µg/l eingesetzt. Die Bepflanzungssysteme reichten von einfachsten unbepflanzten Sediment-Wasser-Becken bis hin zu verschiedenen bepflanzten Systemen, die mit natürlichen Makrophyten oder künstlichem Bewuchs ausgestattet waren. Es wurden Auswirkungen auf physikalisch-chemische Parameter, Veränderungen in der Struktur von Zooplankton- und Makroinvertebraten-Zönosen, Veränderungen auf molekularer Ebene von *Asellus aquaticus* sowie das Abbauverhalten von Cypermethrin untersucht.

Die Untersuchungen ergaben signifikante Effekte bei der Gesellschaft der Makroinvertebraten. Dabei reagierten *Chaoborus crystallinus* und *Asellus aquaticus* am empfindlichsten durch deutliche Abnahme der Individuenzahl. Bei der Familie der *Naididae* hingegen traten indirekte positive Effekte hervor. *Chaoborus crystallinus* nahm als dominante räuberische Spezies die Schlüsselrolle im System ein.

Durch Topdown-Effekte in der Nahrungspyramide führte dies indirekt zu überwiegend positiven Auswirkungen auf die Zooplankton-Zönose. Andererseits konnten aber auch direkte negative Effekte auf planktische Crustaceen durch die Applikation von Cypermethrin nachgewiesen werden.

Die genetische Diversität von *Glucose-6-Phosphat Isomerase* und *Alkalischer Phosphatase* wurde mittels Allozym-Elektrophorese untersucht und zeigte deutliche Zusammenhänge mit der Belastung sowie mit bestimmten Bepflanzungsgruppen. Funktionelle Parameter ergaben kaum Effekte im Zusammenhang mit der Belastung oder der Bepflanzung. Die verschiedenartige Bepflanzung hatte aber sowohl auf die untersuchten Gesellschaften von Makroinvertebraten und Zooplankton als auch auf die genetische Diversität von *Asellus aquaticus* Auswirkungen. Auch im Zusammenhang mit dem Abbauverhalten von Cypermethrin spielte die Bepflanzung eine entscheidende Rolle. So scheint eine größere natürliche Oberfläche den Abbau von Cypermethrin zu begünstigen. Eine dichtere Bepflanzung wirkte verstärkend auf positive, indirekte Effekte beim Zooplankton.

In the present work the impact of Cypermethrin on aquatic mesocosms was analysed. On one hand the systems varied in different concentrations of the active ingredients and on the other hand in a different planting. The active ingredient concentrations ranged from 0,02 µg/l to 4 µg/l. Concerning the planting, the systems ranged from simple sediment-water-pools to different systems, planted with either natural macrophytes or artificial substrates. The systems have been analysed on physical/chemical parameters, on changes in structural parameters of macroinvertebrates and zooplankton, on changes in molecular diversity (*Asellus aquaticus*) as well as the fate and behaviour of Cypermethrin in the ponds.

The analysis showed significant effects on the community of the macroinvertebrates. Especially *Chaoborus crystallinus* and *Asellus aquaticus* reacted most sensitively and indicated remarkable direct impacts. In contrast the family of *Naididae* reacted indirectly with an increase of abundance. *Chaoborus crystallinus*, which was the top predator in the system, played the key role in the system and was most dominant.

Corresponding to top-down effects in the food chain, this indirectly resulted in a positive outcome for the zooplankton. But the application also showed some direct negative impacts on planktic crustacean species.

Genetic diversity of *Glucose-6-Phosphate Isomerase* and *Alkaline Phosphatase* was analysed by allozyme-electrophoresis. A clear relation to toxic stress and planting structure was indicated. Functional parameters were only slightly affected by toxic treatment or the planting. However, the variety of planting caused effects on the genetic diversity of *Asellus aquaticus* and also on the community structures of macroinvertebrates and zooplankton. In context with Cypermethrin the planting also played an important role. According to this, more natural surface seems to result in a faster disappearance of the active ingredient and an acceleration of the degradation. In addition, a denser planting indirectly intensified the positive effects on zooplankton.





### 1 Einleitung

Täglich kommen wir mit einer Unzahl verschiedener Chemikalien in Berührung, die wir über Hautkontakt, Nahrung oder Atmung meist unbewusst aufnehmen. Gerade im Bereich der Nahrungsmittelgewinnung oder z.B. auch in der Textilienbranche spielen Pestizide eine wichtige Rolle. Der Einsatz dieser Stoffe ist aus unserer industrialisierten Gesellschaft kaum noch wegzudenken. Die Risiken werden in der Öffentlichkeit meist erst durch skandalträchtige Schlagzeilen deutlich, die von Pestizidrückständen in Babynahrung oder von folgenschweren Unfällen berichten. So gelangte beispielsweise bei dem Brand einer Chemikalienlagerhalle bei Basel im Jahr 1986 durch das abfließende pestizidhaltige Löschwasser eine so enorme Menge dieser Chemikalien in den Rhein, dass die schädigende Wirkung noch hunderte Kilometer rheinabwärts zu so schwerwiegenden Folgen wie massenhaftem Fischsterben führte (Fent, 2003). Auch die WHO geht nach aktuellen Schätzungen davon aus, dass weltweit jährlich 3 Millionen unbeabsichtigte Vergiftungsfälle mit Pestiziden zusammenhängen, wovon 28000 tödlich enden (WHO, 2003; Greenpeace, 2007). Dabei sind hauptsächlich Entwicklungsländer betroffen, in welchen die technischen Schutzmöglichkeiten begrenzt sind und kaum Aufklärung über die Gefahren der Substanzen stattfindet. Dennoch nehmen viele dieser Stoffe eine so wichtige Rolle für die Sicherstellung der Nahrungsversorgung ein, dass ein Verzicht auf Pestizide gerade in Großanbauflächen zu unabschätzbaren Ernteaussfällen führen kann. Damit aus dem Einsatz der Pestizide ein sinnvoller Nutzen gezogen werden kann und gleichzeitig eventuelle Risikofaktoren auf ein Minimum reduziert werden, ist es erforderlich die Folgen der Verwendung dieser Chemikalien lückenlos zu erforschen.

Um dieser Forderung gerecht zu werden, gibt es verschiedene rechtliche Grundlagen, die die Handhabung und Gefährlichkeitseinstufung der Chemikalien regeln. In Deutschland ist eines dieser Gesetze das Chemikaliengesetz, welches in seiner ersten Fassung 1980 verabschiedet wurde. Chemikaliengesetze sind aber je nach Land unterschiedlich definiert oder teilweise gar nicht geregelt. Die neue europäische Chemikalienverordnung REACH (Registrierung Evaluierung und Autorisierung von Chemikalien) soll ein Schritt in Richtung internationaler Verordnung sein, welche versucht zumindest europaweit einheitliche Verhältnisse zu schaffen. Dabei sollen alle Bereiche von der Produktion der Chemikalien bis zum Endverbraucher geregelt werden.

So müssen grundsätzlich alle Stoffe erfasst werden, die eine jährliche Produktion von einer Tonne überschreiten. Stoffe, die in einer Menge von über 10 Tonnen pro Jahr produziert werden, sowie neu entwickelte zulassungspflichtige Stoffe unterliegen der Pflicht hinsichtlich gesundheits- und umweltrelevanter Aspekte geprüft zu werden (Umweltbundesamt, 2006). Dies gilt auch für so genannte Altstoffe: Stoffe, die bereits vor Verabschiedung des alten Chemikaliengesetzes auf dem Markt waren und somit laut der ursprünglichen Gesetzgebung keiner toxikologischen Prüfung unterlagen. Neu an der Regelung ist ebenfalls die Umkehr der Beweislast. So waren es bisher meist Behörden, die die Umweltschädlichkeit einer Chemikalie beweisen mussten um ihre Anwendung einzuschränken. Jetzt sind die Produzenten der Wirkstoffe verpflichtet entweder nur umweltverträgliche Stoffe herzustellen oder mit umfangreichen Daten die Unbedenklichkeit der Stoffe nachzuweisen bevor sie auf den Markt kommen.

Neben dem Chemikaliengesetz gibt es seit 1991 Vorschriften, welche die Zulassung von Stoffen regeln, die bei der Herstellung von Pflanzenschutzmitteln eingesetzt werden. Dieser Bereich unterliegt einer besonderen Regelung, da hier eine enge Verbindung zu Nahrungsmitteln besteht und da aufgrund der breiten Anwendung in der Landwirtschaft durch Abdrift der Wirkstoffe häufig auch Nicht-Zielorganismen beeinträchtigt werden. Der Ablauf dieser Zulassungsverfahren ist in der Richtlinie 91/414/EWG (EU, 1991) der Europäischen Union niedergelegt. Toxikologische und ökotoxikologische Untersuchungen spielen darin eine entscheidende Rolle. Die Ökotoxikologie analysiert dabei die Auswirkungen der Chemikalien auf die Umwelt (Fent, 2003). Sie untersucht schädliche Veränderungen auf Strukturen und Funktionen von Ökosystemen, die durch Umweltchemikalien verursacht werden (Nagel, 1990). In dieser Disziplin werden Effekte auf terrestrische, aquatische und marine Ökosysteme bzw. auf einzelne Elemente daraus untersucht. Hinsichtlich der Durchführung aquatischer Studien sind die Richtlinien ebenfalls von der EU festgelegt (EU, 2002). Ziel dieser Untersuchungen ist es ein Gefährdungspotential für bestimmte Chemikalien abzuschätzen. Dieses entscheidet über das weitere Vorgehen: Ist die Gefährdung zu groß, wird der Wirkstoff auf dem Europäischen Markt nicht zugelassen. Ist das Risiko kalkulierbar, so kann der Wirkstoff zugelassen werden und kommt unter eventuellen Sicherheitsauflagen auf den Markt.

Bei ökotoxikologischen Studien kommen verschiedene Untersuchungssysteme zum Einsatz. Als Standard vorgeschrieben sind auf Laborebene durchgeführte, akute und chronische Single-Species Tests. So gehören beispielsweise verschiedene Untersuchungen mit *Daphnia magna* zum Standardrepertoire der aquatischen Ökotoxikologie (Fomin *et al.*, 2003) und werden auch in den Richtlinien zur Chemikaliientestung der OECD vorgeschlagen (OECD, 2000). Diese Standardmethoden haben aber entscheidende Nachteile hinsichtlich der Übertragbarkeit auf die reale Umweltsituation. So werden länger anhaltende Effekte, die indirekte Wirkung der Substanzen auf die Populationen verschiedener Arten oder auch veränderte Um- und Abbauprozesse, die in engem Zusammenhang mit verschiedenen natürlichen Umweltfaktoren stehen, nicht berücksichtigt (Cairns, 1984;

Ernst *et al.*, 1991; Brock, 1998; Hose und Van-den-Brink, 2004; Sanderson *et al.*, 2004). Um eine umweltgerechtere Risikobeurteilung zu ermöglichen, werden häufig komplexere Studien mit Mesokosmen durchgeführt (Shaw und Kennedy, 1996). Mesokosmen stellen künstlich abgegrenzte Ausschnitte aus realen Ökosystemen dar. Diese Modellsysteme repräsentieren natürliche Systeme hinreichend genau und ermöglichen im Vergleich zu Feldstudien eine deutlich bessere Standardisierung. Sie sollten laut den Richtlinien zur aquatischen Ökotoxikologie zur Anwendung kommen, wenn Single-Species Tests einen Effekt anzeigen und dienen dazu das Risiko auf das gesamte aquatische Ökosystem zu beurteilen (EU, 2002). Aussagekräftige Mesokosmen-Studien sind jedoch aufwendig und teuer (Fent, 2003).

Der wesentliche Unterschied zu natürlich vorkommenden Gewässern liegt in der geringeren Größe und (um die Standardisierbarkeit der Versuche zu gewährleisten) einer definierten Ökosystemstruktur. Da in der Natur aber die verschiedensten Gewässertypen vorkommen, können die Aussagen der Mesokosmen-Versuche deshalb nur als Annäherung an die reale Situation gesehen werden. Die ermittelten Daten zur Toxizität ergeben zwar deutliche Richtwerte um das Risikopotential von Wirkstoffen zu beurteilen, würden aber niemals zu 100 % in der Natur reproduzierbar sein.

Ein Teilaspekt der hier vorgelegten Arbeit war deshalb die Untersuchung der Auswirkungen einer Pestizid-Belastung in verschiedenen komplexen Systemen. Dadurch können Faktoren besser eingeschätzt werden, welche die Intensität der Auswirkungen einer Belastung verändern.

Bei den üblichen ökotoxikologischen Higher-Tier Studien werden die Versuche in der Regel nur während einer Vegetationsperiode durchgeführt. Dabei stehen die Auswirkungen auf Gesellschafts- und Populationsebene der Mesokosmen im Mittelpunkt des Interesses (EU, 2002). Als messbarer Parameter wird üblicherweise die Anzahl der Individuen verwendet. Obwohl die Eigenschaften der genetischen Selektion als Ergebnis auf Belastungsversuche bekannt sind (EU, 2002), werden diese Effekte, die zunächst nur auf Molekülebene zu beobachten sind, meistens nicht untersucht. Der intraspezifische Genpool steht aber in engem Zusammenhang mit dem langfristigen Bestand einer Art und mit veränderten Umweltbedingungen (Verspoor, 1983; Wolf *et al.*, 1987; Lopes *et al.*, 2006).

Ein weiterer Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich deshalb mit den Auswirkungen der Belastung auf molekularer Ebene. *Asellus aquaticus* wurde dabei als Testobjekt ausgewählt. Diese Art zeichnet sich durch eine weite Verbreitung, ein ausgedehntes Nahrungsspektrum sowie eine relativ kurze Generationszeit von mindestens zwei bis drei Generationen pro Jahr aus. Außerdem gibt es für die Art eine Vielzahl von Studien, die Zusammenhänge zwischen Umweltfaktoren und der genetischen Diversität zeigen konnten (Verspoor, 1983; Hargeby *et al.*, 2005; Verovnik *et al.*, 2005).

Als Wirkstoff wurde Cypermethrin, ein Pestizid aus der Familie der Pyrethroide verwendet. Schon im 16. Jahrhundert war die insektizide Wirkung des Inhaltsstoffes Pyrethrum aus der Pflanzenfamilie der Chrysanthem (vgl. Abb. 1.1) bekannt (Holler *et al.*, 1996; Fent, 2003).



**Abbildung 1.1:** *Chrysanthemum cinerariaefolium* (aus Köhlers Medicinal Pflanzen (Pabst, 1887))

Abgeleitet von diesen natürlichen Wirkstoffen, wurden synthetisch Verbindungen mit der heute noch verwendeten Bezeichnung Pyrethroid hergestellt. Diese synthetischen Produkte hatten eine höhere Stabilität und Toxizität als die natürlichen Substanzen. Dennoch erwartete man aufgrund des natürlichen Vorbilds von diesen Substanzen eine geringere Umweltgefährlichkeit. Gegenüber Säugetieren und Vögeln haben die Substanzen tatsächlich eine geringere Toxizität. Aquatische Organismen, wie Fische und Invertebraten, reagieren jedoch zum Teil empfindlicher als diejenigen Organismen, gegen die diese Verbindungen ursprünglich eingesetzt werden (Holler *et al.*, 1996).

Pyrethroide sind Fraß- und Kontaktgifte, die gegen saugende und beißende Insekten in Landwirtschaft, Garten- und Waldbau eingesetzt werden (Schettgen, 2000). Auch im privaten Haushalt werden Pyrethroide gegen Wohnrauminsekten oder zur Behandlung von Holz und Textilien verwendet. So gehören Pyrethroide heutzutage zu den am häufigsten angewendeten Pestiziden und hatten 1993 unter den Insektiziden einen Weltmarktanteil von 23 % (Schettgen, 2000; Fent, 2003). Die toxische Wirkung entfalten die Pyrethroide als Nervengifte, indem sie offene Natriumkanäle in der Plasmamembran von Nervenzellen blockieren. Dadurch wird das Schließen der Natriumkanäle verzögert und so die Signalübertragung der Nervenaxone gestört. In Synapsen werden calcium- und magnesiumabhängige ATPasen gehemmt, was dort letztlich zu einer erhöhten Freisetzung von Neurotransmittern führt. Die Dauererregung der Axone, in Kombination mit der Überproduktion an Botenstoffen in den Synapsen, führt zu ausgeprägten neuronalen Schädigungen, wodurch schließlich die gesamte Nervenstruktur zerstört wird (WHO, 1989; Fent, 2003).

Seit 1977 wird Cypermethrin vermarktet. Technisches Cypermethrin besitzt drei Chiralitätszentren, die in acht verschiedenen Isomeren vorliegen können. Das Verhältnis der cis- und trans-Isomere ist meistens 50:50 und liegt als racemisches Gemisch aller acht Isomere vor. Für die toxische Wirkung von Cypermethrin werden hauptsächlich die cis-Isomere verantwortlich gemacht (WHO, 1989). Ein wichtiger Grund für den Erfolg von Cypermethrin sind seine physikalisch-chemischen Eigenschaften: Cypermethrin ist sehr lipophil und hat ein hohes Adsorptionsvermögen. Deshalb bindet Cypermethrin schnell an Sediment und organische Materialien. Aufgrund der relativ kurzen Halbwertszeit und der schnellen Metabolisierung und Eliminierung des Wirkstoffes in Säugern konnte eine Anreicherung in der Nahrungskette bisher nicht gezeigt werden. Abgesehen davon haben verschiedene Feldstudien gezeigt, dass eine vorschriftsmäßige Anwendung in den umliegenden Böden und Wasserkörpern nur zu minimalen Werten an Cypermethrin oder dessen Abbauprodukten geführt hat (WHO, 1989; Fent, 2003).

Um die beschriebenen Faktoren (Komplexität der Ökosysteme; intraspezifische Variabilität) in künftigen Untersuchungen besser beurteilen zu können, sollten in der vorliegenden Arbeit die folgenden Fragen geklärt werden:

*Stehen Auswirkungen einer Pestizid-Belastung in Zusammenhang mit der Makrophytendichte und Makrophytenvariabilität eines künstlichen Ökosystems?*

*Gibt es Auswirkungen einer Cypermethrin-Belastung auf die genetische Diversität von *Asellus aquaticus*?*

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Modellsysteme

Da es bei ökotoxikologischen Versuchen nötig ist die Umwelt bzw. Ausschnitte daraus mit der zu untersuchenden Substanz zu belasten, verwendet man in der Ökotoxikologie streng umgrenzte Areale um eine Abdrift der Substanz zu vermeiden. Je nach Größe und Komplexität dieser Modell-Ökosysteme spricht man von Mikro- bzw. Mesokosmen. Die bei weitem komplexeste Einheit für aquatische Untersuchungen sind die Mesokosmen. Dabei handelt es sich um große Becken, die ihrem Vorbild in der Natur (Seen, Meere oder Fließgewässer) möglichst genau nachempfunden sind. Diese Systeme sind wesentlich naturnaher als Laborsysteme, jedoch der große Aufwand und die relativ schlechte Reproduzierbarkeit sind ein Nachteil (Fent, 2003). Das Versuchsdesign erlaubt es Untersuchungen unter möglichst realistischen Bedingungen durchzuführen, vermeidet dabei aber die Abdrift des untersuchten Wirkstoffes und den Eintrag anderer Substanzen.

Die verwendete Versuchsanlage (siehe Abbildung 2.1) befindet sich auf dem Gelände der Versuchsstation Grünschwaige der Technischen Universität München.



**Abbildung 2.1:** Mesokosmen

Die klimatischen Bedingungen der Grünschwaige sind geprägt durch die offene Strahlungslage der Münchner Schotterebene, sowie durch den moorigen Charakter des Erdinger Moores. Dies hat sowohl große Temperaturschwankungen zwischen Tag und Nacht als auch häufige Nebelbildung zur Folge. Die Temperatur liegt im Jahresmittel bei ca. 8,6 °C, der Jahresniederschlag bei ca. 800 mm. Abgesehen von den Monaten Juli und August kann Frost in Bodennähe auftreten (Werte 1996-2000, Versuchsgut Grünschwaige). Um größere tageszeitliche Temperaturschwankungen innerhalb der Mesokosmen zu vermeiden sind die Becken in den Boden eingelassen und dadurch den natürlichen Gegebenheiten bestmöglich nachempfunden.

Das verwendete Becken wurde 1993 angelegt aber bereits seit mehreren Jahren nicht mehr für ökotoxikologische Studien verwendet und kann daher als unbelastet angesehen werden (Hersteller: Firma MTH-Moderne Wassertechnik GmbH, Gilching). Die Unterteilung des Beckens erfolgte mithilfe von 20 zylinderförmigen Enclosures (Hersteller: Firma Schorb, Moosburg). Technische Details der Mesokosmen sind Tabelle 2.1 zu entnehmen.

	<b>Mesokosmos</b>	<b>Enclosure</b>
<b>Material</b>	0,8mm rostfreier Stahl, mit Polyesterkunststoffbeschichtung (außen) und Schutzlacküberzug (innen); PVC Innenhülle aus UV-stabilisierter, reißfester und kältebeständiger Folie	V2A Edelstahl - Röhre
<b>Vol. Wasserkörper (h=1,10m)</b>	ca. 21,600 l	ca. 700 l
<b>Maße</b>	r = 2,5m; h = 1,5m	r = 0,45m; h = 1,5m

**Tabelle 2.1:** Details der Mesokosmen

Beginn der Versuche war im April 2004. Zunächst wurde das Wasser zur Hälfte abgelassen um anschließend alle Makrophyten zu entfernen. Später wurde der Pond wieder aufgefüllt und durch Einsetzen der Enclosures in 20 Kompartimente unterteilt. Die Enclosures sind an der Basis ca. 5-10 cm tief im Sediment versenkt, dadurch kann ein einzelnes Enclosure als unabhängige Einheit betrachtet werden und ein Austreten chemischer Substanzen verhindert werden. Mithilfe von Wasser-Pflanzkörben wurde eine unterschiedlich komplexe Bepflanzung mit *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton natans*, *Elodea canadensis* sowie einer künstlichen Pflanze (Plantastics Tausendblatt, TETRA) realisiert. In Übereinstimmung mit Hill (Hill, 1994) handelt es sich um Mesokosmen. Die Enclosures wurden entsprechend der Bepflanzung in folgende Gruppen eingeteilt (Tabelle 2.2):

<b>Enclosure</b>	<b>Bepflanzungsgruppe</b>	<b>Myriophyllum</b>	<b>Elodea</b>	<b>Potamogeton</b>	<b>Plastikpflanze</b>
1 - 4	<b>Gruppe 1</b>	x	x	x	-
5 - 8	<b>Gruppe 2</b>	x	x	-	-
9 -12	<b>Gruppe 3</b>	x	-	-	-
13 - 16	<b>Gruppe 4</b>	-	-	-	x
17 - 20	<b>Gruppe 5</b>	-	-	-	-

**Tabelle 2.2:** Bepflanzungssystem

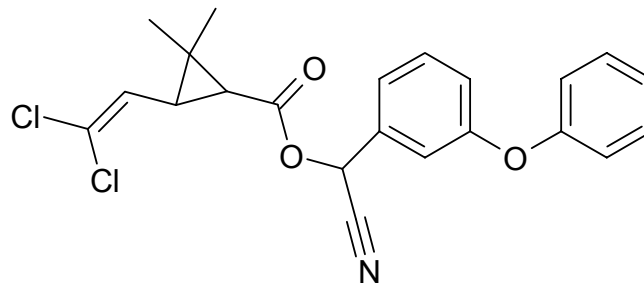
Es wurden nur Pflanzen gleicher Länge (ca. 70 cm) mit jeweils fünf Sprossen pro Art verwendet. Nach dem Einsetzen der Entnahmekörbe (Makroinvertebraten-Beprobung, siehe 2.3) und einer vierwöchigen Etablierungsphase wurde am 13.05.04 mit der Probennahme begonnen. Im Verlauf der Studie wurde diese Bepflanzung regelmäßig überprüft und bei Bedarf auf die ursprünglichen Längenverhältnisse und Pflanzkorblflächen reduziert. Im ersten Versuchsjahr wurden die Enclosures unbelastet und im zweiten Jahr unter Zugabe von Cypermethrin untersucht.

## 2.2 Cypermethrin

Die Mesokosmen wurden mit drei verschiedenen Cypermethrin-Konzentrationen belastet. Bei der verwendeten Substanz handelte es sich um technisches Cypermethrin, das für die Versuche von der Firma Syngenta zur Verfügung gestellt wurde. Details Tabelle 2.3:

### Cypermethrin tech. (CGA55186 tech.)

Strukturformel:



CAS-Nummer:	53215-07-8																
Batch ID:	BATCH CCCYTF458																
CAS-Index-Name:	cyclopropanecarboxylic acid, 3-(2,2-dichloroethyl)-2,2-dimethyl-,cyano(3-phenoxyphenyl)methyl ester																
Strukturformel:	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> N O <sub>3</sub>																
Molekulargewicht:	416,3																
Dichte:	1,03 g/ml																
Chemische Struktur:	Bestätigt und eine Reinheit von 92,7 % gemessen mittels Cap-GC-Analyse (Syngenta)																
Physikalische Struktur:	braun, stark viskose Flüssigkeit																
Lagertemperatur:	< 30°C																
Löslichkeit in Wasser:	4 µg/l																
Adsorptionskoeffizient (K <sub>OC</sub> ):	6,1 · 10 <sup>4</sup> ml/g																
Octanol-Wasser-Koeffizient (K <sub>OW</sub> ):	3,98 · 10 <sup>6</sup>																
Halbwertszeit (Hydrolyse):	Stunden bis Tage																
Toxizität:	<table border="0"> <tr> <td>Ratte (oral, acute):</td> <td>LD<sub>50</sub> 247-309 mg/kg</td> </tr> <tr> <td>Hase (dermal, acute):</td> <td>LD<sub>50</sub> &gt; 2460 mg/kg</td> </tr> <tr> <td>Wildente (oral, acute)</td> <td>LD<sub>50</sub> &gt; 10,000 mg/kg</td> </tr> <tr> <td>Huhn (acute, oral)</td> <td>LD<sub>50</sub> &gt; 2000 mg/kg</td> </tr> <tr> <td>Bachforelle (96 hrs)</td> <td>LC<sub>50</sub> 2.0-2.8 ppb</td> </tr> <tr> <td>Regenbogenforelle (96 hrs)</td> <td>LC<sub>50</sub> 0.82 ppb</td> </tr> <tr> <td><i>Daphnia magna</i></td> <td>LC<sub>50</sub> 0.26 ppb</td> </tr> <tr> <td>Honigbiene</td> <td>LD<sub>50</sub> 0.025 µg/Biene</td> </tr> </table>	Ratte (oral, acute):	LD <sub>50</sub> 247-309 mg/kg	Hase (dermal, acute):	LD <sub>50</sub> > 2460 mg/kg	Wildente (oral, acute)	LD <sub>50</sub> > 10,000 mg/kg	Huhn (acute, oral)	LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg	Bachforelle (96 hrs)	LC <sub>50</sub> 2.0-2.8 ppb	Regenbogenforelle (96 hrs)	LC <sub>50</sub> 0.82 ppb	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> 0.26 ppb	Honigbiene	LD <sub>50</sub> 0.025 µg/Biene
Ratte (oral, acute):	LD <sub>50</sub> 247-309 mg/kg																
Hase (dermal, acute):	LD <sub>50</sub> > 2460 mg/kg																
Wildente (oral, acute)	LD <sub>50</sub> > 10,000 mg/kg																
Huhn (acute, oral)	LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg																
Bachforelle (96 hrs)	LC <sub>50</sub> 2.0-2.8 ppb																
Regenbogenforelle (96 hrs)	LC <sub>50</sub> 0.82 ppb																
<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> 0.26 ppb																
Honigbiene	LD <sub>50</sub> 0.025 µg/Biene																

**Tabelle 2.3:** Cypermethrin; Werte nach Angaben von Syngenta und (Takahashi *et al.*, 1985; Jones, 1995; Funk, 2004; Orme und Kegley, 2004)



## Material und Methoden

Aus der Grundsubstanz wurde mithilfe von Ethanol eine Stammlösung mit einer Konzentration von 1,2 µg/l bereit. Aus dieser Stammlösung wurden die verschieden konzentrierten, wässrigen Applikationslösungen (je 150 ml) hergestellt. Die Endkonzentrationen in den Enclosures waren 0,02 µg/l, 0,4 µg/l und 4 µg/l. Die Kontroll- und Cypermethrin-Lösungen wurden am 30.06.2005 gemäß Giddings (Giddings *et al.*, 2001) und Huber (Huber *et al.*, 1995) gleichmäßig über die Wasseroberfläche der entsprechenden Enclosures verteilt. Die Belastung erfolgte dabei nach folgendem Schema:

Enclosure	Belastungsgruppe	Cypermethrin [µg/l]
1, 7, 10, 14, 17	Control	ohne
3, 8, 9, 13, 19	Level 1	0,02
4, 5, 12, 16, 20	Level 2	0,4
2, 6, 11, 15, 18	Level 3	4

Tabelle 2.4: Belastungsschema

So erhält man pro Bepflanzungsgruppe jede Belastungsstufe einmal. Tabelle 2.5 zeigt die Zuordnung der einzelnen Enclosures (die dabei verwendete Farbgebung ist auch später in der Auswertung zu finden und erleichtert die Zuordnung).

Enclosure	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Pflanz- gruppe	Gruppe 1	Gruppe 1	Gruppe 1	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 2	Gruppe 2	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 3	Gruppe 3	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 4	Gruppe 4	Gruppe 4	Gruppe 5	Gruppe 5	Gruppe 5	Gruppe 5
Belastungs- level	Control	Level 3	Level 1	Level 2	Level 2	Level 3	Control	Level 1	Level 1	Control	Level 3	Level 2	Level 1	Control	Level 3	Level 2	Control	Level 3	Level 1	Level 2

Tabelle 2.5: Zuordnung Enclosure – Bepflanzungsgruppe – Belastungsstufe

### 2.3 Probenentnahme

Beginnend am 13.05.2004 wurde in ein- (Applikationsphase) bis zweiwöchigen Abständen Proben genommen und Beobachtungen durchgeführt. Es wurden Wasserproben, Zooplanktonproben und Asseln zur genetischen Analyse entnommen sowie Makroinvertebraten gezählt und physikalisch Messwerte genommen. Die Wasserproben wurden mit einem am Lehrstuhl entwickelten Entnahmegesetz (siehe Abbildung 2.2) entnommen, welches eine komfortable Entnahme einer kompletten Wassersäule bis zum Sediment ermöglicht. Je nach Folgeuntersuchung wurde das entnommene Wasser auf verschiedene Probeflaschen verteilt. Durch die mehrmalige Entnahme von Wasser an verschiedenen Stellen der einzelnen Enclosures konnte sichergestellt werden, dass auch lokal ausgeprägte Erscheinungen, wie z.B. an Pflanzen assoziierte Zooplanktongruppen, erfasst wurden.

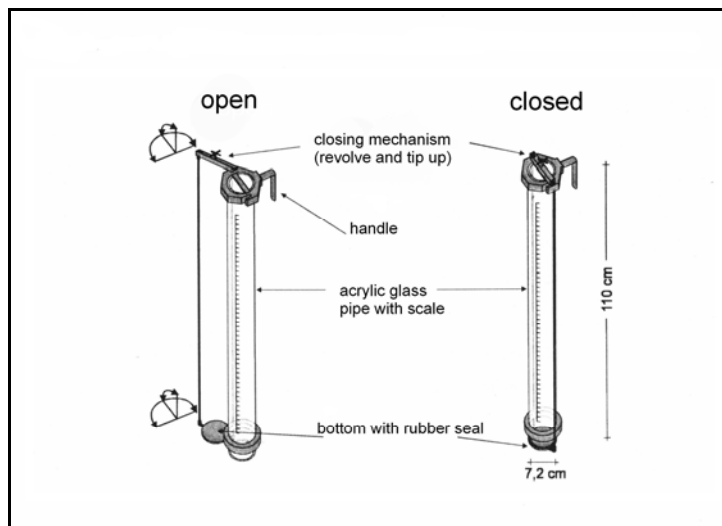


Abbildung 2.2: Wasserproben Entnahmegesetz

#### 2.3.1 Zooplankton

Das entnommene Wasser wurde in einen Eimer überführt und ein definiertes Volumen von 6 Litern über einem Zooplanktonsieb mit 63 µm Maschenweite (Firma Retsch Haan; DIN-ISO 310/1) gefiltert. Das aufgefangene Zooplankton wurde in 50 ml Plastikfläschchen abgefüllt und mit 37%iger Formaldehydlösung fixiert. Die Proben wurden im Labor mit Bengalrosa (Bengalrosa B; Firma Roth) angefärbt und an einem Stereomikroskop (M3; Firma Wild; Hamburg) in einer Zählchale mit Millimeterraster ausgezählt. Es wurde die niedrigste mögliche Taxonomieebene bestimmt. Die Daten wurden nach Individuen pro Liter in eine Datenbank aufgenommen. Zur Bestimmung der Arten wurde folgende Literatur verwendet: Voigt, 1956; Flössner, 1972; Kiefer, 1973; Ruttner-Kolisko, 1974; Herbst, 1976; Voigt und Koste, 1978; Mauch *et al.*, 2003; Streble und Krauter, 2006.

### 2.3.2 Makroinvertebraten

Um Makroinvertebraten lebend zu erfassen wurde ein Kunstsubstrat, wie in Abbildung 2.3 dargestellt, verwendet. Dieses Kunstsubstrat wurde mit einem Planktonnetz (Maschenweite 250  $\mu\text{m}$ ; Firma Hydrobios) mit definierter Netzöffnungsfläche (860  $\text{cm}^2$ ) entnommen. So wurden sowohl die am Substrat assoziierten Organismen als auch die Lebewesen in der Wassersäule darüber erfasst. Der Fang wurde mit Leitungswasser in weiße Fotoschalen gespült, ausgezählt und danach wieder in das Enclosure zurückgesetzt. Die gewonnenen Daten wurden nach Individuen, pro Probennahme, wiederum bis auf eine möglichst niedrige Taxonomieebene erfasst. Die Arten wurden nach folgenden Schlüsseln bestimmt: Engelhardt und Merxmüller, 1989; Brohmer und Schaefer, 1992; Bellmann und Steinbach, 1996; Mauch *et al.*, 2003.

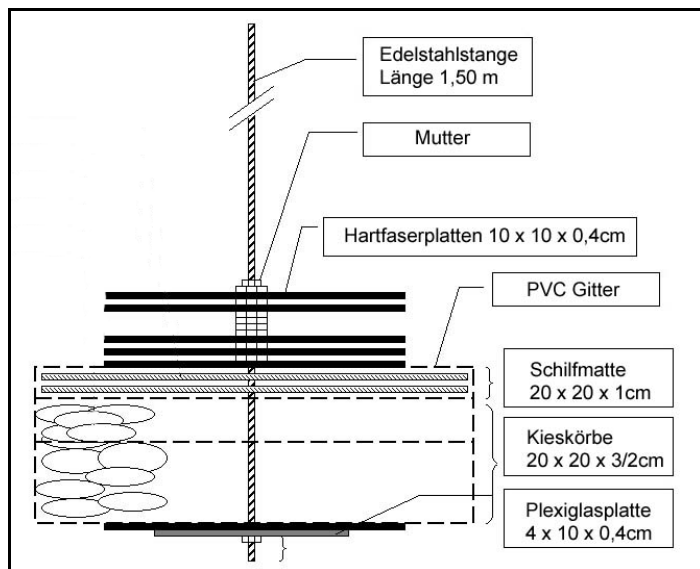


Abbildung 2.3: Kunstsubstrat

### 2.3.3 Physikalisch-Chemische Messungen

Zur Erfassung der physikalisch-chemischen Werte wurden sowohl vor Ort als auch im Labor Messungen durchgeführt.

Mit Kompaktmessgeräten der Firma WTW wurden vor Ort (in 10 cm und 1 m Tiefe) folgende Messungen durchgeführt:

Messwert	Gerät
pH-Wert	WTW pH 330
Sauerstoff	WTW Oxi 3151
Leitfähigkeit	WTW Cond 330i
Temperatur	WTW pH 330

Tabelle 2.6: Messgeräte

Zusätzlich wurde von dem Probenwasser eine Flasche für die Untersuchung von Chlorophyll a und Alkalinität sowie eine Flasche für die chemischen Untersuchungen abgefüllt.

### 2.3.4 Chlorophyll a und Alkalinität

Der Chlorophyllgehalt wurde im Labor mit einem Chlorophyll-Kinetik-Photometer (Dr. V. Gerhardt; Physik Universität Regensburg) bestimmt. Der Messbereich des Gerätes liegt zwischen 0,2 und 1000 µg/L Chlorophyll a. Der Chlorophyll-Gehalt wird dabei durch Detektion der verzögerten Fluoreszenz mittels Photonen-zählung an einem Photomultiplier ermittelt (Gerhardt *et al.*, 2005). Da die verzögerte Fluoreszenz an das Vorhandensein eines intakten Photosyntheseapparates in den Zellen gebunden ist, werden fluoreszierende Fremdstoffe und abgestorbenes Phytoplankton nicht registriert (Tümping, 1999). Um einen möglichst intakten Photosynthese-Apparat zu garantieren wurden die Proben schnellstmöglich (binnen 2-3 Stunden nach der Probennahme) ausgewertet. Das Probenwasser aus der Chlorophyll-Messung wurde danach mittels Titration (Chemikalien siehe Anhang Tabelle A.1) auf seinen  $\text{CO}_3^{2-}$  Gehalt (Alkalinität) untersucht. Dieser Wert kann aufgrund der Pufferfunktion von Carbonat als Maß für die Empfindlichkeit von Gewässern gegenüber Versauerung gesehen werden (für Details siehe Schwoerbel, 1996).

### 2.3.5 Chemische Laboruntersuchungen

Die verbleibenden Wasserproben (je 500ml / Tag und Enclosure) wurden eingefroren (-28 °C) und am Ende der Versuchsperiode gesammelt ausgewertet.

Es wurden folgende Werte ermittelt: Ammonium, Gesamthärte, Nitrat, Silikat, Gelöstphosphat (SRP) und Gesamtphosphat (TP). Die verwendeten Chemikalien sind Tabelle A.1 im Anhang zu entnehmen. Die optische Auswertung der Reaktionslösungen erfolgte an einem Kontron UVIKON-930 UV/VIS-Spektral-photometer. Folgende Tabelle stellt die verwendeten Methoden sowie deren Nachweisgrenzen dar:

<b>Parameter</b>	<b>Methode [Referenz]</b>	<b>Nachweisgrenze</b>
Ammonium-Stickstoff	Kolorimetrisch nach DIN 38 406 / Teil 5	0,01 mg/l
SRP und TP	Kolorimetrisch nach DIN EN ISO 6878	0,001 mg/l
Silikat	Kolorimetrisch Silicat-Test von Aquamerck (Art.:1.08045)	0,01 mg/l
Nitrat-Stickstoff	Bestimmung durch Messung der Absorption im UV-Bereich (210 nm) nach Reduktion zu Nitrit	0,05 mg/l
Gesamthärte	Titration mit Titriplex Lsg. B und Indikatortabletten von Merck (Art.: 108420; 108430)	0,5 °dH

**Tabelle 2.7:** Nachweismethoden

### **2.3.6 Cypermethrin Rückstandsanalyse**

Zur Analyse der Cypermethrin-Rückstände im Freiwasser wurden am 01.07.2005 und am 07.07.2005 je weitere 500ml Probenwasser entnommen. Die Rückstände wurden durch Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektoren (GC-ECD) am Institut für Bioanalytik in Weihenstephan (TUM) analysiert. Das Labor ist GLP-zertifiziert und hat Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025:2000.

### **2.4 Allozym-Elektrophorese**

Die Allozym-Elektrophorese beruht auf dem Prinzip, dass elektrisch geladene Teilchen entsprechend ihrer Ladung und Größe in einem elektrischen Feld soweit wandern, bis sie ihren isoelektrischen Punkt erreicht haben.

#### **2.4.1 Probengewinnung und Lagerung**

Für die Auswertung der genetischen Variabilität wurde als Testorganismus *Asellus aquaticus* herangezogen. Eine Isopoden-Art, die sich durch ihr zahlreiches Vorkommen im Versuchssystem sowie durch relative Sensibilität gegenüber der Versuchssubstanz auszeichnet. Die Asseln wurden an 9 verschiedenen Probetagen aus den Enclosures entnommen. Es wurden jeweils 3 Individuen pro Enclosure gefangen und lebend ins Labor transportiert. Dort wurden die Asseln in Eppendorfcups mit einer geringen Menge Wasser bei -30 °C tief gefroren. So konnten die Proben über einen längeren Zeitraum für die spätere Auswertung konserviert und ein proteolytischer Abbau der untersuchten Enzyme vermieden werden (Richardson *et al.*, 1986).

#### **2.4.2 Gel Präparation**

Die Protein-Trennung erfolgte mittels Elektrophorese in einem horizontalen Stärke-Gel. Als Puffersystem wurde das diskontinuierliche Tris-Citrat / Borat Puffersystem, nach Chippindale verwendet (Chippindale, 1989). Hierbei handelt es sich um eine Weiterentwicklung des Puffersystems von Poulik (Poulik, 1957), wobei in der neuen Version eine höhere Tris-Konzentration verwendet wird. Dieses Puffersystem wurde ursprünglich zur Auflösung der Aspartat-Aminotransferase in Fröschen (*Hyla crucifer*) entwickelt (Chippindale, 1989). Aufgrund der in der vorliegenden Arbeit begrenzten Probenzahl von maximal 3 Asseln pro Probetag und Enclosure war es notwendig ein einheitliches Puffersystem zu finden, mit dem mehrere Enzymassays gleichzeitig durchgeführt werden konnten.

Dieses Tris-Citrat / Borat Puffersystem hat sich in den durchgeführten Versuchen für die angewendeten Enzymassays bewährt (Verspoor, mündliche Mitteilung). Als Vorteil erwies sich die leichtere Handhabung der fertigen Gele. Es zeigte sich während der gesamten Versuche kein Splitting (Auseinanderweichen der Gel-Hälften) am Origin und das Bandenmuster lieferte eine sehr gute Auflösung.

Gel und Elektrodenpuffer wurden nach folgenden Rezepten hergestellt:

Tris-Citrat Gelpuffer pH 9,5 und Gel:

- H<sub>2</sub>O dest 5000 ml
- Tris(hydroxymethyl)aminomethan 90,855 g
- Citric acid monohydrat 38,426 g

Der pH-Wert wurde mit NaOH auf pH 9,5 eingestellt. Die Lösung hat in Bezug auf Tris eine Molarität von 0,15 M und in Bezug auf Zitronensäure eine Molarität von 0,04 M. Die Puffer-Lösung wurde jeweils ca. 1 Woche im Kühlschrank aufbewahrt und zeigte dabei keine pH-Änderung. Die Gele wurden in eigens gefertigte Plexiglasformen gegossen, die seitlich mit Klebeband abgedichtet wurden. Dabei wurde ein 12%iges Stärke-Gel verwendet (96 g hydrolysierte Stärke (Smithies) mit 800 ml Gel-Puffer). Es wurden zunächst ca. 2/3 des Puffers in einer Vakuum-Flasche auf ungefähr 80 °C erhitzt und die Stärke dem restlichen kalten Drittel zugegeben. Die kalte Stärke-Puffermischung wurde schließlich unter Rühren dem heißen Puffer zugegeben und gewartet bis die Gel-Masse kochte und damit zähflüssig wurde. Unter Rühren kochte die Masse für weitere 2 Minuten. Die Gel-Masse wurde durch Anlegen von 30 Sekunden Vakuum mit der Wasserstrahlpumpe entgast. Anschließend wurde das Gel zügig in die vorbereitete Gel-Form gegossen. Nach ca. 1 Stunde Erkalten wurde das Gel mit Lebensmittelfolie abgedeckt und 24 h im Kühlschrank gekühlt.

Borat Elektrodenpuffer pH 8,2:

- Borsäure 92,76 g
- H<sub>2</sub>O dest. 5000 ml

Der Puffer hatte eine Molarität von 0,3 M. Der pH-Wert wurde mit NaOH auf pH 8,2 eingestellt. Der Elektrodenpuffer wurde ebenfalls im Kühlschrank aufbewahrt.

### 2.4.3 Elektrophorese

Nach Abschluss der Gel-Vorbereitungen wurden die eingefrorenen Proben im Wasserbad bei ca. 4 °C aufgetaut. Die Asseln wurden mit einer Pinzette einzeln entnommen, mit einem Mikrofasertuch vorsichtig getrocknet und in frische Eppendorfcups überführt. Jeder Probe wurde ein definiertes Volumen von 20 µl H<sub>2</sub>O dest. beigefügt. Anschließend wurden die Asseln im Ganzen mit einem Mikropistill homogenisiert. Die Eppendorfcups wurden sofort wieder auf Eis gestellt. Danach wurde das Homogenat für 6 Minuten bei 4 °C zentrifugiert (Hettich Rotanta/RP).

Das vorbereitete Gel wurde erst kurz vor dem Laden aus dem Kühlschrank genommen um unnötiges Erwärmen zu verhindern. Mit einem Mikrospatel und einem Lineal wurde der Origin (5cm vom Rand auf der der Kathode zugewandten Seite) geschnitten, wobei die äußersten Ränder nicht getrennt wurden. 20 µl vom Überstand der zentrifugierten Probe wurde mit einer Pipette aufgenommen und auf einen Filter (zugeschnittene Filterstücke 5 x 20 x 0,3 mm aus Whatmann 3MM) aufgebracht. Als Referenz wurde eine Position mit 10 µl Bromphenolblau verwendet. Die mit Enzymextrakt getränkten Filter wurden in den Origin gesteckt. So vorbereitet wurde das Gel in die Gel-Kammer eingesetzt (siehe Abbildung 2.4). Der Kontakt zum Elektroden-Puffer wurde mit Whatmann 3MM Filterpapier hergestellt, das mit Elektrodenpuffer getränkt und mit Plexiglasstäben beschwert wurde. Um das Denaturieren der Enzyme während des Laufes zu verhindern, musste eine möglichst niedrige Kammertemperatur gewährleistet werden. Die besten Resultate wurden mit gekühltem Elektrodenpuffer und Kühlung mit Kühlelementen in einer Kühlbox erzielt. So konnten für den gesamten Lauf konstant niedrige Temperaturen für das ganze System sichergestellt werden.

Die Gele liefen 4,5 Stunden bei 180 V und 50 mA. 25 Minuten nach dem Start wurden die Filter mit einer Pinzette vorsichtig herausgezogen. Die Laufkammer war eine *Desaphor HE 125* (Desaga Heidelberg) und die Powersupply eine *Consort E331*. Spannung und Temperatur wurden im 30 Minuten Rhythmus kontrolliert.



Abbildung 2.4: Elektrophorese-Gel vor dem Lauf

### 2.4.4 Enzymassays

Nach Ende des Laufs wurde das Gel sofort aus dem Apparat entfernt. Das Gel wurde mit Hilfe einer auf einen Bogen gespannten E-Gitarrenseite (hat sich als einziges Material bewährt um den hohen Spannungen zu trotzen, die nötig sind um einen gleichmäßigen Schnitt zu erhalten) und einer Schneideschablone in 2-3 mm dicke Scheiben geschnitten. Diese Gel-Scheiben wurden anschließend vorsichtig in Photoschalen überführt und enzymspezifisch angefärbt. Die Gel-Schnitte wurden, wenn nicht anders vermerkt, bei Dunkelheit und 37 °C inkubiert. Da Enzymassays häufig sehr substratspezifisch färben, mussten die klassischen Färbemethoden an das verwendete Substrat (*Asellus aquaticus*) angepasst werden. Die Schnitte wurden mit folgenden Färbemethoden behandelt:

*Acid Phosphatase (ACP) (EC 3.1.3.2)*: Monomer oder Dimer mit unbekannter Anzahl Loci. Abgewandelte Färbemethoden nach Shaw (Shaw und Prasad, 1970) und Hillis (Hillis *et al.*, 1996).

- Borsäure 0,5 M 100 ml
- PVP 500 mg
- Fast Blue BB 100 mg
- $\alpha$ -Naphthyl-Acid-Phosphat 100 mg
- Acetat Puffer 0,125 M pH 5 100 ml

Zunächst wurde das Gel in 0,5 M Borsäure für 90 Minuten inkubiert. Danach wurde die Borsäure entfernt und alle restlichen Substanzen außer dem Farbstoff zugegeben. Fast Blue BB wurde separat in 10 ml Puffer gelöst. Nach weiteren 30 Minuten wurde auch der Farbstoff zugegeben (Post Coupling). Gefärbt wurde für 4 bis 5 Stunden bei Raumtemperatur (RT).

*Alkalische Phosphatase (ALP) (EC 3.1.3.1)*: Monomer oder Dimer mit unbekannter Anzahl Loci. Abgewandelte Färbemethoden nach Ayala (Ayala *et al.*, 1972) und Hillis (Hillis *et al.*, 1996).

- PVP 500 mg
- Fast Blue BB 100 mg
- $\alpha$ -Naphthyl-Acid-Phosphat 100 mg
- MgCl<sub>2</sub> 60 mg
- MnCl<sub>2</sub> 60 mg
- NaCl 2 g
- TRIS-HCl Puffer 0,05 M; pH 8,6 100 ml

Zunächst wurden alle Substanzen außer dem Farbstoff zugegeben. Fast Blue BB wurde separat in 10 ml Puffer gelöst. Nach 30 Minuten wurde auch der Farbstoff hinzugefügt. Gefärbt wurde bei mind. 30 °C und Licht.



*Esterase (EST) (non specific) (EC 3.1.1.1)*: Monomer oder Dimer mit vielen z.T. unterschiedlichsten Loci. Abgewandelte Färbemethoden nach Ayala (Ayala *et al.*, 1972) und Hillis (Hillis *et al.*, 1996).

- Borsäure 0,5 M 100 ml
- $\alpha$ -Naphthyl Acetat 2% 3 ml
- Fast Blue BB 50 mg
- Phosphat Puffer 0,1 M pH 6,4 100 ml

0,2 g  $\alpha$ -Naphthyl Acetat wurden zunächst in 5 ml Aceton gelöst und mit H<sub>2</sub>O dest. auf 10 ml aufgefüllt. Das Gel wurde dann zunächst in 0,5 M Borsäure 30 Minuten inkubiert. Danach wurde die Borsäure entfernt und die verbleibenden Substanzen zugegeben. Gefärbt wurde bei mind. 30 °C und Licht.

*Leucine Aminopeptidase (LAP) (EC 3.4.11.2)*: Unbekannte Anzahl der Einheiten und Loci. Abgewandelte Färbemethoden nach Ayala (Ayala *et al.*, 1972) und Hillis (Hillis *et al.*, 1996).

- Borsäure 0,5 M 100 ml
- L-Leucyl- $\beta$ -Naphthylamid HCl 70 mg
- Maleic Anhydrid 0,2 M 0,9806 g
- Black K salt 40 mg
- NaOH 0,2 M 60 ml
- H<sub>2</sub>O 40 ml

NaOH 0,2 M Lösung: 8 g NaOH in 1000 ml H<sub>2</sub>O. Zunächst wurde der Gel-Schnitt in 0,5 M Borsäure für 30 Minuten inkubiert. Der pH-Wert der Färbelösung betrug pH 5. Danach wurde die Borsäure entfernt und alle restlichen Substanzen außer dem Farbstoff zugegeben. Black K wurde separat in 10 ml Färbe-Puffer gelöst. Nach 30 Minuten wurde auch der Farbstoff hinzugefügt. Gefärbt wurde bei RT.

*Glucose-6-Phosphat Isomerase (GPI) (EC 5.3.1.9)*: Dimer mit nur einem Locus. Abgewandelte Färbemethoden nach Ayala (Ayala *et al.*, 1972) und Hillis (Hillis *et al.*, 1996).

- Tris-HCl 0,05 M pH 8,0 100 ml
- NAD 20 mg
- Fructose-6-Phosphat Na-salt 40 mg
- Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase 40 Units (8  $\mu$ l)
- MTT 20 mg
- PMS 5 mg

Alle Bestandteile wurden in einer Lösung zugegeben. Die Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase wurde erst unmittelbar vor Beginn der Färbung hinzugefügt. Gefärbt wurde für 1,5 h bei 37 °C.

*Malat Dehydrogenase (MDH) (EC 1.1.1.37)*: Dimer mit zwei Loci (mitochondrial und cytosolisch). Abgewandelte Färbemethoden nach Brewer (Brewer, 1970) und Hillis (Hillis *et al.*, 1996).

- MTT 20 mg
- NAD 25 mg
- Malic Acid 50 mg
- Tris-HCl 0,05 M pH 8,6 100 ml
- PMS 5 mg

Es wurden alle Zutaten außer PMS zugegeben. Nach 1,5h wurde dann auch PMS zugefügt. Die Banden wurden im Dunklen bei 37 °C für 2h entwickelt.

Folgende Puffer und Lösungen wurden als Stammlösungen hergestellt und im Kühlschrank bis zu 5 Tage aufbewahrt:

*TRIS-HCl* 0,05 M pH 8,6:

- TRIS 0,05 M 6,057 g
- H<sub>2</sub>O dest 1000 ml

Mit HCl (37%) auf pH 8,6 eingestellt

*TRIS-HCl* 0,05 M pH 8,0:

- TRIS 0,05 M 6,057 g
- H<sub>2</sub>O dest 1000 ml

Mit HCl (37%) auf pH 8,0 eingestellt

*Acetat Puffer* 0,125 M pH 5,5

- Natriumacetat Trihydrat 17,01 g
- H<sub>2</sub>O dest 1000 ml

pH Korrektur mit NaOH oder HCl

*Phosphat Puffer* 0,1 M pH 6,4

- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,03 M 5,34 g
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,07 M 9,53 g
- H<sub>2</sub>O dest 1000 ml

*Borsäure Lösung* 0,5 M:

- Borsäure 30,915 g
- H<sub>2</sub>O dest 1000 ml

Jeder Lauf wurde dokumentiert sowie das Resultat fotografiert und skizziert. Die gewonnenen Daten wurden in eine Datenbank übernommen.

Details und Bezugsquellen der bei den Versuchen eingesetzten Chemikalien sind den Tabellen A.1 und A.2 im Anhang zu entnehmen.

### **2.5 Berechnungen und Statistik**

Wegen der enormen Datenmenge wurden alle gewonnenen Daten in Datenbanken verwaltet und dann für die Auswertung weiteranalysiert. Die verwendete Computersoftware war: Acces 2003, Excel 2003, Canoco 4.5, PopGen 1.31 und FStat 2.9.3.2. Die Daten wurden sowohl nach deskriptiven wie nach explorativen Gesichtspunkten untersucht. Aufgrund des Versuchsdesigns kommt es bei der Auswertung der Daten zu dem Problem, dass sich unterschiedliche Bepflanzungsgruppen mit unterschiedlichen Belastungsgruppen überschneiden. Um beide Effekte zu berücksichtigen wurden die durchgeführten Auswertungen je einmal mit Gewichtung auf die Bepflanzungseffekte und einmal mit Gewichtung auf die Belastungseffekte durchgeführt. Die Voraussetzung für die separate Darstellung ist, dass in jeder Bepflanzungsgruppe jede Belastungsstufe einmal vertreten ist und umgekehrt in jeder Belastungsstufe jede Bepflanzungsgruppe einmal vorkommt. Zur Verifizierung dieser Ergebnisse wurden die Daten aus 2004 herangezogen, bei welchen nur ein Fokus auf unterschiedliche Pflanzgruppen besteht. Als Maß für die Streuung der Kontrollwerte wurde der Standardfehler verwendet.

#### **2.5.1 Abundanz, Dominanz und Messwerte**

Die einfachste Möglichkeit die gewonnenen Daten darzustellen ist ein Auftragen der Werte gegen die Zeit. Daraus resultieren entweder Abundanzkurven für die Individuenzahl oder Verlaufskurven für die abiotischen Daten und Messwerte. Diese Auswertung wurde bei Zooplankton und Makroinvertebraten für einzelne Arten sowie deren übergeordnete Klassifikationen (Gattung, Familie, Ordnung, Klasse, Stamm) durchgeführt. Außerdem wurden die ermittelten Ergebnisse in Relation zur Gesamtpopulation gestellt und so die Dominanzwerte ermittelt. Diese Berechnungen wurden jeweils einmal nach Pflanzgruppen und einmal nach Belastungsgruppen zusammengefasst.

#### **2.5.2 Diversitätsindizes**

Um Effekte auf die Mannigfaltigkeit von biologischen Messwerten darzustellen wurden die Anzahl der Arten, der Shannon-Index und die Eveness verwendet.

Die Berechnung der **Artenzahl** stellt die einfachste Berechnung dar. Bei diesem Wert wird nur die Anzahl der vorkommenden Arten pro Enclosure und Probetag verglichen. Nicht berücksichtigt werden Unterschiede in der Abundanz der einzelnen Arten.

Diese Werte werden beim **Shannon-Index** miteinbezogen. Eine Spezies, die häufiger gefunden wird, fällt bei dieser Art der Berechnung stärker ins Gewicht als eine Spezies, die beispielsweise nur als Einzelfund auftritt. Der Berechnung zugrundeliegend ist die Shannon-Weaver-Formel (Mühlenberg, 1976):

$$(1) \quad H_S = -\sum_{i=1}^S p_i \cdot \log p_i$$

$H_S$  = Shannons Diversitäts Index bezüglich der Artenzahl

$S$  = Gesamtzahl der Arten

$p_i$  = Wahrscheinlichkeit des Auftretens der Art  $i$ ; gemessen nach der relativen Häufigkeit der  $i$ -ten Art mit:

$$p_i = \frac{n_i}{N}; \quad \sum_{i=1}^S p_i = 1$$

$n_i$  = Anzahl der Individuen der  $i$ -ten Art

$N$  = Anzahl der Gesamtindividuen

Der Shannon-Index gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der eine bestimmte Art bei zufälligem Herausgreifen aus der Grundgesamtheit angetroffen wird. Je höher der berechnete Wert  $H_S$ , desto höher die Ungewissheit eine bestimmte Art  $i$  aus der Grundgesamtheit herauszugreifen. Somit ist  $H_S$  bei nur einer Art gleich 0.

$$S = 1 \rightarrow p_1 = 1 \rightarrow H_S = 0$$

Eine maximale Diversität  $H_S$  wird dann erreicht, wenn in einem System  $S$  Arten jeweils im gleichen quantitativen Verhältnis vorkommen.

$$p_i = \frac{x}{S} \rightarrow H_S = H_{\max} = -\sum \frac{x}{S} \log \frac{x}{S} = \log S$$

In einem solchen Fall entspricht  $H_S$  dem Logarithmus der Artenzahl.

Für die Berechnungen wurde der Logarithmus zur Basis  $e$  verwendet ( $\ln$ ).

Diese Berechnung berücksichtigt allerdings nicht, ob die ermittelte Diversität aus einer hohen Artenzahl mit jeweils unterschiedlicher Individuenzahl oder aus der gleichmäßigen Verteilung der Individuen auf wenige Arten resultiert.

Um diese Effekte zu verdeutlichen wird die **Eveness** herangezogen. Dabei wird der  $H_S$ -Wert in Relation zum maximalen  $H_S$ -Wert gesetzt, der sich bei gleicher Artenzahl, aber unter größtmöglicher Gleichverteilung der Individuen ergeben würde (Mühlenberg, 1976).

$$(2) \quad E = \frac{H_S}{H_{\max}} = \frac{H_S}{\log S}$$

Die Eveness kann Werte zwischen 0 und 1 erreichen. Maximale Gleichverteilung ist dann erreicht, wenn  $H_S$  und  $H_{\max}$  identisch sind, d.h. wenn jede Art gleich häufig vertreten ist. Shannon's Index und Eveness wurden mittels Excel berechnet und für die Analyse von Zooplankton- und Makroinvertebraten-Abundanz verwendet.

Für die Analyse der genetischen Diversität wurde **Nei's „unbiased estimator“** verwendet. Die Berechnung geht von folgender Gleichung aus (Nei, 1987):

$$(3) \quad H_{Sk} = \frac{n_k}{n_k - 1} \left( 1 - \sum p_{ik}^2 - H_{ok} / 2n_k \right)$$

$H_{Sk}$ =	Nei's unbiased estimator pro Locus und Probe
$n_k$ =	Stichprobenumfang von k Proben
$p_{ik}$ =	Häufigkeit von Allel $A_i$ in Probe k
$H_{ok}$ =	Anteil von Heterozygoten in der untersuchten Probe k

Zur Berechnung von Nei's Diversität Index wurde die Software FStat 2.9.3 verwendet (Goudet, 2001).

### 2.5.3 Datentransformation

Für die weitergehende multivariate Analyse wurden die Datensätze transformiert. Dabei wurde folgende Formel angewendet (Ter Braak und Šmilauer, 2002):

$$(7) \quad Y' = \log(A \cdot Y + 1)$$

$Y'$ =	neuer log-transformierter Wert
$A$ =	Faktor, um den der ursprüngliche Datensatz erhöht wird
$Y$ =	ursprünglicher Wert

Mithilfe dieser Transformation werden linear verteilte Daten einer Normalverteilung angenähert und somit für multivariate Auswertungen angepasst. Erneut wurde der Logarithmus zur Basis  $e$  verwendet. Um niedrige Werte besser von Null

unterscheiden zu können wurden dabei die Daten so umgewandelt, dass der Datensatz um 2 Zähler erhöht wird (Van den Brink *et al.*, 2000).

$$(8) \quad A \cdot Y_{\min} = 2$$

$Y_{\min}$  = kleinster Wert des Datensatzes

Entsprechend dieser Berechnung wurde der Zooplankton-Datensatz mit dem Faktor  $A = 7,5$  und die Datensätze von Makroinvertebraten und Allozymen mit dem Faktor  $A = 2$  in der Transformation verrechnet.

### 2.5.4 *Principal Response Curves*

Die Principal Response Curve Analyse (PRC) ist eine, speziell für ökotoxikologische Untersuchungen entwickelte, Abwandlung der Redundanzanalyse. Die PRC verwendet die Zeit als Covariable und die Interaktion zwischen Zeit und Belastung als Umweltvariable. Dabei wird von einem linearen Zusammenhang der Variablen ausgegangen. Die Auswertung wurde mithilfe der Software Canoco 4.5 durchgeführt. Für Details zur Berechnung siehe Van den Brink 1998 (Van den Brink und Ter-Braak, 1998).

Als Ergebnis erhält man die so genannten „ $C_{dt}$ -scores“, die entlang einer Zeitachse  $x$  für jede Belastungsstufe aufgetragen werden. Die gesamten  $C_{dt}$ -Werte sind gegen die Kontrollen verrechnet. Somit werden die Kontrollen von der  $x$ -Achse und zeitabhängige Behandlungseffekte als Abweichungen davon dargestellt.

Um die Einflüsse einzelner Arten auf diese Kurve zu ermitteln wurden die „Species-Scores“ herangezogen. Die Species-Scores dienen als Gewichtung der PRC in Bezug auf die einzelne Art. Negative Werte bedeuten, dass die Abundanz invers zu der abgebildeten PRC verläuft und positive Werte bedeuten, dass sich der Verlauf entsprechend der Kurve verhält. Je höher dieser Absolutwert der Species-Scores, desto besser wird diese Art von der PRC repräsentiert. Dabei sollte der Absolutwert der Species-Scores mindestens bei 0,5 liegen um aussagekräftig für das untersuchte System zu sein (Grünwald, 2003). Die Methode ist sehr gut geeignet um auch Versuche mit weniger Wiederholungen aussagekräftig auszuwerten (Dawo, 2005). Sie wird nach den Richtlinien der EU als Methode zur Bewertung ökotoxikologischer Studien empfohlen (EU, 2002). Um die Signifikanz der ermittelten Kurven zu prüfen wurden Monte Carlo Tests mit jeweils 499 Permutationen durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

### **2.5.5 Canonical Correspondence Analysis**

Um direkte Zusammenhänge von Umweltvariablen (Bepflanzungsgruppen) und physikalisch-chemischen Parametern mit der Abundanz von Zooplankton und Makroinvertebraten herzustellen wurde eine Kanonische Korrespondenz Analyse (CCA) durchgeführt. Bei der CCA wird im Unterschied zur PRC kein linearer Zusammenhang der Variablen vorausgesetzt (Ter Braak, 1987). Veränderungen in der Struktur der Spezies Daten können mit verschiedenen Faktoren in Verbindung gebracht werden. Zunächst wurde mittels Monte Carlo Test geprüft, welche Faktoren einen signifikanten Einfluss auf den untersuchten Datensatz haben (Signifikanzniveau  $p < 0,05$ ; 499 Permutationen). Die signifikanten Faktoren wurden dann zur CCA herangezogen und mittels Jointplots dargestellt. Zur Berechnung der CCA wurde die Software Canoco 4.5 verwendet. Für Details zur Berechnung und Interpretation der Daten siehe Ter Braak 1987.

### **2.5.6 Cluster Analysis**

Die Clusteranalyse wurde verwendet um qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung der genetischen Diversität zu erkennen. Die durchgeführte Clusteranalyse basiert auf Nei's Berechnungen der genetischen Entfernung. Details zur Berechnung sind Nei 1972 (Nei's Original Measures of Genetic Identity and Genetic distance) und Nei 1978 (Nei's Unbiased Measures of Genetic Identity and Genetic distance) zu entnehmen. Für die Berechnung der genetischen Distanz wurde die Software PopGen 1.31 verwendet (YEH und BOYLE, 1997). Die Ergebnisse der Analyse wurden mit Hilfe der Software StatistiXL 1.6 als Dendrogramme dargestellt. Als Parameter zur Bildung der Gruppen wurde die „group-average“ (UPGMA) Methode verwendet (Nei, 1978).

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Physikalische und chemische Messwerte

Die physikalischen und chemischen Werte zeigten über den gesamten Zeitraum nur geringe bzw. keine eindeutig von der Belastung oder der Bepflanzung abhängigen Ergebnisse. Im Folgenden sind zur Veranschaulichung nur ausgewählte Daten dargestellt.

##### 3.1.1 Temperatur

Die Temperatur verlief in den Kontrollen und den behandelten Enclosures während des gesamten Versuchszeitraumes nahezu parallel. Auch konnten keine bepflanzungsbedingten Änderungen festgestellt werden. Der Kurvenverlauf spiegelt einen normalen jahreszeitlichen Verlauf wieder. Die Durchschnittstemperatur in der oberen Wasserschicht lag bei 16,4 °C (2004) bzw. 15,6 °C (2005). In Abbildung 3.1 ist beispielhaft der Temperaturverlauf für die 5 Bepflanzungsgruppen im Jahr 2005 gezeigt.

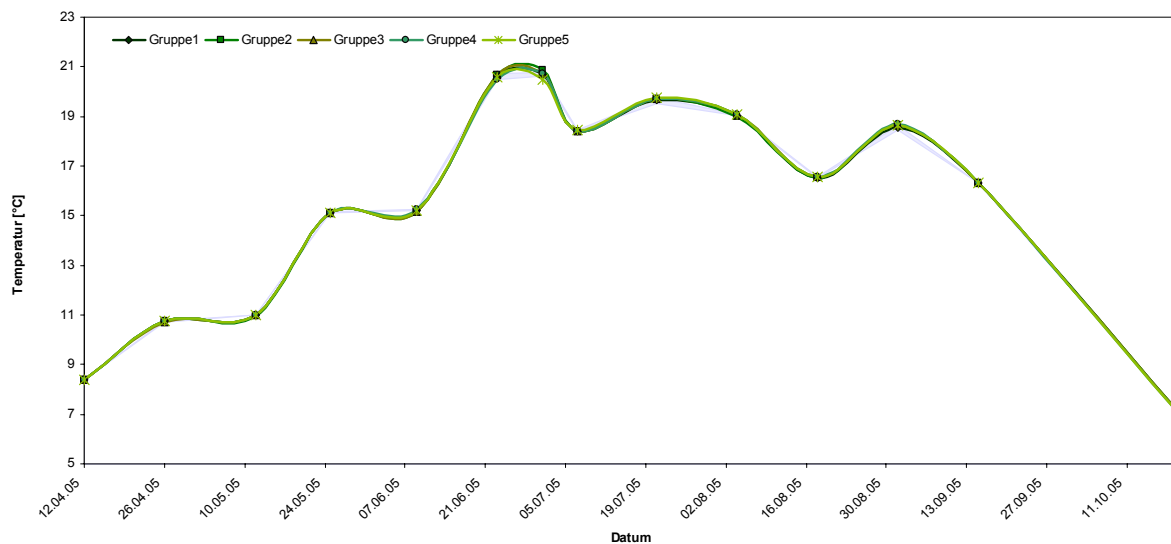


Abbildung 3.1: Temperaturwerte 2005; Bepflanzungsgruppen



### 3.1.2 Sauerstoff

Sauerstoffgehalt und Sauerstoffsättigung wurden in der oberen und untersten Wasserschicht untersucht. Jedoch konnten weder anhand der verschiedenen Belastungsstufen noch anhand der Bepflanzungsgruppen signifikante Unterschiede festgestellt werden. Unmittelbar nach der Belastung erkennt man einen leichten Anstieg der Sauerstoffwerte. Im Anschluss daran ist ein Abfallen der Werte zu beobachten. Diese Veränderungen sind aber nicht zwingend ein Effekt der Cypermethrin-Belastung, da bereits während des gesamten Versuchszeitraumes Schwankungen zu beobachten sind. Abbildung 3.2 zeigt die Unterschiede der O<sub>2</sub>-Sättigung für die verschiedenen Belastungsgruppen im Jahr 2005.

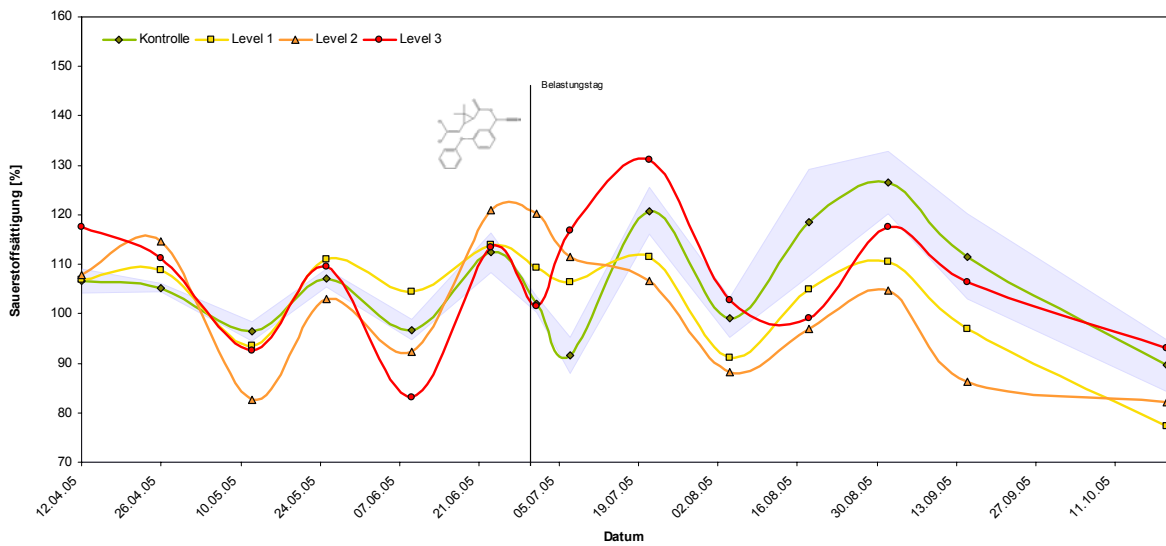


Abbildung 3.2: Sauerstoffwerte 2005; Belastungsgruppen

### 3.1.3 pH-Wert

Der pH-Wert variiert über den Untersuchungszeitraum zwischen 7,2 und 9,5. Weder 2004 noch 2005 konnte eine Veränderung im pH-Wert basierend auf der unterschiedlichen Bepflanzung festgestellt werden. Betrachtet man jedoch den Verlauf der pH-Werte bezogen auf die unterschiedlichen Belastungsgruppen, so fällt auf, dass mit einiger Zeitverzögerung nach der Belastung, verglichen mit den Kontrollen, ein niedrigerer pH-Wert gemessen wurde (siehe Abbildung 3.3). Da der pH-Wert positiv mit Konzentration an gelöstem CO<sub>2</sub> und dadurch auch mit der Photosyntheseleistung korreliert (Schwoerbel, 1987), könnte man das Absinken durch einen, verglichen mit den Kontrollen, erhöhten Fraßdruck auf das Phytoplankton erklären. Dieser höhere Fraßdruck hat seinen Ursprung im Anstieg der Zooplankton-Population (siehe Abbildung 3.20) infolge des Verschwindens räuberischer Makroinvertebraten.

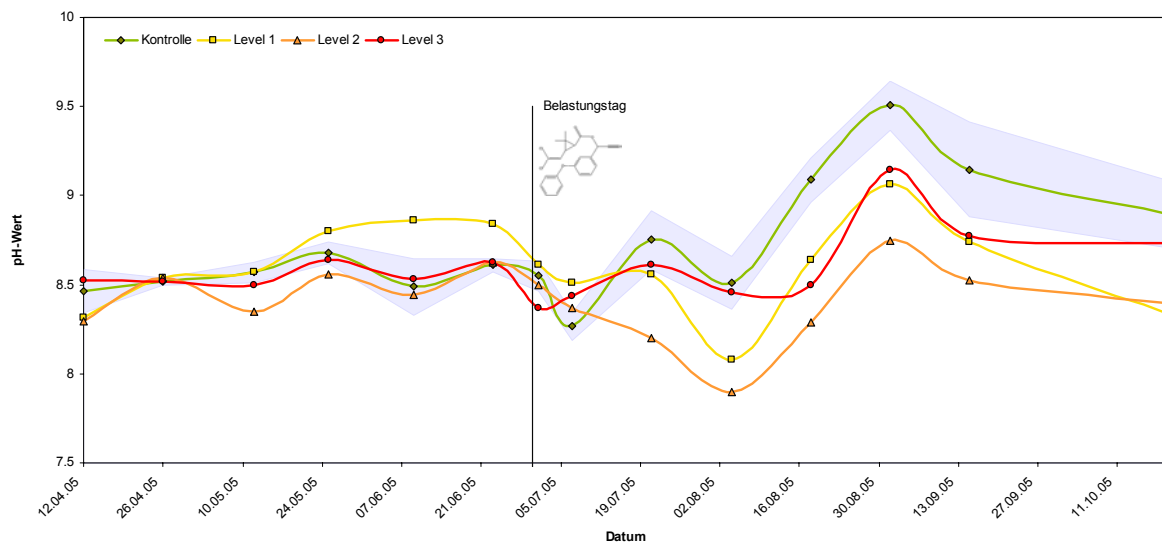


Abbildung 3.3: pH-Wert 2005; Belastungsgruppen

### 3.1.4 Leitfähigkeit

Die Leitfähigkeit erlaubt Aussagen über die gesamte Ionen-Konzentration im Gewässer. In Bezug auf die unterschiedliche Bepflanzung konnte festgestellt werden, dass die Leitfähigkeit für die beiden Gruppen mit der höchsten Makrophytenvariabilität und -dichte deutlich niedriger lag als in den drei restlichen Gruppen (siehe Abbildung 3.4). Da eine niedrigere Leitfähigkeit mit einer höheren Primärproduktion und deshalb einem höheren Nährstoffverbrauch einhergeht, entspricht dieses Ergebnis den Erwartungen. Die Messung der Leitfähigkeit zeigte keine auffälligen belastungsabhängigen Schwankungen durch das Cypermethrin. Jedoch ist die der Bepflanzung zuzuordnende Veränderung nur bis zum Tag der Belastung zu erkennen. Danach lässt sich die beobachtete Variabilität nicht mehr eindeutig zuordnen (siehe Abbildung 3.5).

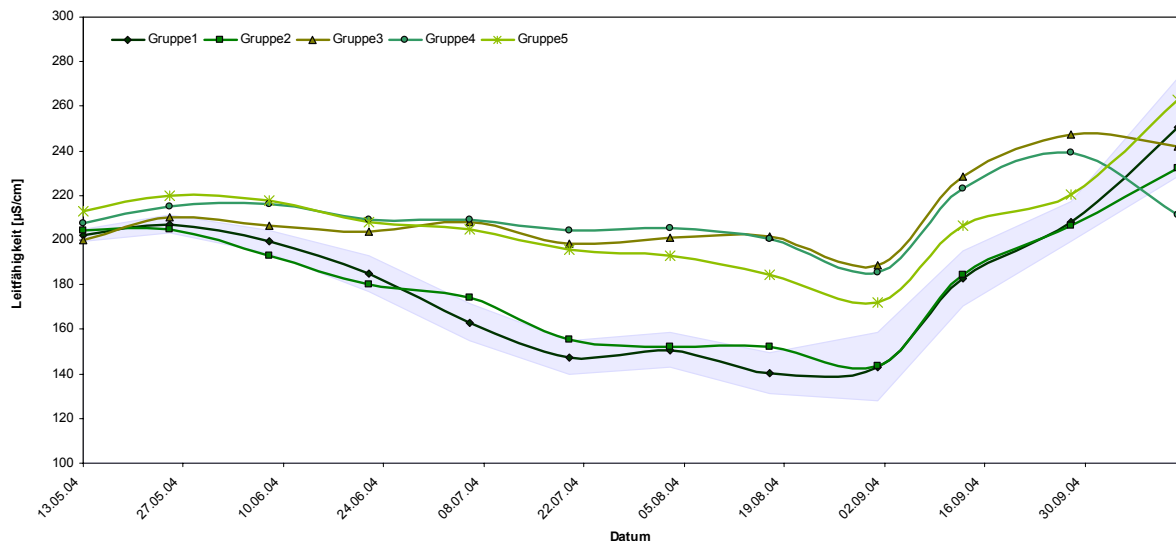


Abbildung 3.4: Leitfähigkeit 2004; Bepflanzungsgruppen

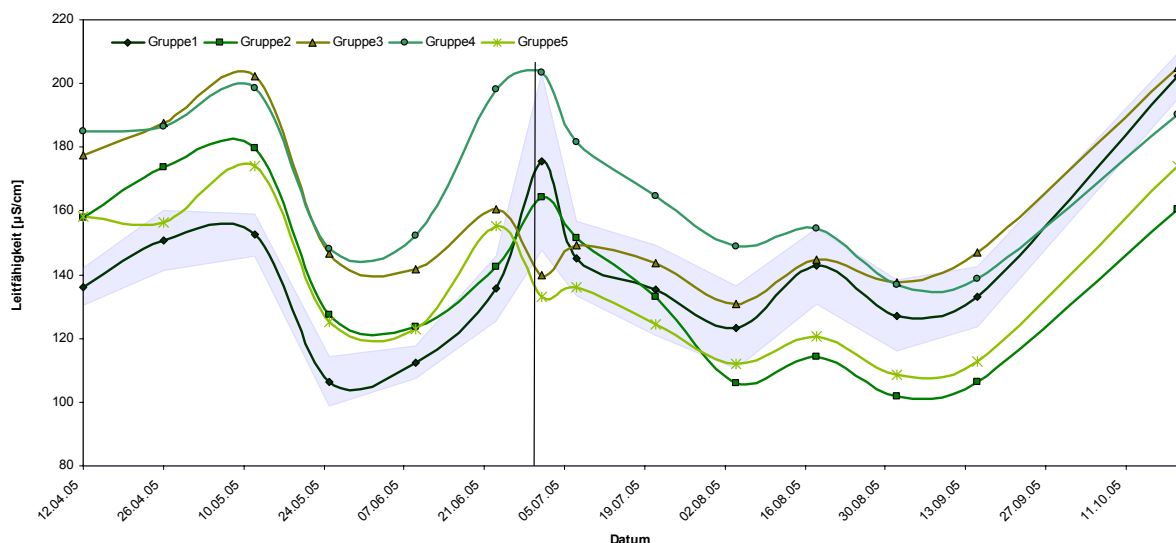


Abbildung 3.5: Leitfähigkeit 2005; Bepflanzungsgruppen

### 3.1.5 Chlorophyll a

Der Chlorophyll a Gehalt, als Summenparameter für das vorhandene Phytoplankton, zeigte in Bezug auf die verschiedenen Bepflanzungsgruppen keine signifikanten Änderungen (siehe Abbildung 3.6). Hinsichtlich der Belastung konnten ebenfalls keine Effekte nachgewiesen werden. Auch andere Studien des Fachgebiets konnten keinen signifikanten Effekt durch eine Cypermethrin-Belastung aufzeigen (Grünwald, 2003; Funk, 2004; Dawo, 2005).

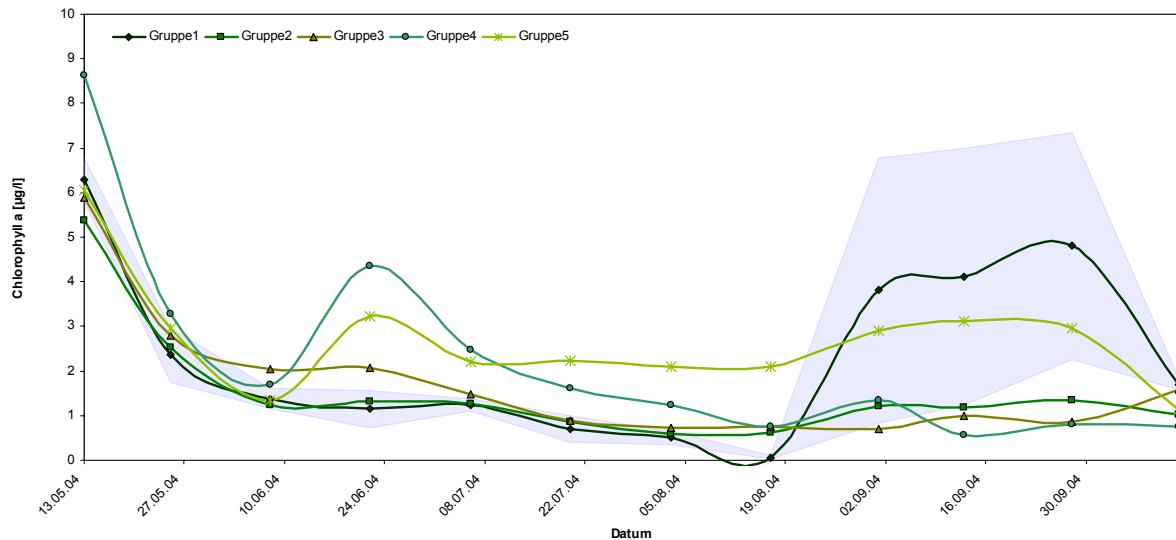


Abbildung 3.6: Chlorophyll a Messwerte 2004; Bepflanzungsgruppen

### 3.1.6 Alkalinität

Die Alkalinität ist ein Parameter für die Pufferkapazität des Probenwassers, zeigt aber auch Zusammenhänge mit der Primärproduktion auf. Demnach korrelieren niedrigere Werte für festgebundenes CO<sub>2</sub> mit einer höheren Primärproduktion (Schwoerbel, 1987). Besonders bei submersen Blütenpflanzen wie *Elodea* und *Myriophyllum* dienen gelöstes CO<sub>2</sub>, das HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Ion und Carbonate als Kohlenstoffquelle für die Photosynthese (Schwoerbel, 1987). Da diese Pflanzen in Pflanzgruppe 1 und 2 vertreten sind, entsprechen die niedrigeren Werte dieser Gruppen (siehe Abbildung 3.7) der Erwartung. Diese Ergebnisse bestätigen die Werte der Leitfähigkeitsmessung, die ebenfalls in Bezug zur Primärproduktion steht (vgl. 3.1.4). Hinsichtlich der Belastung mit Cypermethrin konnte keine Veränderung beobachtet werden.

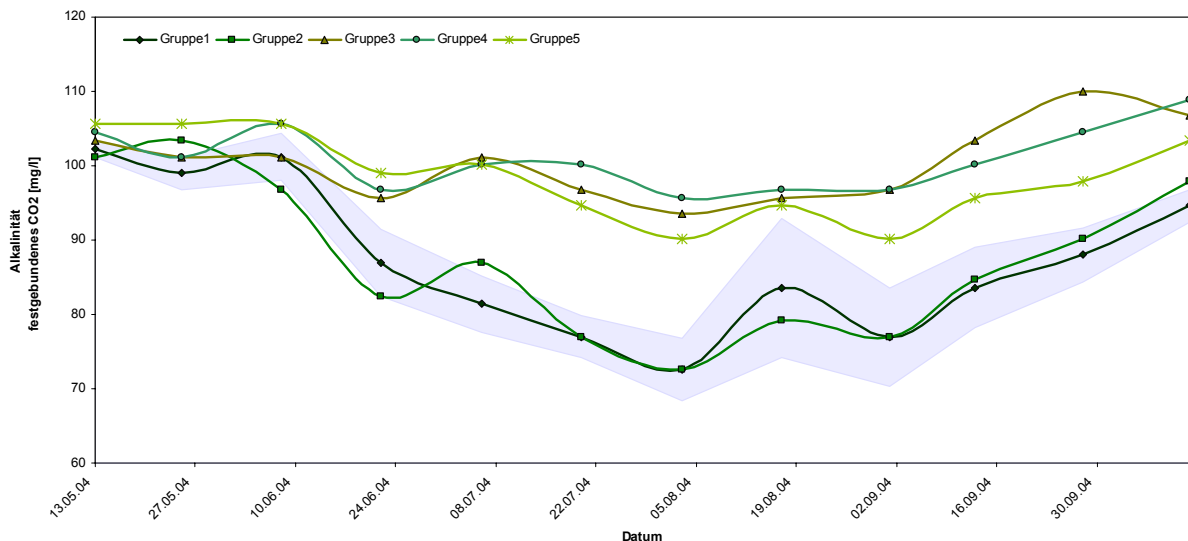


Abbildung 3.7: Alkalinität 2004; Bepflanzungsgruppen

### 3.1.7 Chemische Parameter

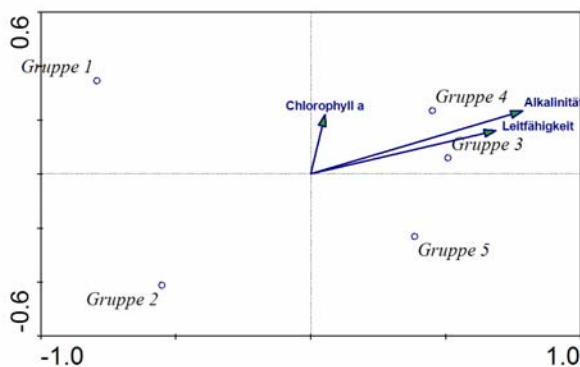
Die chemischen Parameter Ammonium-Stickstoff, Gesamthärte, Nitrat-Stickstoff, Silikat, SRP und TP zeigten während beider Versuchsjahre keine signifikanten Abweichungen. Es konnten weder Veränderungen aufgrund der Bepflanzung noch aufgrund der Belastung erkannt werden. Dies bestätigen Studien von Brock und Dawo, die ebenfalls weniger Einfluss auf funktionelle Parameter als auf strukturelle nachweisen konnten (Brock *et al.*, 2000; Dawo, 2005). Um eine Vorstellung von den Größenordnungen der gemessenen Werte zu vermitteln sind in Tabelle 3.1 die Daten für beide Jahre zusammenfassend dargestellt.

<b>Parameter</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Std. dev.</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
Ammonium-Stickstoff [mg/l]	0,165	0,161	0	1,957
Nitrat-Stickstoff [mg/l]	0,217	0,07	0,065	0,535
SRP [ $\mu$ g/l]	0,109	0,126	0	1,274
TP [ $\mu$ g/l]	1,286	1,158	0	12,316
Silikat [ $\mu$ g/l]	40,758	21,329	17,686	203,293
Gesamthärte [°DH]	4,277	0,944	2,1	7,1

**Tabelle 3.1:** Zusammenfassung der chemischen Parameter

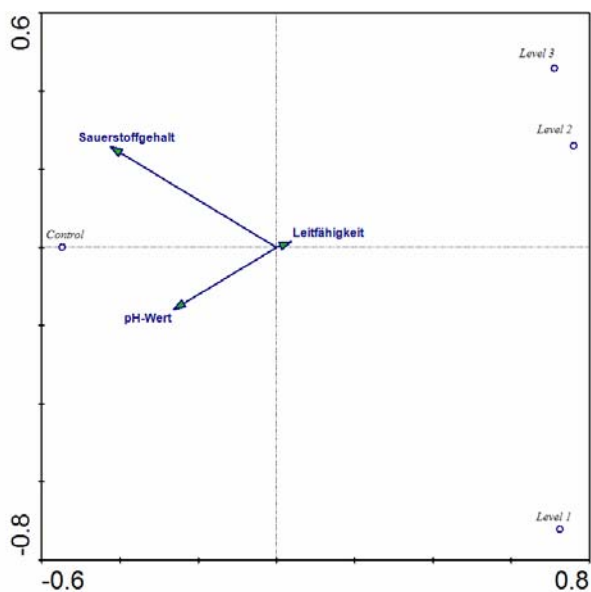
### 3.1.8 Messwerte – Statistische Auswertung

Zusätzlich zur Betrachtung der Verlaufsdaten wurden die Messwerte statistisch ausgewertet. Zunächst wurde mittels Monte Carlo Permutation geprüft, welche Parameter in signifikantem Zusammenhang mit den verschiedenen Pflanzgruppen bzw. Belastungsgruppen stehen. Neben den signifikanten Parametern wurde auch mit Parametern, die nach der bisherigen Auswertung einen Einfluss vermuten ließen, eine CCA durchgeführt. Bezüglich der Bepflanzung zeigte nur die Alkalinität ( $p = 0,01$ ) signifikante Einflüsse (siehe Abbildung 3.8).



**Abbildung 3.8:** Bepflanzungsgruppen mit Umweltvariablen

Die CCA bestätigt die bereits geschilderten Effekte (vgl. 3.1.4 – 3.1.6). Jedoch zeigte sich für die Leitfähigkeit ( $p = 0,24$ ) und den Chlorophyllgehalt ( $p = 0,304$ ) keine Signifikanz. Bezüglich der Belastung sind für den pH-Wert ( $p = 0,02$ ) und die Leitfähigkeit ( $p = 0,034$ ) signifikante Zusammenhänge zu erkennen (siehe Abbildung 3.9).



**Abbildung 3.9:** Belastungsgruppen mit Umweltvariablen

Auch hinsichtlich der Belastung können bereits geschilderte Effekte (vgl. 3.1.2 – 3.1.4) durch die CCA bestätigt werden. Bezüglich der Sauerstoffsättigung zeigten sich keine signifikanten Effekte ( $p = 0,09$ ).

### 3.2 Zooplankton

Insgesamt wurden 34 verschiedene Arten bzw. Taxa gefunden. Davon waren 24 Arten den Rotatorien zuzuordnen, 7 den Cladoceren, 2 den Copepoden und eine den Ostracoda. Tabelle 3.2 zeigt die gefundenen Arten und deren taxonomische Einteilung.

Stamm	Klasse	Ordnung	Familie	Gattung	Art	
Arthropoda	Crustacea	Copepoda (Ukl.)	Cyclopidae	<i>Cyclops</i>	spec.	
			Diaptomidae	<i>Eudiaptomus</i>	spec.	
		Cladocera	Chydoridae	<i>Acroperus</i>	<i>harpa</i>	
				<i>Alona</i>	<i>costata</i>	
				<i>Alonella</i>	<i>nana</i>	
				<i>Chydorus</i>	<i>sphaericus</i>	
				<i>Graptoleberis</i>	<i>testudinaria</i>	
				Daphniidae	<i>Daphnia</i>	<i>longispina</i>
					<i>Simocephalus</i>	<i>vetulus</i>
		Ostracoda		<i>Ostracoda</i>	ssp.	
		Nemathelminthes	Rotatoria	Rotatoria	Asplanchnidae	<i>Asplanchna</i>
Brachionidae	<i>Anuraeopsis</i>				<i>fissa</i>	
	<i>Brachionus</i>				spec.	
	<i>Euchlanis</i>				<i>triquetra</i>	
	<i>Euchlanis</i>				<i>dilatata</i>	
	<i>Keratella</i>				<i>quadrata</i>	
	<i>Keratella</i>				<i>cochlearis</i>	
	<i>Keratella</i>				spec.	
	<i>Lepadella</i>				<i>patella</i>	
	<i>Mytilina</i>				spec.	
	<i>Squatinella</i>				<i>rostrum</i>	
	<i>Trichotria</i>				<i>pocillum</i>	
Collothecidae	<i>Collotheca</i>				spec.	
	<i>Stephanoceros</i>				<i>fimbriatus</i>	
Gastropodidae	<i>Ascomorpha</i>				spec.	
Lecanidae	<i>Lecane</i>				<i>diplostyla</i>	
	<i>Lecane</i>				<i>monostyla</i>	
Notomattidae	<i>Cephalodella</i>				spec.	
	<i>Monommata</i>				spec.	
Synchaetidae	<i>Polyarthra</i>				spec.	
	<i>Synchaeta</i>				spec.	
Testudinellidae	<i>Hexarthra</i>				<i>mira</i>	
	<i>Testudinella</i>				<i>patina</i>	
Trichocercidae	<i>Trichocerca</i>	spec.				

Tabelle 3.2: Taxonomie des Zooplanktons

Die meisten Taxa wurden nicht weiter differenziert. Jedoch wurden bei der Zählung der Copepoden die Entwicklungsstadien Nauplia, Copepoditen und Adulte berücksichtigt.



### 3.2.1 Artenreichtum

Im Großen und Ganzen sind beim Artenreichtum während beider Versuchsjahre nur kleine Schwankungen zu erfassen. Bezüglich der unterschiedlichen Bepflanzungsgruppen ist zu erkennen, dass tendenziell in allen Gruppen außer Gruppe 1 weniger Arten gezählt wurden. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da bestimmte Zooplankter an Makrophyten assoziiert sein können. So siedeln manche Zooplankter als Grazer in der Nähe von Wasserpflanzen oder nutzen sie als Versteck vor Fraßeindern (Nurminen *et al.*, 2001; Nurminen und Horppila, 2002). Abbildung 3.10 zeigt dieses Ergebnis für das Jahr 2004.

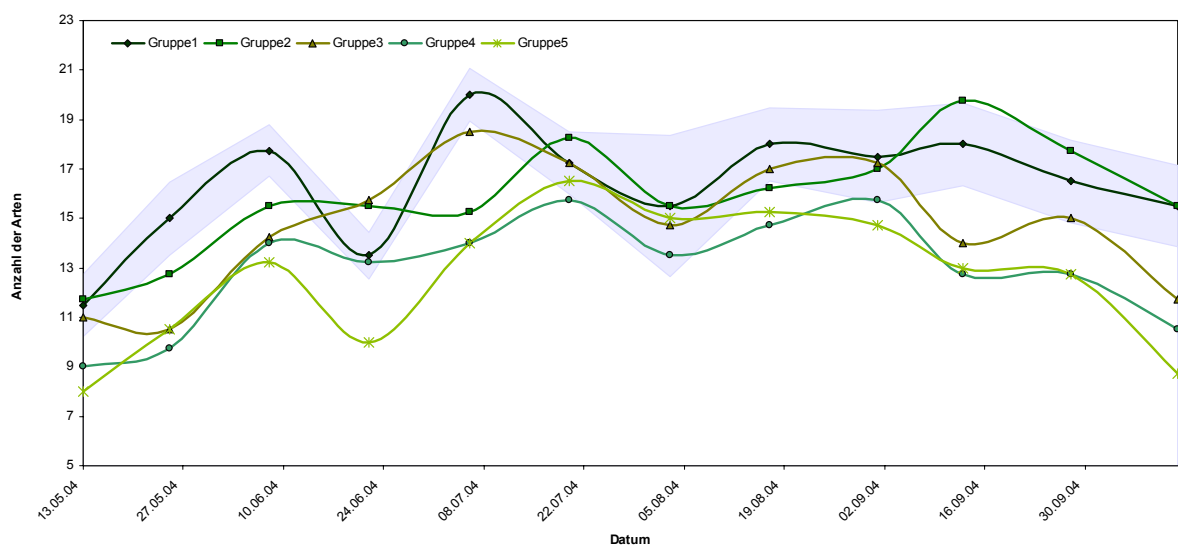
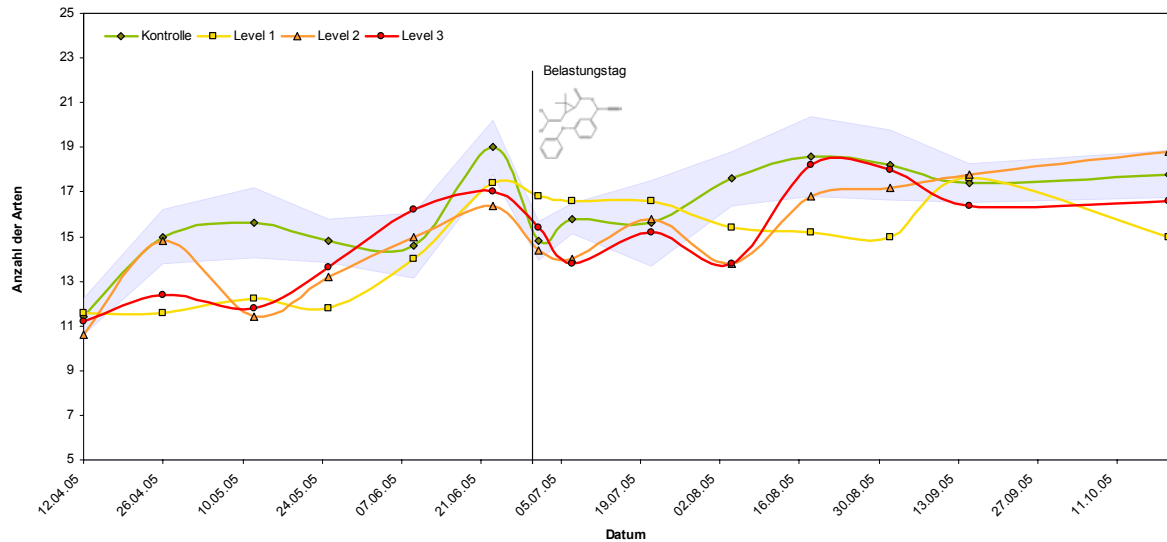


Abbildung 3.10: Anzahl der Zooplanktontaxa 2004; Bepflanzungsgruppen

Bezüglich der Belastung mit Cypermethrin ist keine anhaltende Veränderung der Artenzahl zu erkennen. Zwar zeigt Abbildung 3.11 zeitversetzt eine leichte Abnahme der Artenzahl, jedoch sind diese Werte zum einen nur an einzelnen Tagen zu erkennen und zum anderen waren auch schon vor der Belastung Schwankungen in diesen Gruppen zu verzeichnen.



**Abbildung 3.11:** Anzahl der Zooplanktontaxa 2005; Belastungsgruppen

### 3.2.2 Dominanzen

Die folgenden Abbildungen zeigen die Verteilung der vier Ordnungen (Rotatoria, Ostracoda, Cladocera und Copepoda) in der Kontrolle (Abb. 3.12) sowie in den drei Belastungsstufen (Abb. 3.13 – 3.15).

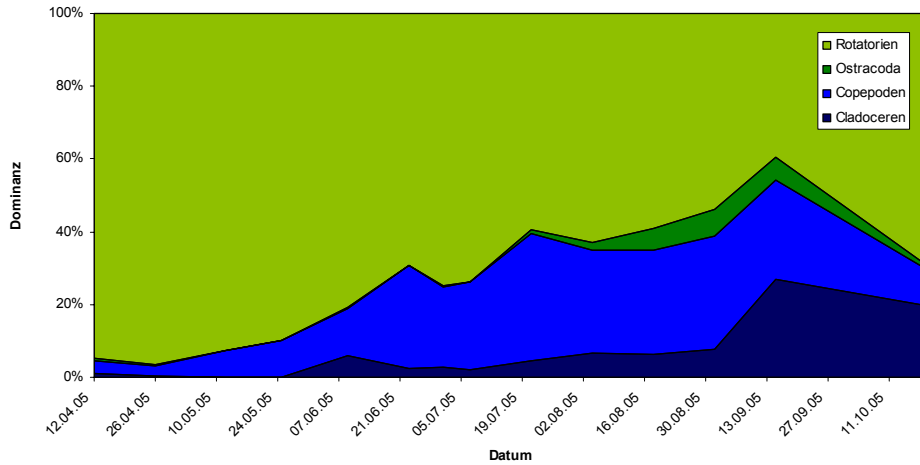


Abbildung 3.12: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Kontrolle

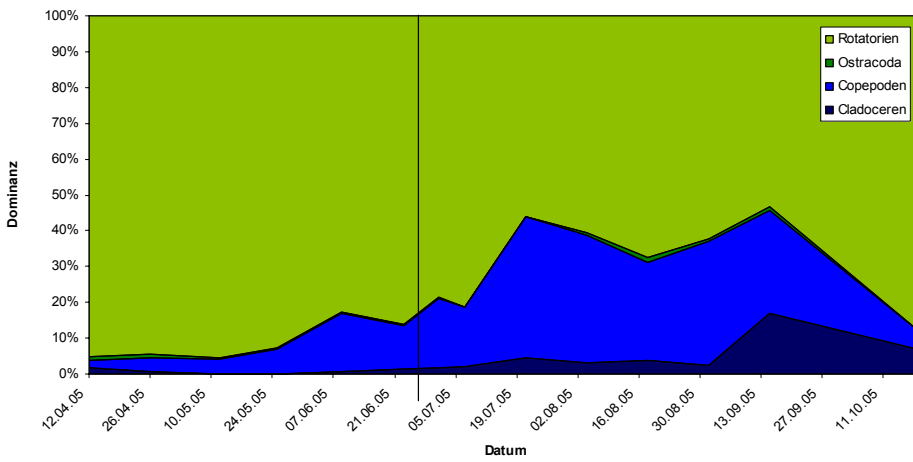


Abbildung 3.13: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Level 1

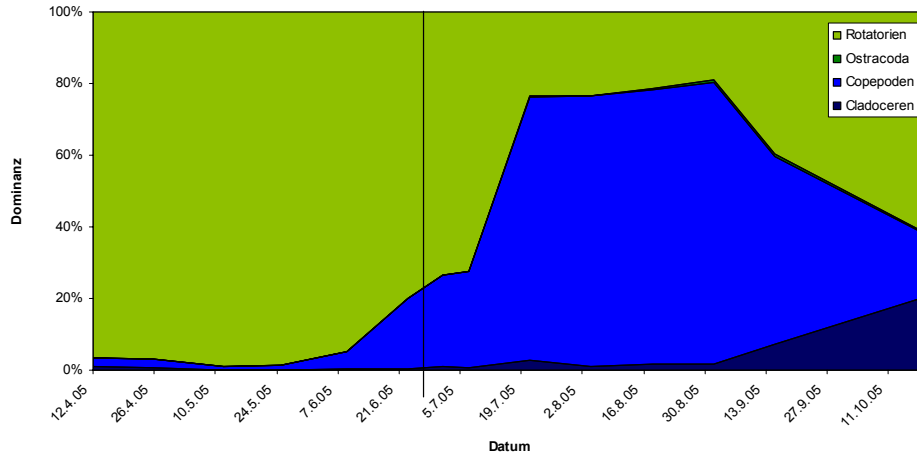


Abbildung 3.14: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Level 2

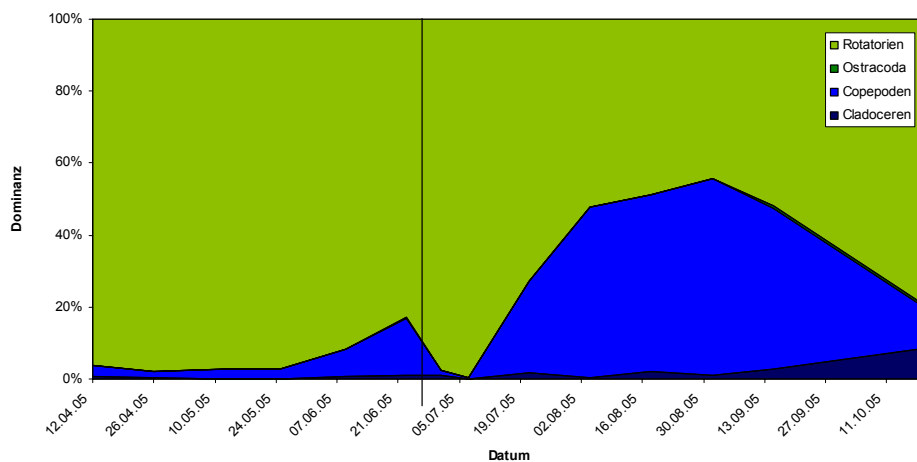


Abbildung 3.15: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Level 3

Die Abbildungen machen deutlich, wie sich durch die Belastung das Dominanzverhältnis verändert. In der Kontrolle sowie in Level 1 wird die Zooplanktongesellschaft noch hauptsächlich von Rotatorien dominiert. So erreichen die Rotatorien im August Werte von ca. 67 % und im Frühjahr sogar bis zu 95 % der Zooplanktongesellschaft. Besonders in Level 2 zeigt sich bereits, dass die Rotatorien von den Copepoden verdrängt werden, was durch einen schwindenden Fraßdruck von räuberischen Makroinvertebraten, wie *Chaoborus crystallinus*, zu erklären ist (vgl. Abschnitt 3.4). In Level 3 schwindet dieser Effekt aber unmittelbar nach der Belastung, da durch die sehr hohe Cypermethrin-Konzentration auch die Copepoden stark beeinträchtigt werden. So ist unmittelbar nach der Belastung zu erkennen, dass die Copepoden mit nur ca. 1 % an der Gesamtpopulation beitragen. *Ostracoda*, die in den Kontrollgruppen ohnehin nur ab Mitte Juli mit nennenswerten Anteilen zu Buche schlagen, sind in den Belastungsgruppen so gut wie gar nicht zu finden. Diese Arten scheinen sehr sensitiv auf die Belastung zu reagieren. Auch bei Cladoceren erkennt man mit zunehmender Belastung eine Abnahme des Anteils an der Gesamtpopulation im Vergleich zur Kontrolle.

Bezüglich der Bepflanzung ist der Effekt nicht so deutlich. Jedoch kann man eine Abnahme der Werte für Cladoceren und *Ostracoden* in denjenigen Pflanzgruppen erkennen, in denen keine natürlichen Makrophyten vorkommen (Gruppe 4 und 5). Nachdem in diesen Ordnungen hauptsächlich Arten vertreten sind, die sich als Grazer, also durch Abkratzen von Algen oder Bakterien auf den Wasserpflanzen, ernähren, ist dieses Ergebnis einleuchtend. Dieser Effekt ist so enorm, dass in Pflanzgruppe 5 der Anteil an *Ostracoden* teilweise unter 1% liegt. Die Abbildungen 3.16 und 3.17 zeigen die unterschiedlichen Dominanzverhältnisse in Bepflanzungsgruppe 1 und Bepflanzungsgruppe 5.

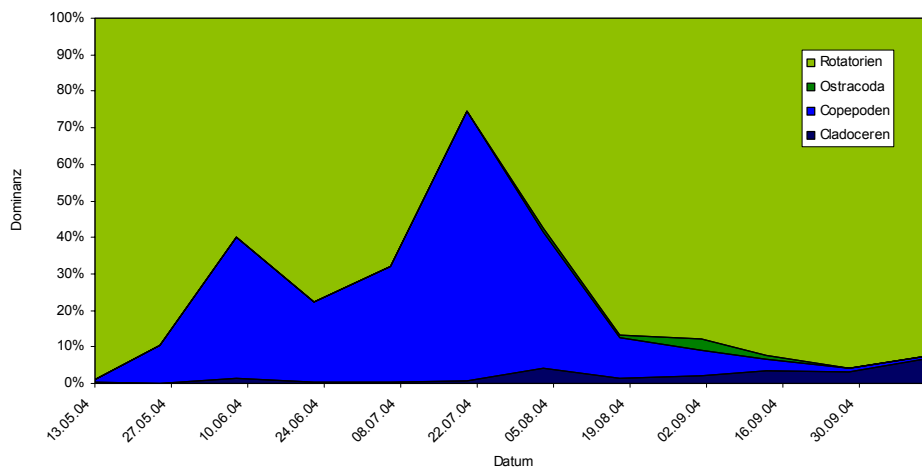


Abbildung 3.16: Dominanzverteilung Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppe 1

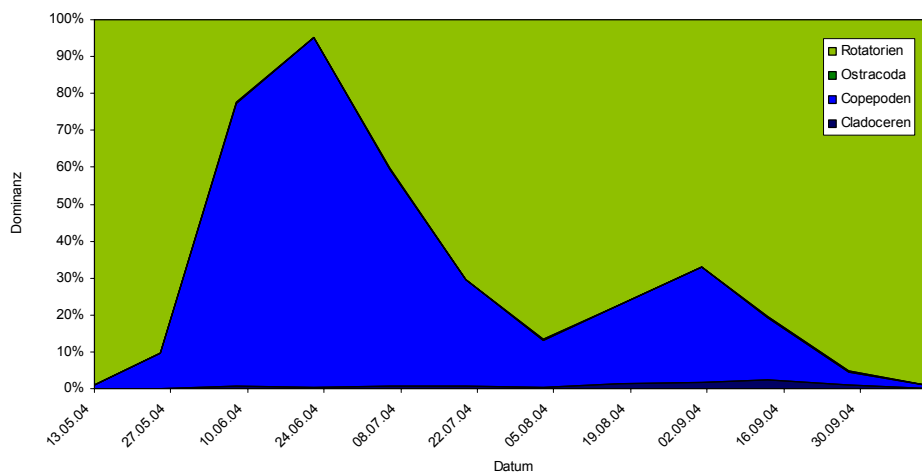


Abbildung 3.17: Dominanzverteilung Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppe 5

### 3.2.3 Gesamtabundanz

Hinsichtlich der Belastung zeigt sich ein deutlicher Anstieg der Gesamtabundanz im Vergleich zur Kontrolle. Dieser Anstieg ist in den beiden höchsten Belastungsstufen bis Mitte September zu erkennen. In Level 1 hingegen ist bereits ab Anfang August eine Abundanz ähnlich der Kontrollen erreicht. Die einzelne Abweichung der Kontrollwerte am 04.08.2005 stellt, wie in der Ökotoxikologie für einmalige Schwankungen üblich, keine signifikante Veränderung dar. Die höheren Abundanzen in den Belastungsstufen sind als indirekte Effekte zu bewerten. Wie bereits geschildert, können sich die Zooplanktonorganismen durch das Wegfallen der räuberischen Makroinvertebraten ungehindert vermehren. Besonders deutlich wird eine stufenweise Zunahme der Abundanz mit steigender Belastungsstufe. Eine „Recovery“ bezüglich der Gesamtabundanz kann nur für die Belastungsstufe Level 1 gesichert werden. Zwar ist zu vermuten, dass sich auch Level 2 und 3 am 20.10.05 erholt haben, jedoch kann diese Vermutung nicht durch mehrere aufeinanderfolgende Messungen bestätigt werden. Abbildung 3.18 zeigt den Verlauf der Gesamtabundanz für die Belastungsstufen.

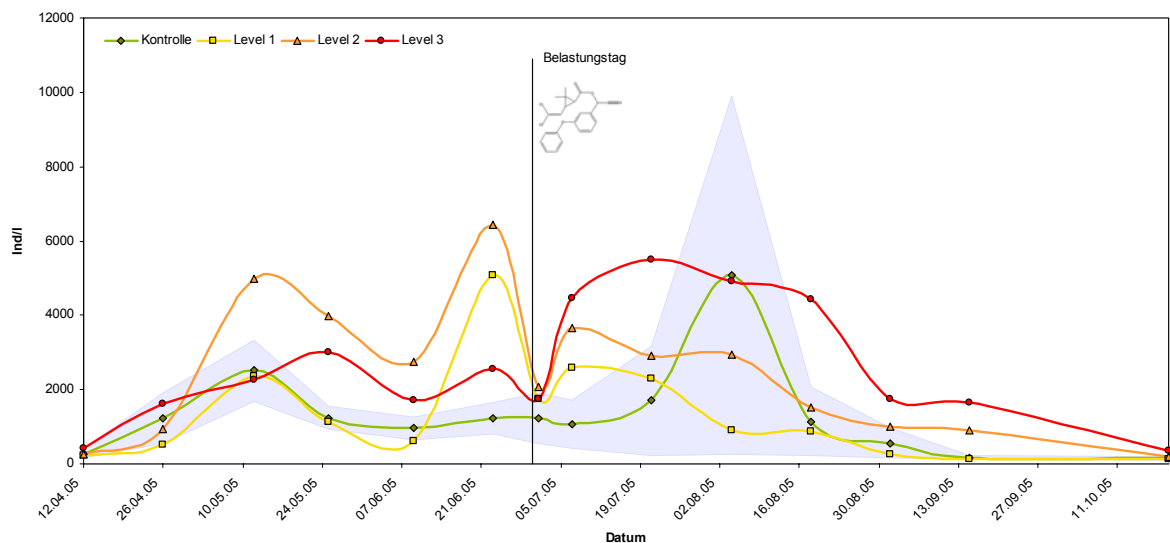
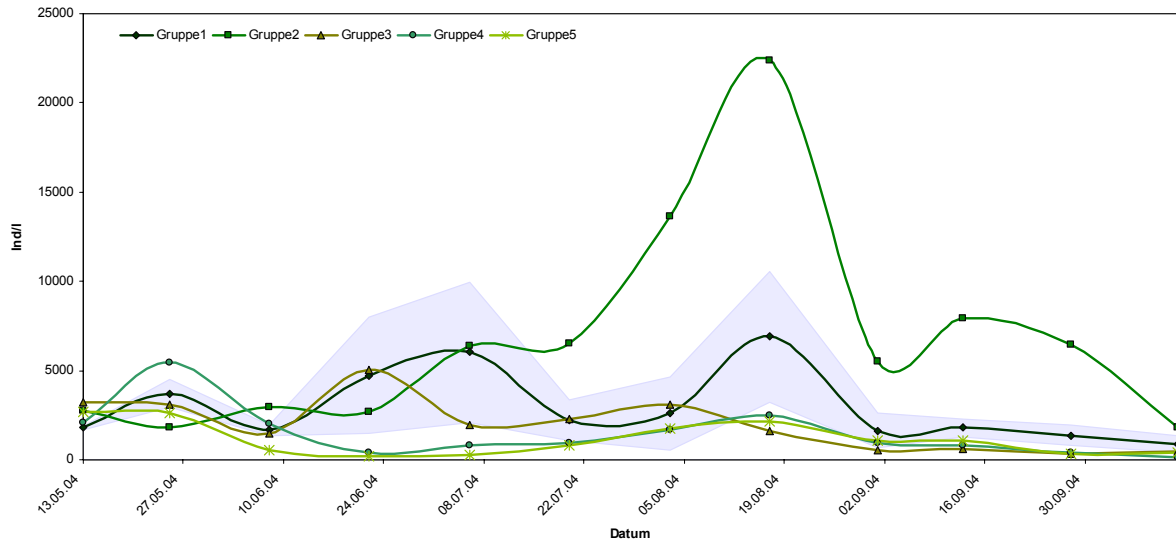


Abbildung 3.18: Gesamtabundanz Zooplankton 2005; Belastungsgruppen

Bezüglich der Bepflanzungsgruppen sind die Effekte auf die Gesamtabundanz nicht so ausgeprägt. Jedoch kann man in den Bepflanzungsgruppen mit weniger Makrophyten eine leicht niedrigere Abundanz erkennen als in Pflanzgruppe 1 und 2. Abbildung 3.19 zeigt die Gesamtabundanz für die Bepflanzungsgruppen.



**Abbildung 3.19:** Gesamtabundanz Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppen

Wertet man die Daten hinsichtlich der Bepflanzungsgruppen im Jahr 2005 aus, so kann man damit Abschätzungen bezüglich der Sensitivität der unterschiedlichen Bepflanzungsverhältnisse auf die Belastung vornehmen. Jedoch zeigten sich diesbezüglich für alle Gruppen Abundanzen im Kontrollbereich. Das heißt, es lässt sich hinsichtlich der Bepflanzung keine veränderte Sensitivität bezüglich der Gesamtabundanz erkennen.

### 3.2.4 Rotatoria

Die Abundanz der Rotatorien zeigt signifikante Veränderungen infolge der Belastung. Abbildung 3.20 zeigt den Verlauf der Abundanzdaten für alle Rotatorien.

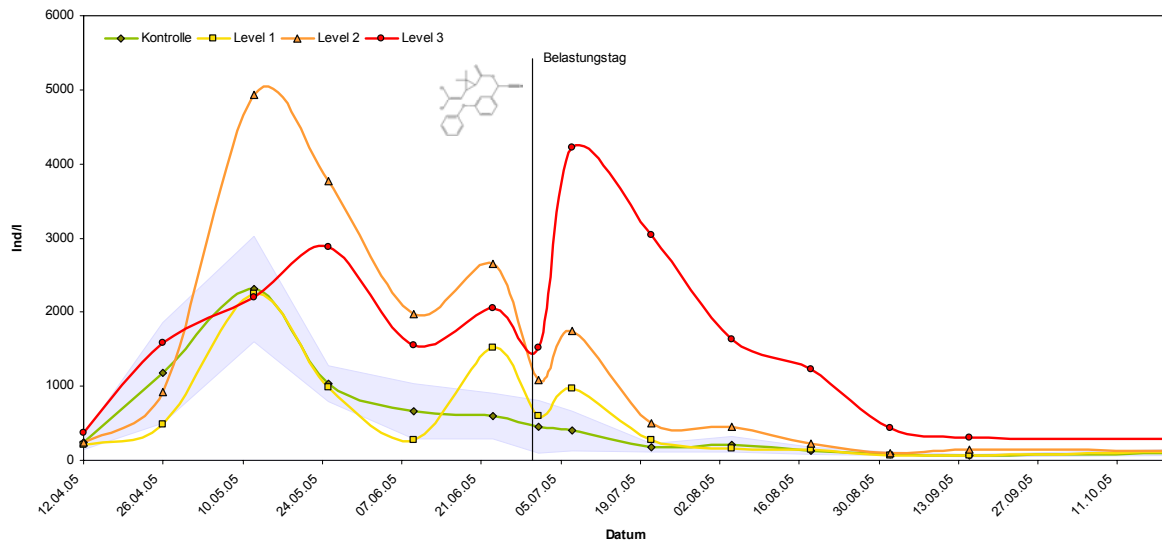


Abbildung 3.20: Abundanz Rotatoria 2005; Belastungsgruppen

Deutlich zu erkennen ist eine belastungsabhängige Zunahme der Abundanzen direkt am Tag nach der Belastung, die bis zum 07.07.05 noch zunimmt und sich dann langsam den Werten der Kontrollen annähert. Level 1 und 2 liegen bereits am 18.08.05 wieder im Kontrollbereich, wohingegen für Level 3 noch bis zum Ende der Studie leicht erhöhte Werte zu erkennen sind. Zwar sind bereits vor dem Belastungstag Schwankungen in den Belastungsgruppen zu erkennen, diese zeigen aber keinen konzentrationsabhängigen Zusammenhang (zur Verdeutlichung dieser Auswirkungen sind im Anhang als Vergleich die Rotatorien-Abundanzen für das Jahr 2004 dargestellt; vgl. Abb. A.1). Die beobachtete Abundanz-Zunahme ist ein sekundärer Effekt, der zum Vorschein kommt, da invertebrate Jäger durch das Cypermethrin wegfallen. Hauptsächlich ist dafür, wie in Abschnitt 3.3.7 nachzulesen, *Chaoborus crystallinus* verantwortlich. Die Abnahme der Rotatorien-Abundanz nach dieser Störung steht zum einen mit dem natürlichen jahreszeitlichen Verlauf der Rotatorien, zum anderen aber auch mit der Erholung von *Chaoborus* in Verbindung. Bezüglich der unterschiedlichen Bepflanzungsgruppen erkennt man bei den Rotatorien keine Effekte. Somit konnte auch keine variable Sensitivität beobachtet werden.

Betrachtet man die Rotatorien im Detail, so fällt auf, dass nicht alle Arten gleich stark reagieren. Sehr starke Effekte sind bei der Abundanz von *Keratella cochlearis* (Abb. 3.21) und *Keratella quadrata* (Abb. 3.22) zu erkennen.



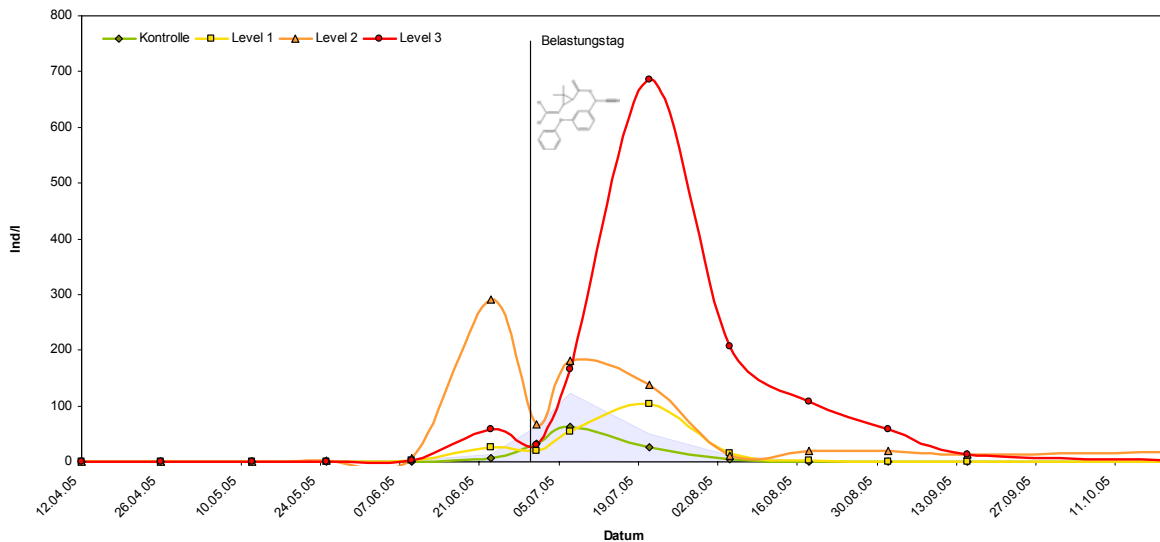


Abbildung 3.21: Abundanz *Keratella cochlearis* 2005; Belastungsgruppen

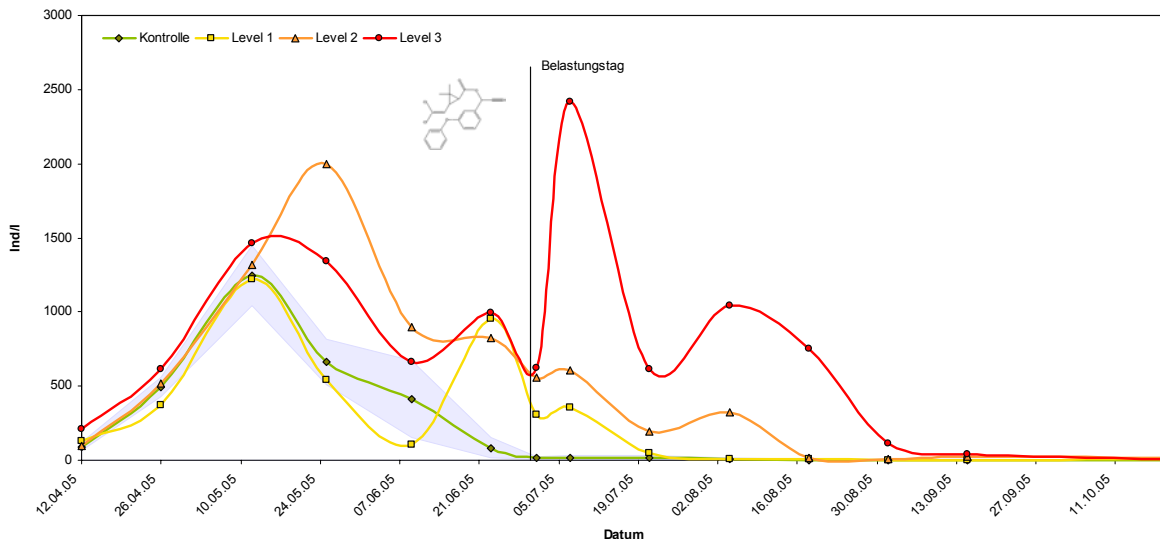


Abbildung 3.22: Abundanz *Keratella quadrata* 2005; Belastungsgruppen

Bei beiden Arten ist eine deutliche Zunahme der Abundanz nach der Applikation von Cypermethrin zu erkennen. Bei *Keratella quadrata* steigt die Abundanz in Belastungsstufe 2 um das 31fache und in Belastungsstufe 3 sogar um das 127fache im Vergleich zu den Kontrollen. Der enge Zusammenhang zwischen *Chaoborus* und der Gattung *Keratella* als bevorzugte Beute unter den Rotatorien (Moore *et al.*, 1994) macht diese enorme Zunahme der Abundanz deutlich. Neben *Keratella* sind auch bei *Polyarthra spec.*, *Euchlanis spec.* und *Lecane monostyla* leichte Zunahmen der Abundanz zu erkennen. Jedoch zeigt sich der Effekt außer bei *Polyarthra spec.* nur in der höchsten Belastungsstufe. Alle beobachteten Effekte sind keine primären Reaktionen auf die Belastung, sondern resultieren sekundär aus der Abnahme der Räuberpopulationen, wie zum Beispiel *Chaoborus crystallinus*.

### 3.2.5 Cladocera

Bei der Ordnung der Cladoceren ist kein sekundärer Effekt zu erkennen (siehe Abb. 3.23). Zwar steigt am 21.07.05 die Abundanz der drei Belastungsgruppen kurzfristig an, nachdem dieser Effekt aber ansonsten im Kontrollbereich liegt, ist diese Veränderung zu vernachlässigen.

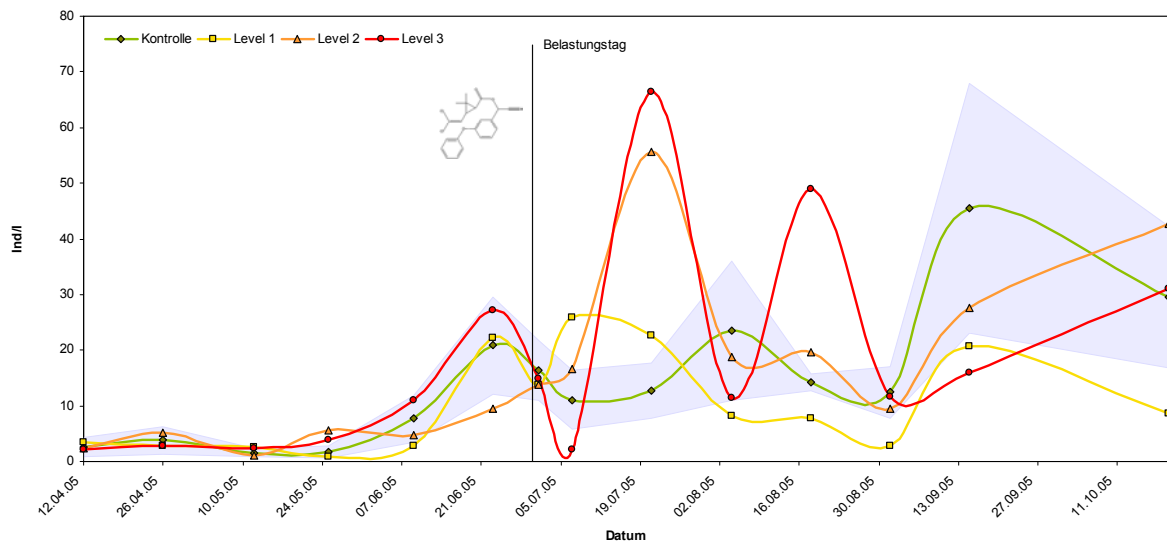


Abbildung 3.23: Abundanz Cladocera 2005; Belastungsgruppen

Betrachtet man die beteiligten Arten aber im Detail, so ist das Bild nicht mehr so einheitlich. Es zeigen sich bei *Alona costata*, *Daphnia longispina* und *Simocephalus vetulus* Effekte auf die Belastung. *Simocephalus vetulus* beispielsweise zeigt für die höchste Belastungsstufe einen signifikanten Rückgang der Abundanz (siehe Abb. 3.24). Allerdings verhalten sich Level 1 und 2 genau umgekehrt und zeigen eine Zunahme. Hier könnten direkte und indirekte Effekte gleichermaßen verantwortlich sein, wobei in Level 3 die direkten Effekte Oberhand gewinnen.

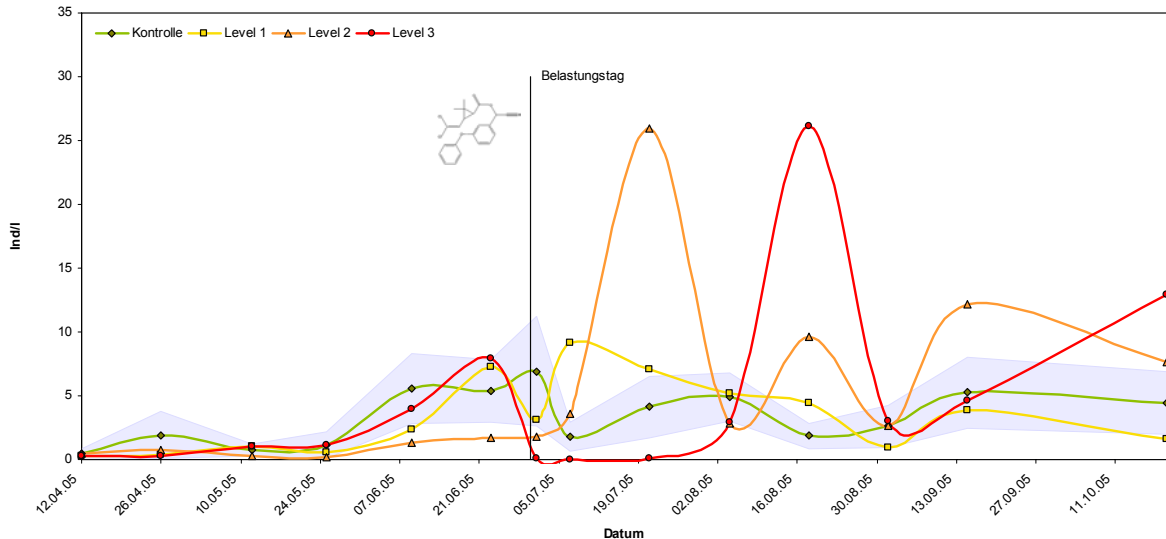


Abbildung 3.24: Abundanz *Simocephalus vetulus* 2005; Belastungsgruppen

Auch *Daphnia longispina* zeigt eine Abnahme der Abundanz infolge der Belastung, jedoch wurde diese Art insgesamt nur in so geringen Zahlen registriert, dass dieser Beobachtung nicht zuviel Bedeutung geschenkt werden kann.

Die Effekte sind für diese Arten direkt der Applikation mit Cypermethrin zuzuordnen. So zeigten auch andere Studien, dass größere Crustaceen auf künstliche Pyrethroide wie Cypermethrin sensitiv reagieren (Orme und Kegley, 2004).

Bei *Alona costata* ist erneut eine Zunahme der Abundanz zu erkennen (siehe Abb. 3.25). Dieser Effekt ist also eher wieder durch sekundäre Mechanismen, wie den Wegfall der Räuberpopulation, zu erklären. Sekundäre Effekte der Gattung *Alona* wurden bereits in früheren Studien am Fachgebiet nachgewiesen (Grünwald, 2003).

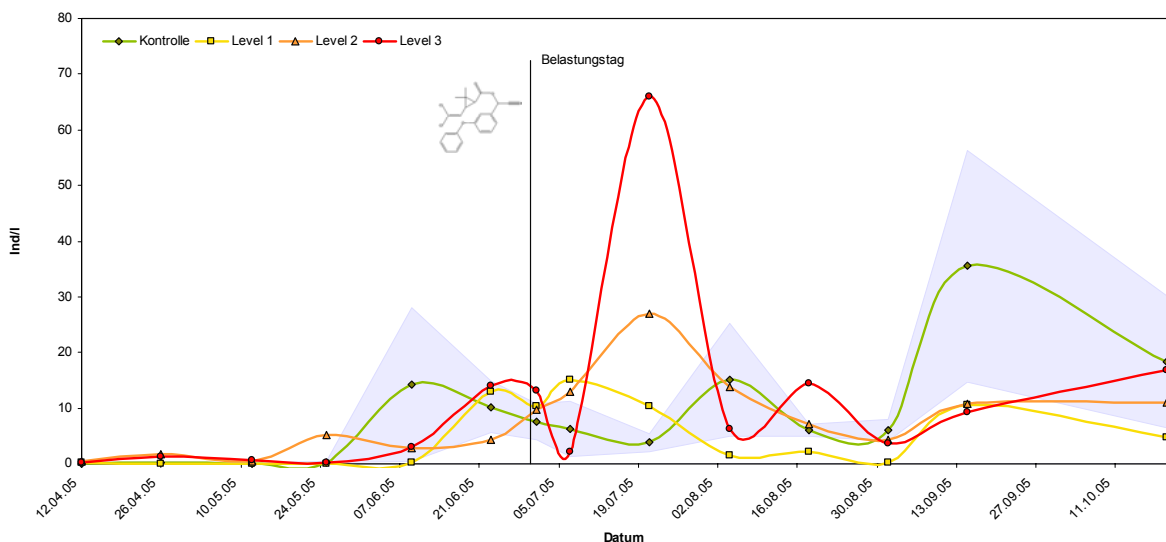


Abbildung 3.25: Abundanz *Alona costata* 2005; Belastungsgruppen

### 3.2.6 Ostracoda

Auch für die *Ostracoda* ähnelt das Bild bereits beobachteten Effekten (Abb. 3.26). In den Belastungsgruppen Level 2 und 3 sind unmittelbar nach der Belastung leichte primäre Effekte zu erkennen. Diese haben sich nach ca. 4 Wochen wieder dem Kontrollbereich angenähert. Die Toxizität für *Ostracoda* wurde durch andere Studien belegt (Mulla *et al.*, 1982).

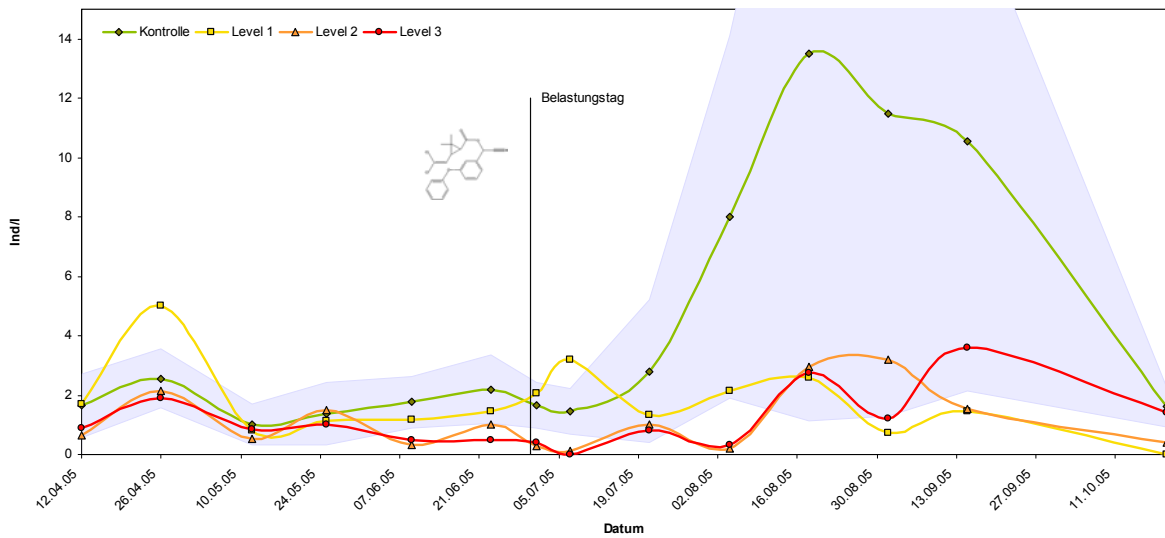
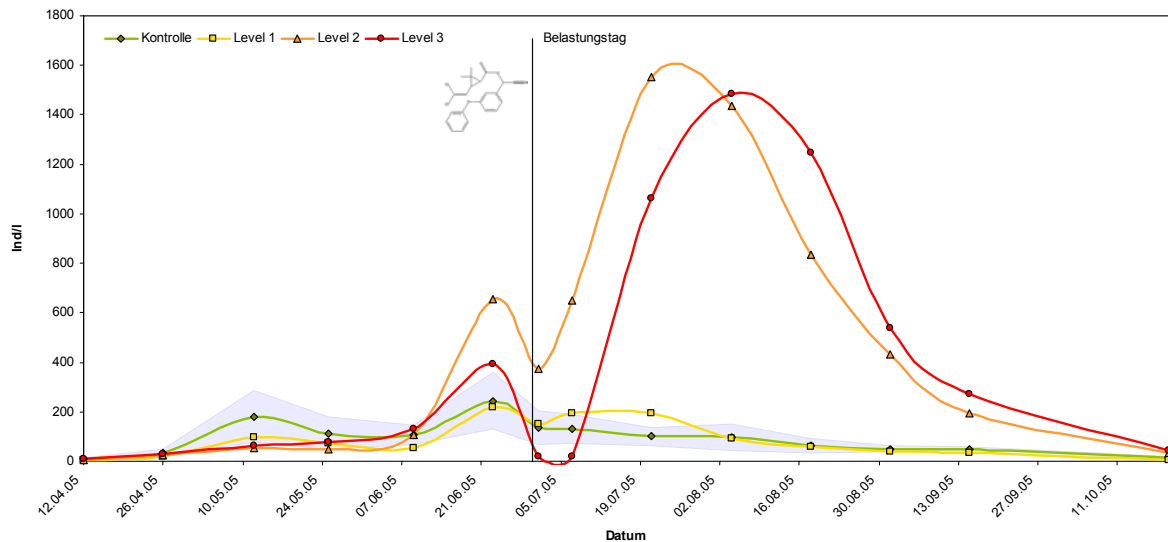


Abbildung 3.26: Abundanz *Ostracoda* ssp. 2005; Belastungsgruppen

### 3.2.7 Copepoda

Die Abundanz der Copepoden (inkl. Nauplia) zeigt für Level 2 und 3 sehr ausgeprägte Effekte (Abb. 3.27). Zunächst ist für Level 3 eine starke Abnahme der Individuenzahl zu erkennen, die bis 07.07.05 anhält. Danach steigt die Abundanz rasant auf Werte um die 1400 Individuen pro Liter. Level 2 zeigt einen ähnlichen Verlauf, jedoch erreichen die Werte auch unmittelbar nach der Belastung keine niedrigeren Werte als die Kontrollen. Beide Kurven haben ihr Maximum Anfang August erreicht und nehmen danach langsam wieder ab. Eine Recovery an zwei aufeinanderfolgenden Tagen konnte bis zum Ende der Versuche nicht nachgewiesen werden. Level 1 verhält sich annähernd wie der Kontrollbereich und zeigt ein schwaches Ansteigen der Kurve nur an zwei Tagen der Probenahmen. Nach diesen Beobachtungen spielen offensichtlich primäre und sekundäre Effekte eine Rolle. So werden die Copepoda zunächst durch das Cypermethrin in Level 2 und 3 geschwächt, um danach einen rasanten Zuwachs durch das Wegfallen der invertebraten Jäger zu erfahren.



**Abbildung 3.27:** Abundanz Copepoda 2005; Belastungsgruppen

Die unterschiedliche Bepflanzung hat auf die Copepoden-Abundanz keinen Einfluss, denn die Abundanzverläufe für alle Gruppen verlaufen im Kontrollbereich.

Bei den Copepoda wurden verschiedene Familien und Klassifizierungen berücksichtigt. Es wurden Diaptomidae und Cyclopidae gefunden. Die daraus bestimmten Arten wurden weiter nach ihrem Entwicklungsstadium eingeteilt. Es wurde zwischen Nauplius-Larven, Copepoditen und Adulten unterschieden. Die Nauplien konnten allerdings keiner bestimmten Art zugewiesen werden. Die Abundanz der Nauplien ist also für beide Familien zu werten.

*Eudiaptomus gracilis* zeigt sowohl für das copepodite als auch für das adulte Stadium einen ähnlichen Verlauf (siehe Abb. 3.28 und 3.29). Zunächst scheinen primäre Effekte das Bild zu bestimmen, danach dominieren sekundäre Effekte. Welches der beiden Entwicklungsstadien dabei sensitiver reagiert, lässt sich nicht eindeutig feststellen. Jedenfalls nähern sich die Werte bei den Copepoditen schneller denjenigen der Kontrollen als bei den adulten Stadien. Eine Recovery kann bis zum Ende der Versuchsperiode nur für Level 1 festgestellt werden.

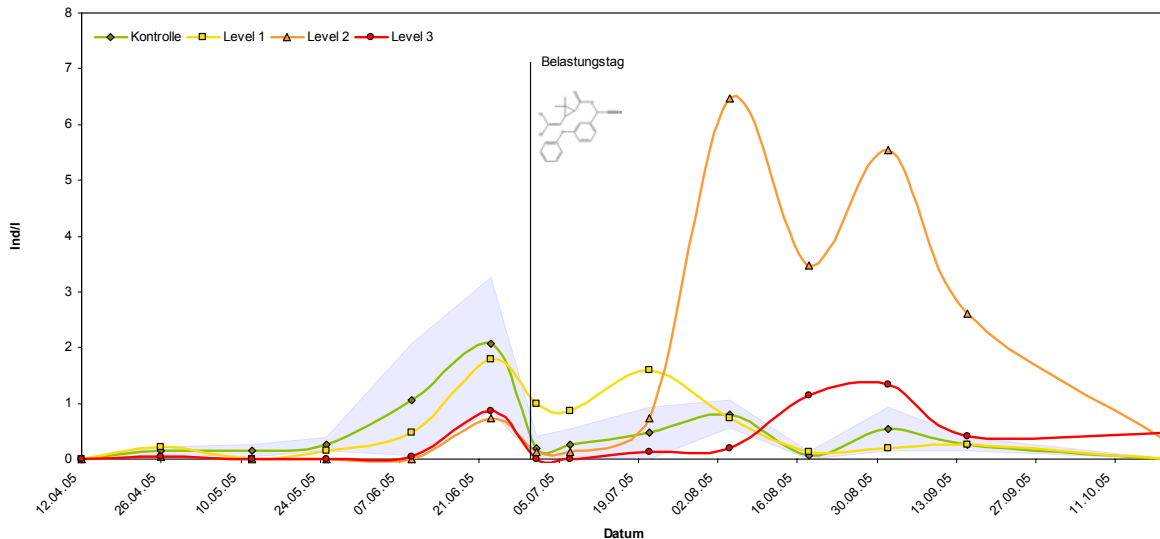


Abbildung 3.28: Abundanz *Eudiaptomus gracilis* (Copepoditen) 2005; Belastungsgruppen

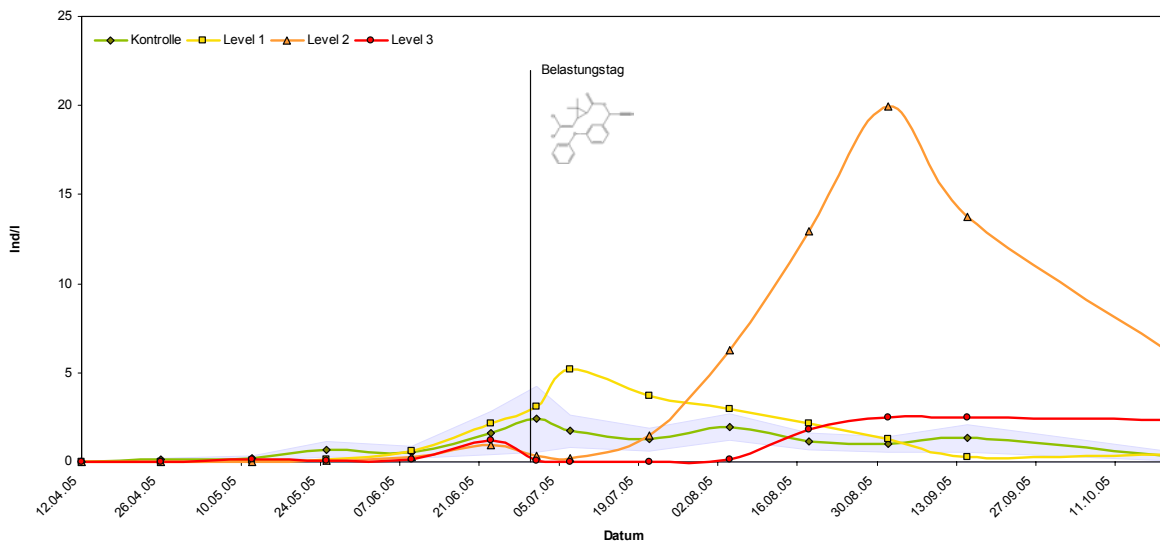


Abbildung 3.29: Abundanz *Eudiaptomus gracilis* (Adulte) 2005; Belastungsgruppen

Bei *Cyclops spec.* scheinen die primären Effekte nicht so ausgeprägt (Abb. 3.30 und Abb. 3.31). In Level 3 zeigt sich sowohl für Copepoditen als auch für Adulte nur unmittelbar nach der Belastung eine kurze Periode, in der die Abundanzen reduziert sind. Diese wird gefolgt von einem Anstieg der Population. Level 2 zeigt für diese Familie aber so gut wie keinen primären Effekt. Die Individuenzahl steigt direkt nach der Belastung stark an. Für Level 1 sind bei den Cyclopiden so gut wie keine Effekte zu erkennen. Die Kurve verläuft annähernd wie die der Kontrollen. Die Population der Belastungsgruppen (Level 2 und 3) entspricht für die Adulten bereits Anfang September wieder den Kontrollbedingungen und auch die copepoditen Individuen zeigen einen starken Trend in diese Richtung. Dennoch bleiben die Werte bis zum Ende der Studie leicht erhöht. In dieser Familie scheinen also die Copepoditen etwas sensibler auf die Belastung zu reagieren.

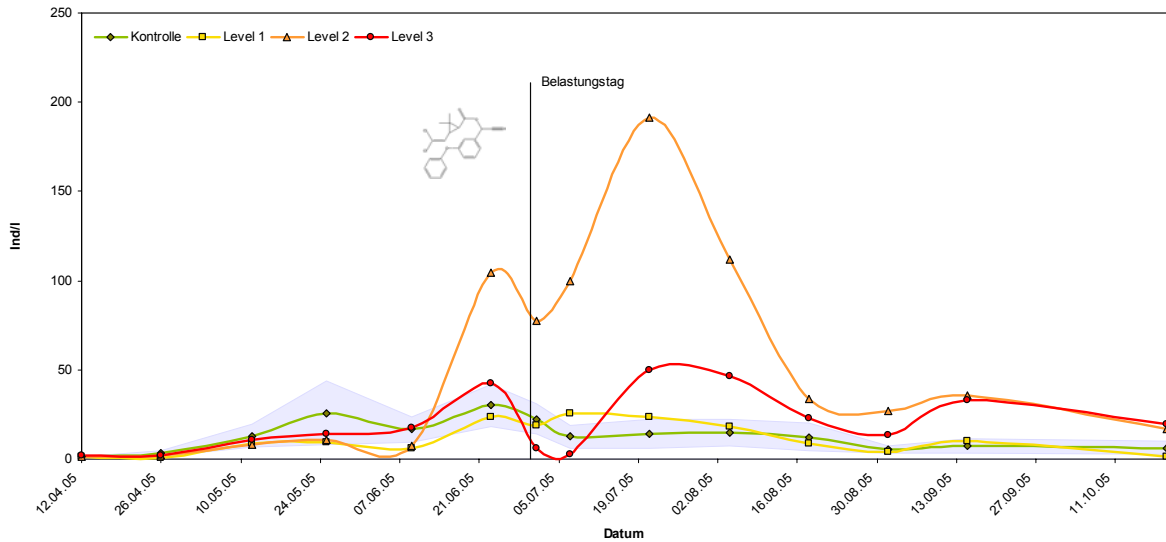


Abbildung 3.30: Abundanz *Cyclops spec.* (Copepoditen) 2005; Belastungsgruppen

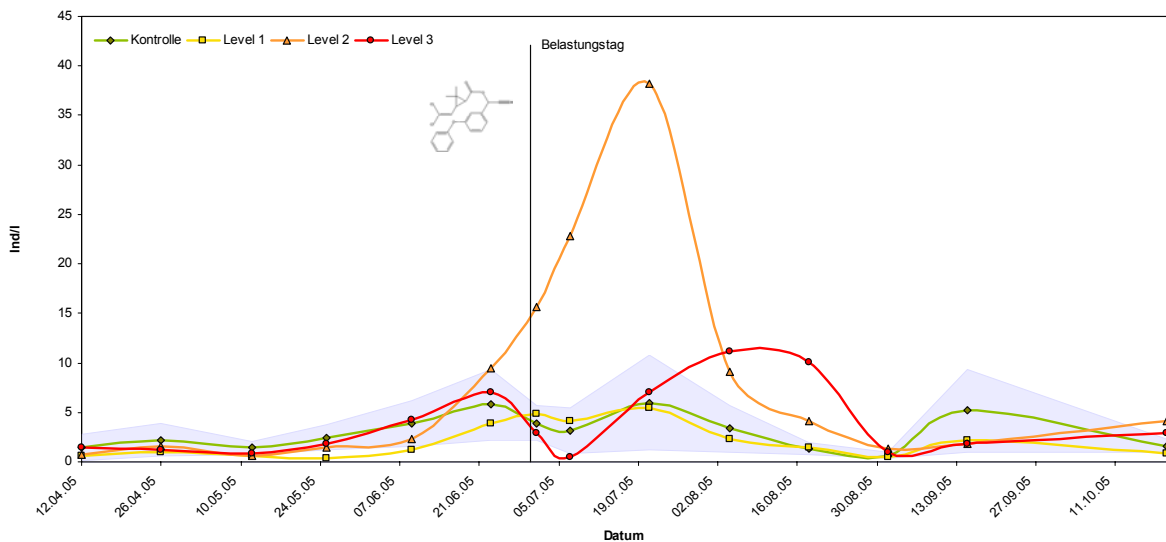


Abbildung 3.31: Abundanz *Cyclops spec.* (Adulte) 2005; Belastungsgruppen

Nachdem die Population der Nauplien zahlenmäßig das Bild der Copepoden-Abundanz dominiert, entspricht deren Verlauf dem der Gesamtgruppe (vgl. Abb. 3.27). Es finden sich hauptsächlich sekundäre, aber für Level 3 auch primäre Effekte infolge der Belastung. Level 1 zeigt nur schwache sekundäre Effekte.

Für die Copepoden kann allgemein festgehalten werden, dass beide Familien primäre und sekundäre Effekte zeigen. *Eudiaptomus gracilis* zeigt in Level 2 und 3 stärkere primäre Effekte, wohingegen *Cyclops spec.* eher sekundäre Effekte aufweist. Bezüglich der sekundären Effekte ist die Wirkung in Level 3 für beide Arten nicht so stark ausgeprägt. Dies könnte daran liegen, dass primäre, populationschwächende Effekte sekundären, populationsstärkenden Effekten entgegenwirken und deshalb eine nicht so ausgeprägte Zunahme der Population zeigen. In Bezug auf Level 1 zeigt *Eudiaptomus gracilis* eine deutlich stärkere Zunahme als *Cyclops*. Die Nauplien zeigen mit Abstand den größten Effekt. Dies liegt aber meiner Meinung nach nicht daran, dass Nauplien sensibler reagieren. Eine mögliche Interpretation

dafür wäre, dass die starke Zunahme hauptsächlich aus der zahlenmäßig überlegenen Nachkommengeneration resultiert, die sich aufgrund des Wegfalls der Räuber ungehindert entwickeln kann. Die Ergebnisse werden von anderen Studien bestätigt, die ebenfalls direkte und indirekte Effekte auf Copepoden feststellen konnten (Mulla, 1992; Brock *et al.*, 2004; Medina *et al.*, 2004).

### 3.2.8 Diversität

Wie in den Abbildungen 3.32 und 3.33 ersichtlich, verlaufen sowohl Shannon Index als auch die Evenness relativ parallel zur Kontrolle. Unmittelbar nach der Belastung erkennt man in Level 3 einen starken Rückgang der Diversität. Außerdem sind ab Anfang September in Belastungsstufe 2 und 3 länger anhaltende negative Abweichungen zu beobachten. Für Level 3 bleibt die Abweichung bis zum Ende der Studie erhalten. Die Diversität nimmt also in beiden höchsten Belastungsstufen leicht ab, erholt sich bis zum Ende der Studie aber annähernd. Bei der Evenness ist annähernd der gleiche Verlauf der Kurve zu erkennen.

Für beide Kurven ist zu bemerken, dass im Jahresverlauf die Tendenz in Richtung höherer Diversität und Gleichverteilung aller Arten zu erkennen ist.

Bei Betrachtung der Diversitätsindizes im Zusammenhang mit der Bepflanzung zeigen die Ergebnisse im Versuchsjahr 2004 eine höhere Diversität und Gleichverteilung für die Pflanzgruppen 3 bis 5. Da beide Kurven ähnlich verlaufen, ist in Abbildung 3.34 nur die Evenness dargestellt. Unterschiedliche Diversität, resultierend aus der Cypermethrin-Belastung, konnte für die einzelnen Pflanzgruppen aber nicht festgestellt werden.

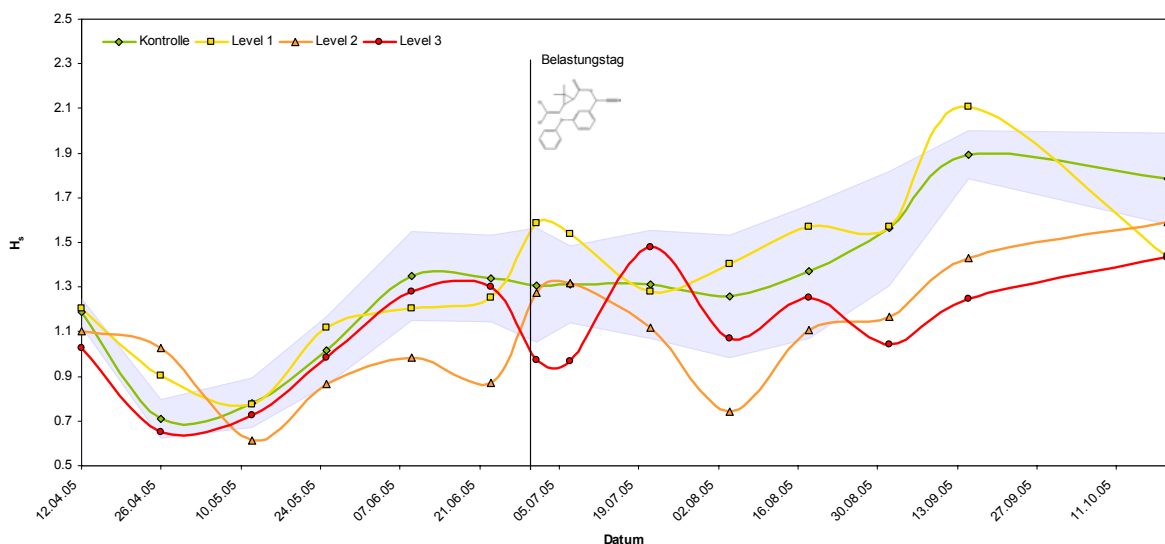


Abbildung 3.32: Shannon Index Zooplankton 2005; Belastungsgruppen



## Ergebnisse und Diskussion

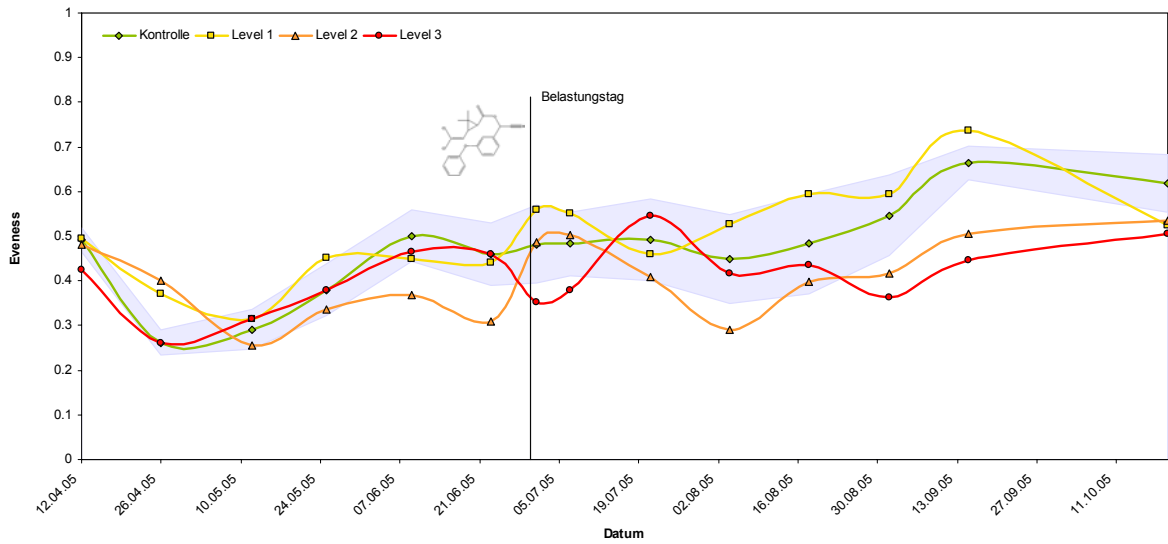


Abbildung 3.33: Evenness Zooplankton 2005; Belastungsgruppen

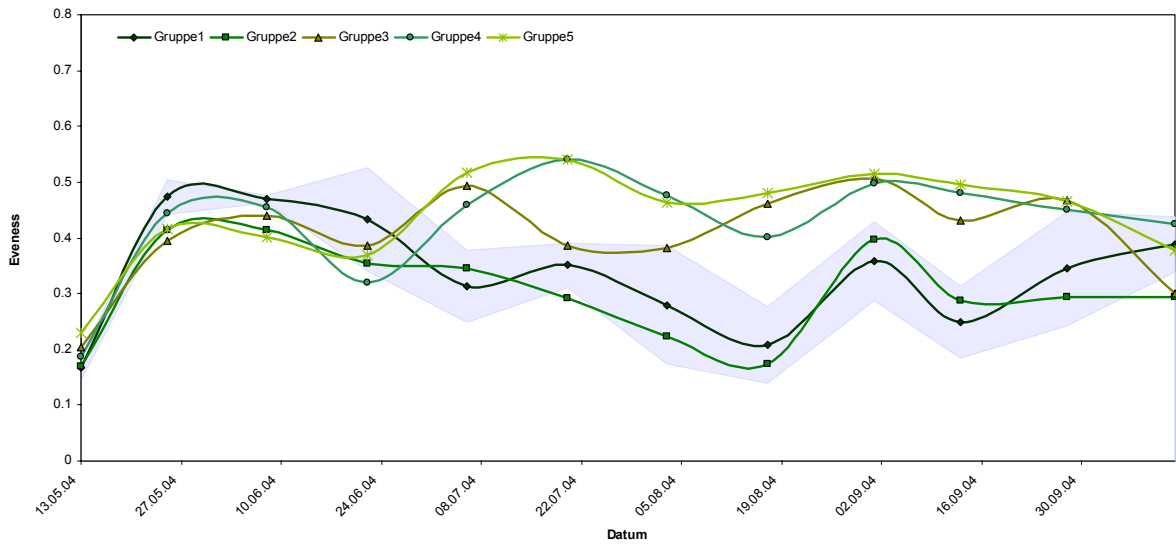


Abbildung 3.34: Evenness Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppen

### 3.2.9 PRC-Analyse

Abbildung 3.35 zeigt die graphische Auswertung der  $C_{dt}$ -Werte für das Zooplankton. Bis zum Tag der Applikation verlaufen alle drei Level im Bereich der Kontrolle. Danach ist ein direkter konzentrationsabhängiger Zusammenhang mit den drei Belastungsstufen zu erkennen. So ist der beobachtete Effekt in Level 3 am größten und in Level 1 am schwächsten. Deutlich zu erkennen ist ebenfalls, dass sich Level 1 ab Mitte September wieder erholt hat. Level 2 und 3 zeigen noch bis zum Ende der Studie starke Abweichungen.

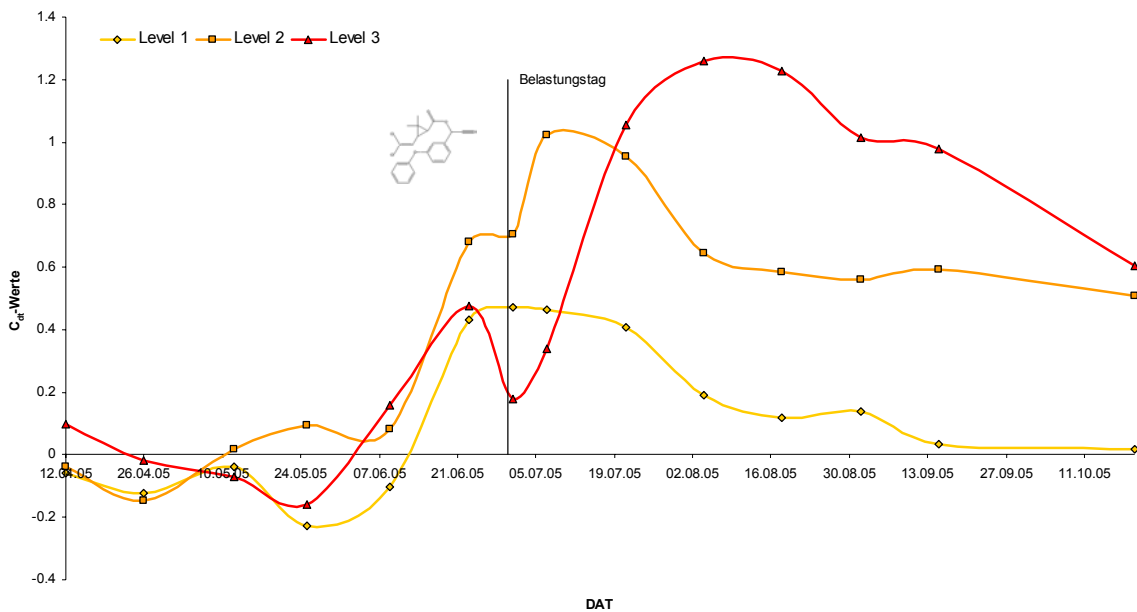


Abbildung 3.35: PRC Zooplankton 2005

Die Varianz ist entsprechend der Analyse durch folgende Zusammenhänge zu erklären (Tabelle 3.3):

<b>Summary:</b>	
31.30%	der Varianz sind durch Zeiteffekte zu erklären
14.60%	der Varianz sind durch die Behandlung mit Cypermethrin zu erklären
18.10%	der Varianz sind durch die unterschiedliche Bepflanzung zu erklären
36.00%	der Varianz bleiben unerklärt
30.10%	dieser Varianzen sind von der abgebildeten PRC dargestellt worden

Tabelle 3.3: Varianzanalyse zur PRC Zooplankton 2005

Gemäß der Analyse ist der durch die Bepflanzung hervorgerufene Effekt größer als es die bisherigen Ergebnisse vermuten ließen. Außerdem fallen die relativ niedrigen Werte zur Erklärung der Varianzen auf. In anderen Studien liegen für ökologische Untersuchungen die Varianzen bei 30 – 40 % (Van den Brink *et al.*, 1996). Auch für die Belastung mit Cypermethrin sind die Zuordnungen beim Zooplankton in anderen Studien (Grünwald, 2003; Funk, 2004; Dawo, 2005) mit Werten zwischen 30 % und

50 % höher als in der vorliegenden Analyse. Die durchweg relativ niedrigen Werte der Varianzanalyse resultieren daraus, dass innerhalb der Belastungsgruppen relativ viel Variabilität durch die unterschiedlichen Bepflanzungsgruppen auftrat. Desgleichen gilt umgekehrt eine relativ hohe Variabilität in den einzelnen Bepflanzungsgruppen.

Dennoch sind die Ergebnisse der PRC mit  $p = 0,022$  signifikant. Betrachtet man die zugehörigen Species-Scores, so zeigt sich, wie gut der Verlauf der PRC mit den einzelnen Arten in Verbindung gebracht werden kann (vgl. 2.5.4). Es bestätigen sich die Verläufe und Effekte, wie sie bereits bei der Auswertung der Abundanz beschrieben wurden. So zeigt sich auch in der PRC, dass beispielsweise bei *Keratella* indirekte Effekte besonders ausgeprägt sind, oder bei *Ostracoda* direkte Effekte dominieren (Tabelle 3.4).

<b>Art</b>	<b>Species-Scores</b>
<i>Keratella cochlearis</i>	3.8042
<i>Keratella quadrata</i>	3.0318
<i>Cyclops</i> spec. (Copepodit)	1.7004
<i>Hexarthra mira</i>	1.6457
Nauplia	1.5794
<i>Cyclops</i> spec. (Adult)	1.4328
<i>Ostracoda</i> ssp.	-0.5066
<i>Graptoleberis testudinaria</i>	-0.5385
<i>Euchlanis dilatata</i>	-0.6081
<i>Alonella nana</i>	-0.8934

**Tabelle 3.4:** Species-Scores der PRC Zooplankton 2005

Analysiert man die Daten aus Versuchsjahr 2004 um einen Fokus auf die verschiedenen Pflanzgruppen zu setzen, so zeigt sich auch hier mit  $p = 0,006$  ein hochsignifikanter Zusammenhang. Abbildung 3.36 zeigt diese Einflüsse anhand der graphischen Darstellung der  $C_{dt}$ -Werte. Hier erkennt man, dass die Bepflanzungsgruppen 4 und 5 sehr starke Abweichungen von Pflanzgruppe 1 zeigen. Pflanzgruppe 1 wurde bei dieser Analyse anstelle der Kontrolle verwendet. Auch die Bepflanzungsgruppen 2 und 3 zeigen Abweichungen, die allerdings nicht so ausgeprägt sind. Die beobachtete Varianz kann dabei folgendermaßen erklärt werden:

<b>Summary:</b>	
35.40%	der Varianz sind durch Zeiteffekte zu erklären
21.60%	der Varianz sind durch die unterschiedliche Bepflanzung zu erklären
43.00%	der Varianz bleiben unerklärt
32.80%	dieser Varianzen sind von der abgebildeten PRC erfasst worden

**Tabelle 3.5:** Varianzanalyse der PRC Zooplankton 2004

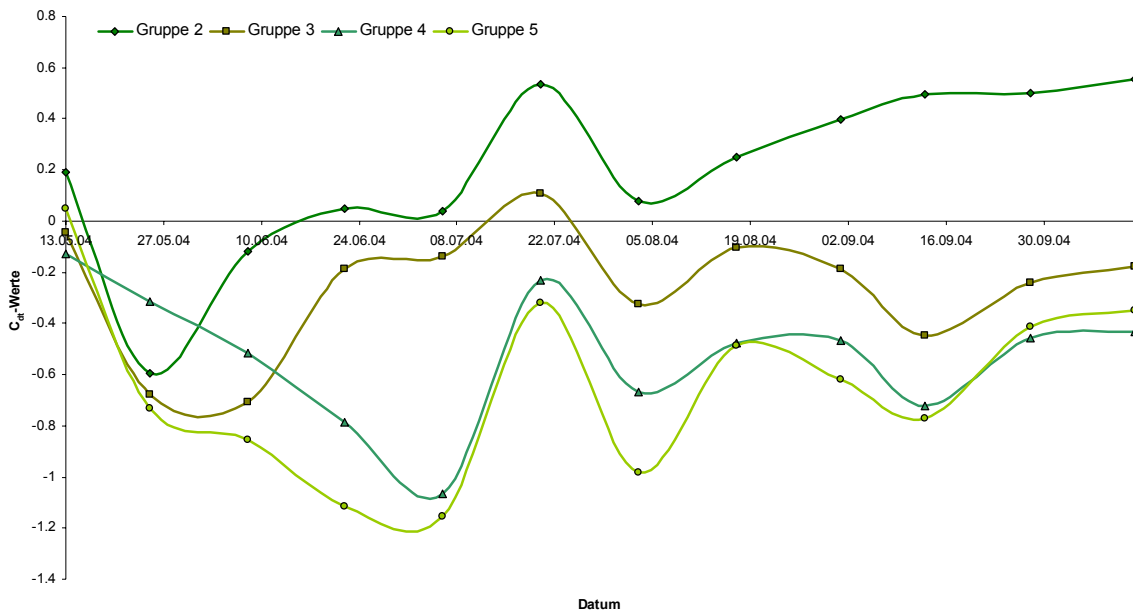


Abbildung 3.36: PRC Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppen

Die Zuordnung der einzelnen Arten zeigen die Species-Scores in Tabelle 3.6. So offenbaren sich besonders bei *Ceratium hirudinella*, ein Dinoflagellat, der aufgrund seiner Größe bei der Zooplanktonzählung miterfasst wurde, bepflanzungsabhängige Effekte. Auch die anderen Species-Scores bestätigen die bereits bei den Abundanzdaten gemessenen Ergebnisse.

Art	Species-Scores
<i>Ceratium hirudinella</i>	3.4161
<i>Polyarthra spec.</i>	2.3897
<i>Alona costata</i>	1.875
<i>Keratella cochlearis</i>	1.77
<i>Ostracoda ssp.</i>	1.4438
<i>Simocephalus vetulus</i>	1.4252
<i>Alonella nana</i>	1.2621
<i>Cyclops spec. (Adult)</i>	1.0534
<i>Cyclops spec. (Copepodit)</i>	1.0283
<i>Mytilina spec.</i>	0.9065
<i>Lecane spec. (Monostyla)</i>	0.8509
<i>Chydorus sphaericus</i>	0.5944
<i>Euchlanis dilatata</i>	0.5407
<i>Eudiaptomus gracilis (Adult)</i>	0.5126
<i>Daphnia longispina</i>	-0.4982
<i>Collotheca spec.</i>	-1.1423

Tabelle 3.6: Species-Scores der PRC Zooplankton 2004

Nachdem die statistische Auswertung eindeutige Zusammenhänge mit der Bepflanzung zeigte, war die Überlegung nahe liegend, ob mit den Methoden der multivariaten Statistik die Sensitivität der einzelnen Pflanzgruppen gezeigt werden konnte. Um diese Zusammenhänge zu klären wurden mehrere separate PRC-Analysen für jeweils unterschiedliche Pflanzgruppen durchgeführt. Bei der ersten PRC wurden Gruppen 1, 2 und 3 (PRC 1), bei der zweiten PRC die Gruppen 2, 3 und 4 (PRC 2) und bei der dritten PRC die Gruppen 3, 4 und 5 (PRC 3) zusammengefasst. Hier zeigte sich, dass die Ergebnisse nur für PRC 3 mit  $p = 0,038$  signifikant waren. Die Species-Scores entsprechen für alle drei PRCs denen aus Tabelle 3.4. Betrachtet man den Verlauf der einzelnen Kurven im Hinblick auf diejenigen Arten mit positiven Species-Scores, so wird deutlich, dass mit abnehmender Bepflanzung (PRC 1 > PRC 2 > PRC 3) direkte Effekte dominieren und umgekehrt mit zunehmender Bepflanzung mehr indirekte Effekte greifen (Abb. 3.37). Dies wird besonders an den ersten Terminen nach der Belastung (01.07.05 und 07.07.05) deutlich und ist für Level 3 besonders ausgeprägt.

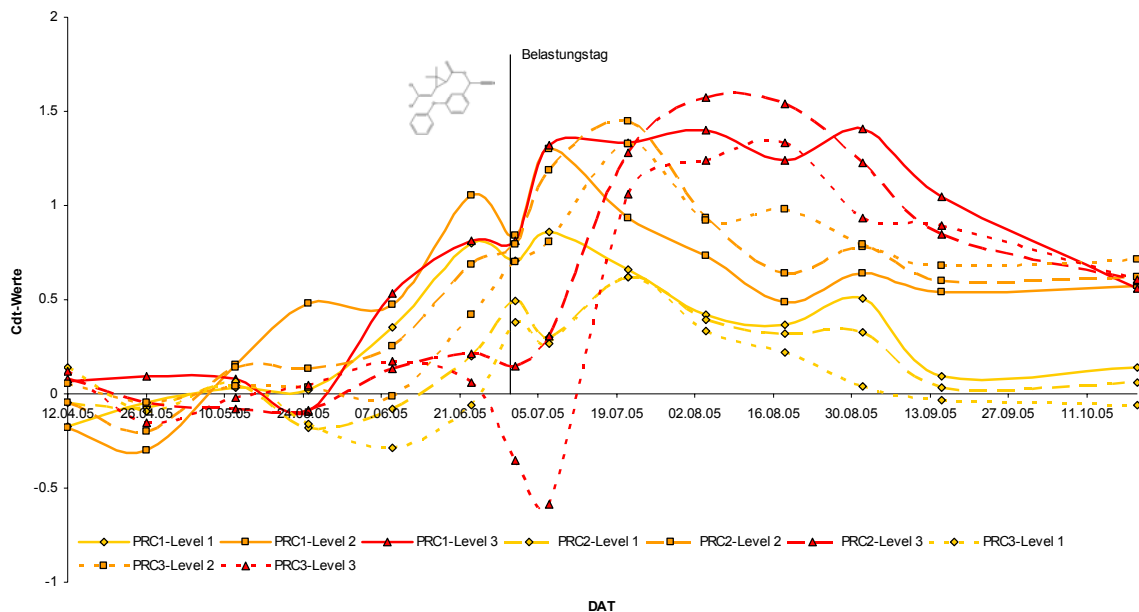


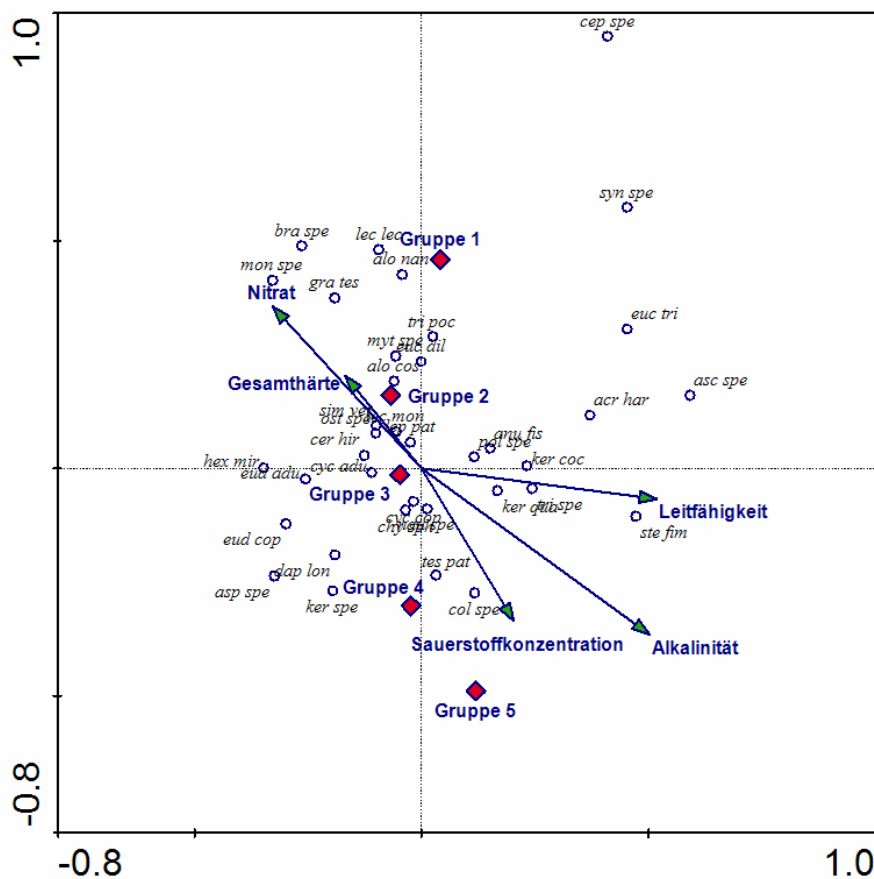
Abbildung 3.37: PRC 1, PRC 2 und PRC 3 Zooplankton bepflanzungsabhängig 2005

Das Ergebnis ist erwartungsgemäß, da Cypermethrin mit einem sehr hohen  $K_{OC}$  (vgl. 2.2) leicht an Oberflächen adsorbiert (Muir *et al.*, 1985; Maund *et al.*, 2002). Da abhängig von der Art und Dichte der angesiedelten Pflanzen auch die verfügbare Oberfläche variiert, ist je nach Bepflanzungsgruppe von unterschiedlichen Effekten auszugehen. Besonders in den Pflanzgruppen mit *Myriophyllum* und *Elodea* ist dabei mit einer geringeren Bioverfügbarkeit zu rechnen, da diese Pflanzen eine viel größere Oberfläche als *Potamogeton* aufweisen (Castella *et al.*, 1995). Außerdem spielt die Bepflanzung für Zooplankter auch als Schutzfaktor vor Fraßfeinden eine Rolle (Nurminen *et al.*, 2001; Nurminen und Horppila, 2002). Eine dichtere Bepflanzung bietet mehr Schutz und kann somit indirekte Effekte begünstigen.

### 3.2.10 Kanonische Korrespondenz Analyse

Um auch nicht lineare Zusammenhänge zu erkennen wurde mit den physikalisch-chemischen Messwerten und den biologischen Daten eine CCA durchgeführt. Dabei wurden zunächst mittels „forward-selection“ Monte Carlo Tests durchgeführt um Zusammenhänge mit signifikantem Einfluss aufzuzeigen.

Zusammenhänge zwischen Bepflanzung, Zooplanktongesellschaft und physikalisch-chemischen Werten zeigen die Ergebnisse der CCA mit den Daten von 2004. Dabei zeigten sich signifikante Werte ( $p < 0,05$ ) für Gesamthärte, Bepflanzung, Nitrat, Sauerstoffkonzentration (oberer Wasserkörper), Alkalinität und Leitfähigkeit. Abbildung 3.38 zeigt diese Zusammenhänge in einem Biplot.



**Abbildung 3.38:** Zusammenhänge zwischen Bepflanzung, Zooplanktongesellschaft und signifikanten Messwerten 2004

Deutlich zu erkennen sind die unterschiedlichen Positionen der Bepflanzungsgruppen, die sich bereits bei der Auswertung der Abundanz-Daten gezeigt hatten (siehe oben).

### 3.3 Makroinvertebraten

Bei der Zählung der Makroinvertebraten wurden 35 verschiedene Arten erfasst. Ein Großteil davon ist der Klasse der Insekten zuzuordnen. Die Arten und die dazugehörige Taxonomie sind folgender Tabelle zu entnehmen:

Stamm	Klasse	Ordnung	Familie	Gattung	Art	
Annelida	Clitellata	Hirudinea	Erpobdellidae	<i>Erpobdellidae</i>	spec.	
			Glossiphonidae	<i>Glossiphonidae</i>	spec.	
		Oligochaeta	Naididae	<i>Chaetogaster</i>	<i>limnaei</i>	
				<i>Naididae</i>	spec.	
		Tubificidae	<i>Tubificidae</i>	spec.		
Arthropoda	Arachnida	Arachnoidea	Hydrachnellae	<i>Acari</i>	spec.	
	Crustacea	Isopoda	Asellidae	<i>Asellus</i>	<i>aquaticus</i>	
	Insecta	Coleoptera	Curculionidae	<i>Eubrychius</i>	<i>velutus</i>	
				Dytiscidae	<i>Dytiscidae</i>	spec.
			<i>Guignotus</i>		<i>pusillus</i>	
			<i>Haliplus</i>		spec.	
			<i>Hydroporus</i>		spec.	
			Hydraenidae	<i>Helophorus</i>	spec.	
			Diptera	Ceratopogonidae	<i>Bezzia</i>	spec.
				Chaoboridae	<i>Chaoborus</i>	<i>crystallinus</i>
				Chironomidae	<i>Chironomidae</i>	spec.
					<i>Tanypodinae</i>	spec.
		Culicidae		<i>Anopheles</i>	spec.	
			<i>Culex</i>	spec.		
		Ephemeroptera	Baetidae	<i>Cloeon</i>	spec.	
			Caenidae	<i>Caenis</i>	spec.	
		Heteroptera	Gerridae	<i>Gerris</i>	spec.	
			Notonectidae	<i>Notonecta</i>	<i>glauca</i>	
			Pleidae	<i>Plea</i>	<i>leachi</i>	
		Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Nymphula</i>	<i>nitidulata</i>	
		Odonata	Anisoptera	<i>Anisoptera</i>	spec.	
			Zygoptera	<i>Zygoptera</i>	spec.	
		Trichoptera	Phryganeidae	<i>Phryganeidae</i>	spec.	
Mollusca		Bivalvia	Veneroidea	Sphaeriidae	<i>Pisidium</i>	spec.
		Gastropoda	Pulmonata	Lymnaeidae	<i>Lymnaea</i>	<i>stagnalis</i>
	<i>Radix</i>				spec.	
	Physidae			<i>Physa</i>	<i>fontinalis</i>	
	Planorbidae			<i>Planorbidae</i>	spec.	
Rissoacea	<i>Bithynia</i>	<i>tentaculata</i>				
Platyhelminthes	Turbellaria	Turbellaria	Turbellaria	<i>Turbellaria</i>	spec.	

Tabelle 3.7: Taxonomie der Makroinvertebraten

Bei den meisten Arten wurde eine weitere Differenzierung in Larve, Puppe und Adult vorgenommen. Das Larvenstadium von *Chaoborus crystallinus* wurde je nach Entwicklung in drei verschiedene Stadien unterteilt: Instar I,II (< 0,5 cm), Instar III (0,5 – 1 cm) und Instar IV (> 1 cm).

### 3.3.1 Artenreichtum

Bei Betrachtung des Artenreichtums im Versuchsjahr 2004 erkennt man, dass in Pflanzgruppe 1 über den Großteil des Jahres mehr Arten vertreten sind, als in den restlichen Gruppen (Abb. 3.39). Besonders in Pflanzgruppe 4 und 5 sind im Vergleich zum Rest sehr niedrige Zahlen festzustellen. Ab September sind die Werte aller Enclosures im Bereich der Vergleichsgruppe. Außerdem sinkt der Artenreichtum gegen Ende des Versuchszeitraumes in alle Gruppen. Das Abfallen der Werte gegen Ende ist mit der jahreszeitlich bedingten Entwicklungspause der Invertebraten zu erklären.

Die starken Unterschiede bezüglich des Bepflanzungstyps sind dadurch zu erklären, dass sich Makroinvertebraten bevorzugt im Umfeld von Wasserpflanzen aufhalten. Je nach Art spielen dabei Faktoren wie Nahrungsangebot, Versteck oder eine entwicklungsbedingte Assoziation an die Pflanzen eine Rolle. So zeigen auch andere Studien in natürlicher Umgebung einen direkten Zusammenhang zwischen Artenreichtum der Makroinvertebraten und Art des Makrophytenbewuchses (Poepperl, 1992; Cheruvilil *et al.*, 2000; Tolonen *et al.*, 2005).

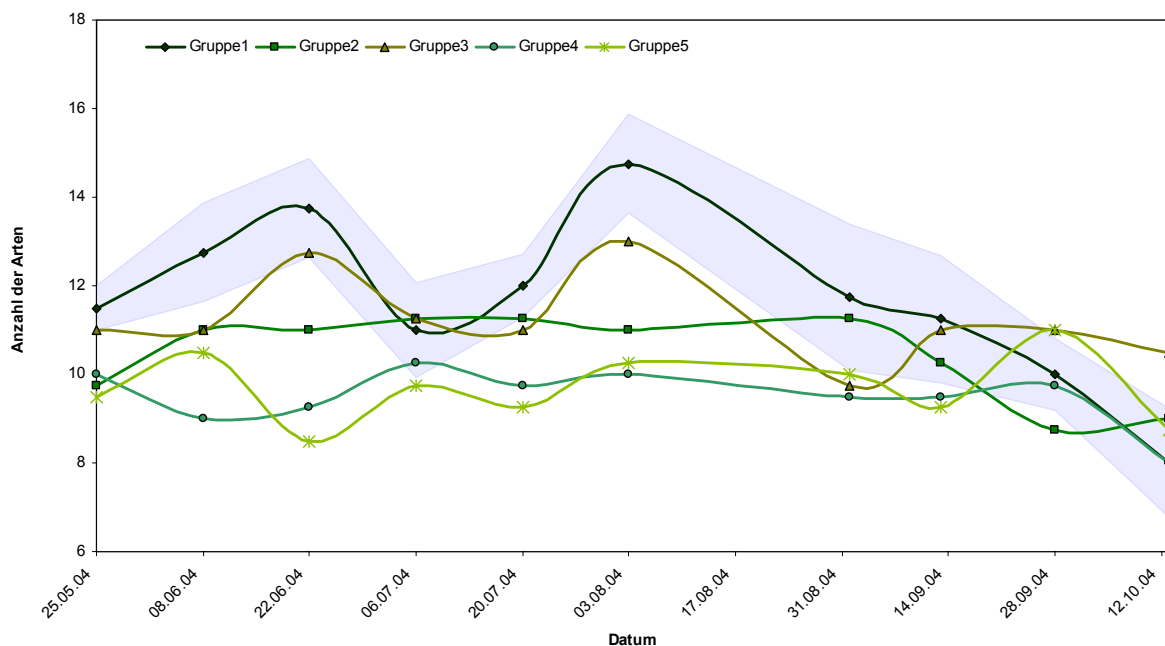


Abbildung 3.39: Anzahl der Makroinvertebratentaxa 2004; Bepflanzungsgruppen

Auch hinsichtlich der Belastung sind sehr deutliche Effekte zu erkennen (siehe Abb. 3.40). Verläuft die Anzahl der Arten vor der Belastung für alle Gruppen noch deutlich im Kontrollbereich, so sinkt unmittelbar nach der Belastung der Artenreichtum abhängig vom Belastungslevel um bis zu 77 %. Für Level 1 erholen sich die Werte am schnellsten und sind Anfang September im Bereich der Kontrollen. Obwohl für Level 2 und 3 der Artenreichtum ebenfalls zunimmt, kann aber in diesen Gruppen bis zum Ende der Studie keine anhaltende Recovery festgestellt werden.



Da Cypermethrin für viele Makroinvertebraten hoch toxisch ist (Orme und Kegley, 2004), sind diese Ergebnisse nicht verwunderlich. Wie diese Toxizität auf die einzelnen Arten wirkt, wird in den folgenden Kapiteln ersichtlich.

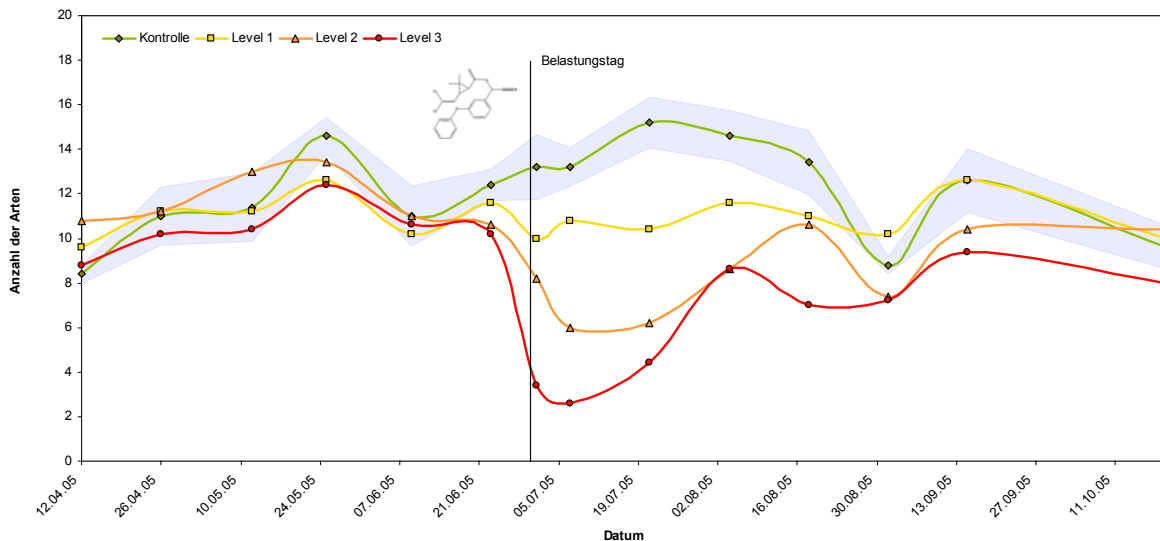


Abbildung 3.40: Anzahl der Makroinvertebratentaxa 2005; Belastungsgruppen

### 3.3.2 Dominanzen

Die folgenden Auswertungen wurden anhand der gefundenen Klassen durchgeführt. Die Dominanzverhältnisse sind im Fall der Kontrollgruppe relativ gleichförmig über das Jahr verteilt (vgl. Abb. 3.41). Man erkennt deutlich, dass bei der Gruppe der Makroinvertebraten hauptsächlich drei Klassen vertreten sind: Insecta, Gastropoda und Crustacea. Mit Abstand am dominantesten sind die Insekten. Die restlichen Klassen (Clitellata, Plathelminthes, Bivalvia und Arachnida), machen nur einen kleinen Anteil an der Gesamtpopulation aus.

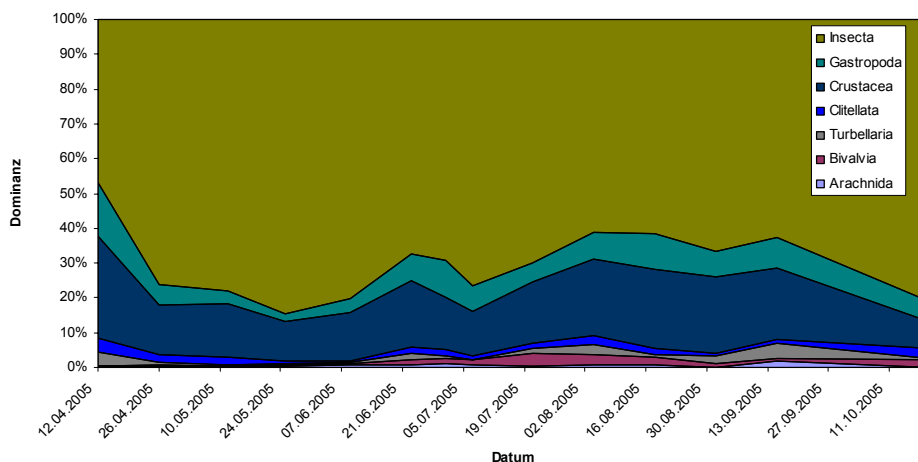


Abbildung 3.41: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Kontrolle

Auch bei der Belastungsstufe 1, mit 0,02 µg/l Cypermethrin, ist das Dominanzverhältnis ähnlich dem der Kontrollen und mit anhaltend uniformer Verteilung im Jahresverlauf (Abb. 3.42).

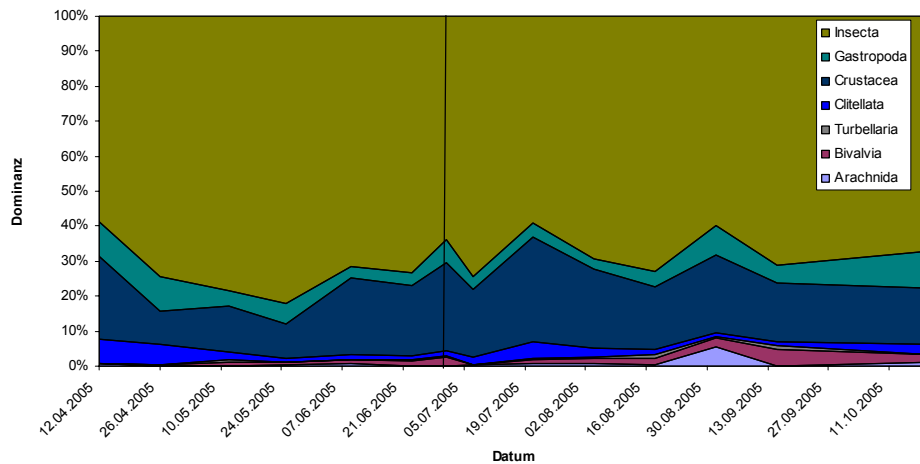


Abbildung 3.42: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Level 1

Für die Verhältnisse in Belastungsstufe 2 und 3 ändert sich dieses Bild gewaltig (siehe Abb. 3.43 und 3.44). So erkennt man bereits in Level 2 nach der Applikation eine deutliche Abnahme der Dominanz der Insecta um ca. 25 %. Auch die Klasse der Crustacea zeigt nach der Belastung Verluste und verzeichnet einen Rückgang der Präsenz von 19 % auf 4 %. Diese Verluste gehen in Bezug auf die Dominanz zugunsten der Klassen Clitellata und Gastropoda. Allerdings basiert dieser Zuwachs nicht auf einer Zunahme der Abundanz in diesen Klassen, sondern einzig auf der Abnahme der Abundanz der Insecta und Crustacea infolge der Belastung (vgl. 3.3.3).

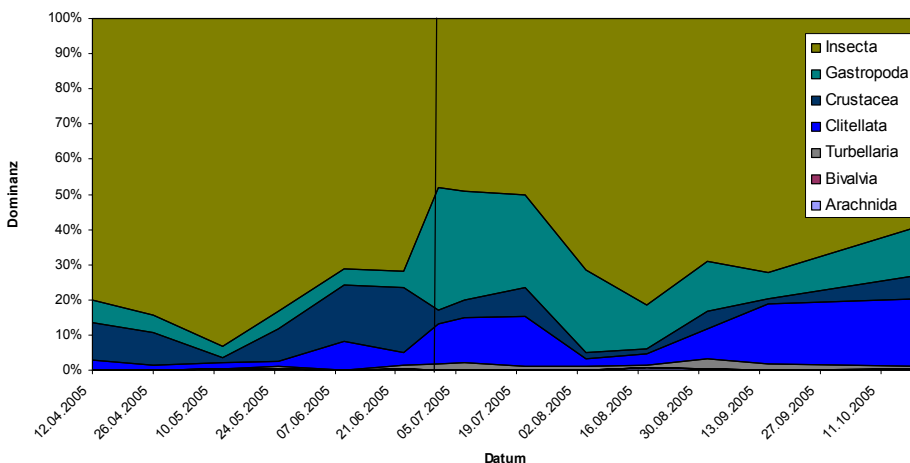
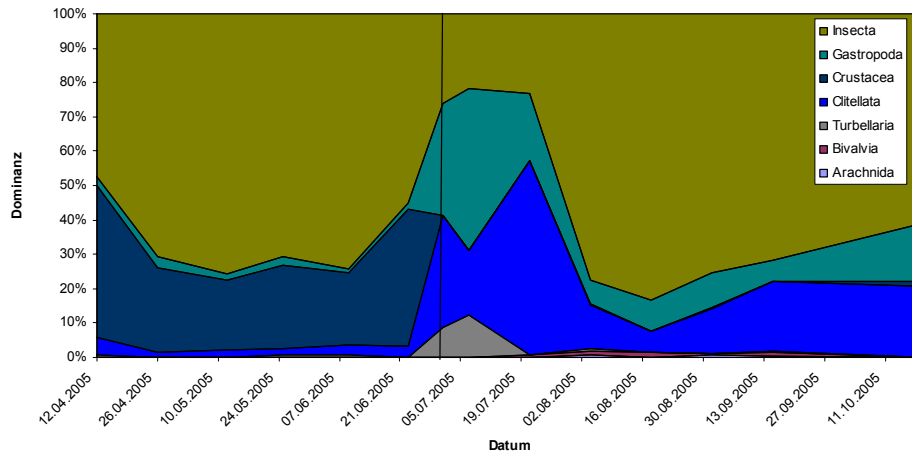


Abbildung 3.43: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Level 2

In Level 3 (Abb. 3.44) sind die Einflüsse durch das Cypermethrin so stark, dass die Dominanz der Insecta auf ca. 20 % sinkt. Allerdings steigt die Abundanz auch relativ bald wieder und hat Anfang August mit Dominanzwerten von 80 % sogar einen größeren Anteil als in den Kontrollen. Crustaceen verschwinden ab dem 01.07.05

zunächst fast vollständig von der Bildfläche und zeigen erst gegen Ende des Jahres wieder leichte Zunahmen. Besonders in Level 3 scheint die Klasse der Clitellata besonders aus dem Geschehen zu profitieren und zeigt bis zum Ende der Studie im Vergleich zu den anderen Belastungsstufen ein dominanteres Auftreten.



**Abbildung 3.44:** Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Level 3

Betrachtet man die Dominanzverhältnisse mit Fokus auf die Bepflanzung, so kann weder 2004, also unabhängig von der Belastung, noch 2005, in Zusammenspiel mit der Belastung, ein Unterschied erkannt werden. Im Jahr 2004 verlaufen die Dominanzen ganzjährig mit einer ähnlichen Verteilung und unterscheiden sich für die einzelnen Pflanzgruppen nicht voneinander. Im Jahr 2005 sind die Auswertungen zwar variabler, können aber keinem Muster oder Einfluss zugeordnet werden. Betrachtet man die Verhältnisse auf Artebene, so sticht deutlich *Chaoborus crystallinus* heraus. Diese Art ist in allen Enclosures mit Abstand der dominanteste Organismus. Lediglich in den Enclosures mit Belastungs-Level 2 und 3 büßt die Art ihre Vorherrschaft für einige Wochen nach der Belastung ein, da die Abundanzen sehr stark sinken (vgl. 3.3.7).

### 3.3.3 Gesamtabundanz

Im Hinblick auf die Belastung fällt sofort das starke Absinken der Abundanz nach der Belastung ins Auge. Es ist eine deutliche belastungsabhängige Abnahme in allen drei Belastungsstufen zu erkennen. In Level 1 erholen sich diese Werte schnell wieder und liegen für den Rest der Studie sogar über den Werten der Kontrolle. Für Level 2 und 3 sind die Zählungen nach der Belastung relativ identisch. Zwar steigen die Werte langsam im Laufe der Zeit und sind am 20.10.05 im Kontrollbereich, jedoch konnte bis Ende der Studie keine Recovery an mehreren aufeinanderfolgenden Probennahmen festgestellt werden. Bei diesen Effekten handelt es sich eindeutig um primäre Effekte auf das Cypermethrin. Die Beobachtung, dass die Werte für Level 2 und 3 sehr ähnlich sind, könnte daran liegen, dass für Makroinvertebraten, die ja besonders sensitiv auf Pyrethroide reagieren, bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,4 µg/l annähernd maximale Wirkung eingetreten ist. Abbildung 3.45 zeigt die geschilderten Zustände der Gesamtabundanz.

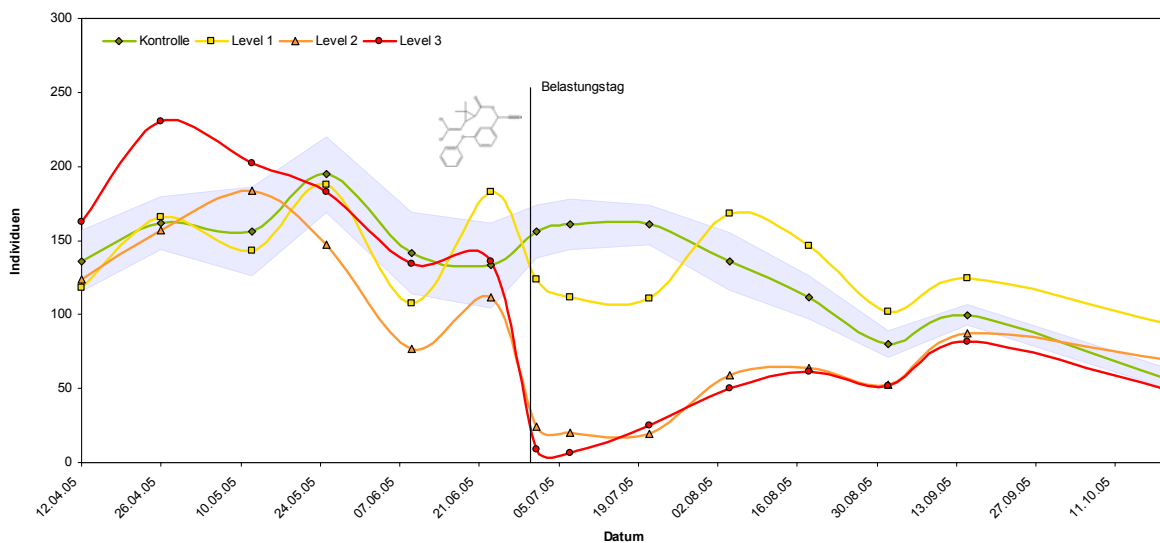
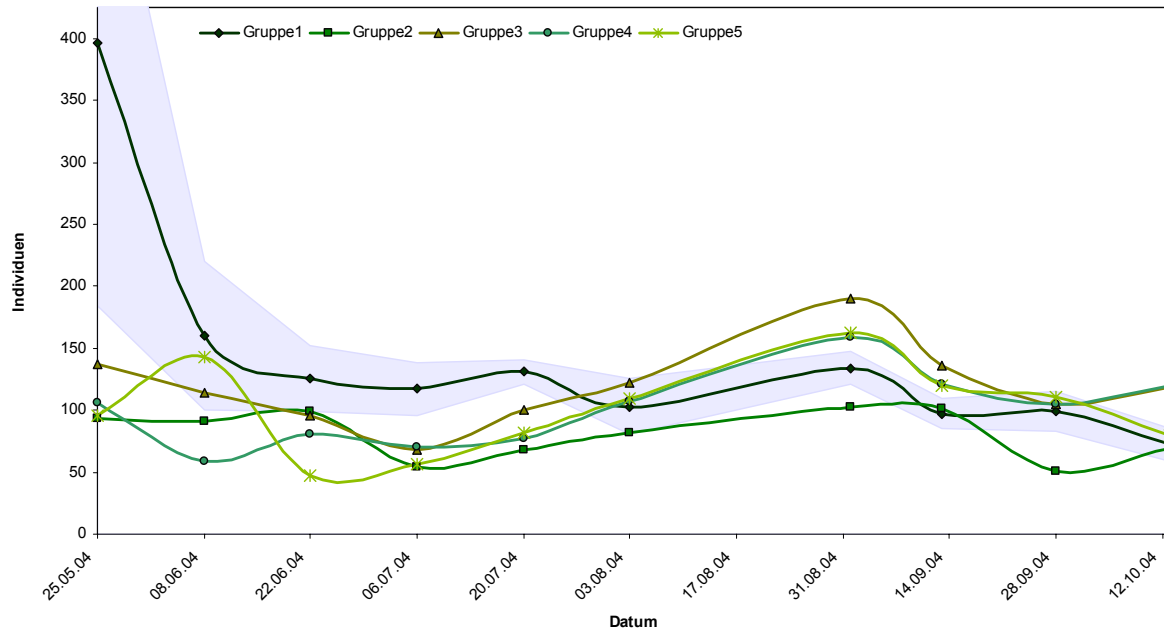


Abbildung 3.45: Gesamtabundanz Makroinvertebraten 2005; Belastungsgruppen

## Ergebnisse und Diskussion

Bezüglich der Bepflanzung sind die Auswirkungen erwartungsgemäß nicht so ausgeprägt. Nur zu Versuchsbeginn war die Gesamtabundanz der Pflanzgruppe 1 deutlich über den Werten der restlichen Gruppen, ab August werden diese Verhältnisse aber aufgehoben. Auch im Versuchsjahr 2005 unter Einfluss des Pyrethroids sind keine eindeutigen Einflüsse auf die Gesamtabundanz festzustellen. In Abbildung 3.46 ist die Abundanz bezüglich der Bepflanzung dargestellt.



**Abbildung 3.46:** Gesamtabundanz Makroinvertebraten 2004; Bepflanzungsgruppen

### **3.3.4 Arachnida, Turbellaria und Bivalvia**

Diese Klassen werden im Folgenden gemeinsam besprochen, da von ihnen jeweils nur ein Vertreter gefunden wurde und sie nur in relativ geringer Abundanz auftraten. Die Klasse der Arachnida ist durch *Acar* spec. in den Enclosures vertreten. Die Art ist nur in sehr niedrigen Zahlen detektiert worden. Zwar sind im Belastungsjahr in Level 2 und 3 weniger Individuen als in den beiden anderen Gruppen zu finden, aber aufgrund der niedrigen Abundanz und der schon vor der Belastung zu erkennenden Schwankung ist diese Beobachtung weniger bedeutend. Auch bezüglich der Bepflanzung können keine Zusammenhänge festgestellt werden.

Turbellarien wurden in leicht höherer Abundanz gefunden. Mit zeitlichem Abstand nach der Applikation erkennt man für die belasteten Enclosures niedrigere Werte als in der Kontrolle. Jedoch ist bei den Turbellarien über den gesamten Zeitraum in allen Enclosures eine starke Schwankung zu erkennen, wodurch die Abweichungen innerhalb des Range-Bereichs der Kontrollen liegen. Bezüglich der Bepflanzung fällt auf, dass während beider Versuchsjahre in Pflanzgruppe 5 (ohne Makrophyten) nur eine einzige Zählung mit Turbellarien registriert wurde, wobei in anderen Gruppen regelmäßig Individuen dieser Klasse gefunden wurden. Nachdem sich Turbellarien hauptsächlich räuberisch ernähren und sich Beuteorganismen hauptsächlich in der Nähe von Wasserpflanzen aufhalten, wäre das eine Erklärung für diese bevorzugten Lebensräume.

*Pisidium* tritt erst 2005 in relevanten Zahlen auf, jedoch auch nicht in allen Enclosures. So konnte in den Enclosures der Belastungsgruppe 2 keine Muschel nachgewiesen werden. Jedoch ist für Level 1 ein deutlicher primärer Effekt auf die Belastung zu erkennen (Abb. 3.47). Die Abundanz erholt sich bis Anfang August und erreicht im September sogar höhere Werte als die Kontrollen. In Level 3 sind ab Mitte Juli niedrige Abundanzen gefunden worden, die im Verlauf leicht angestiegen sind. Nachdem *Pisidium* in seiner Entwicklung stark von der Temperatur abhängig ist (Thiel, 1928) und sich das Abundanzmaximum in den Kontrollen erst Ende Juli etabliert, ist es vorstellbar, dass eine in Entwicklung befindliche Population in diesen Enclosures durch die Belastung geschwächt wurde und deshalb dort nur wenige Individuen gefunden wurden.

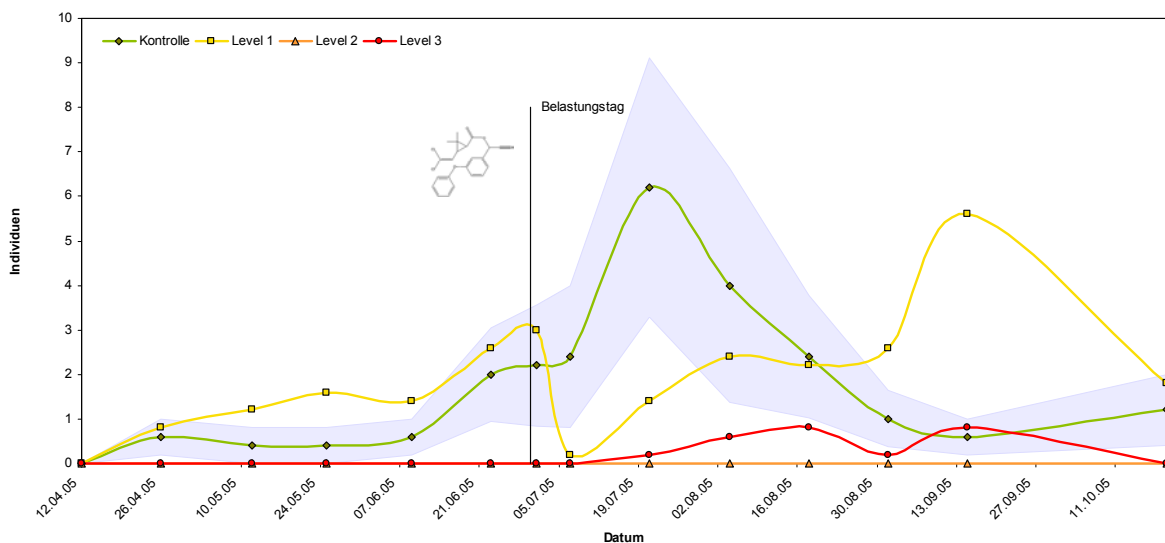


Abbildung 3.47: Abundanz *Pisidium spec.* 2005; Belastungsgruppen

### 3.3.5 Clitellata

Hinsichtlich der Belastung erkennt man 2005 eine starke Zunahme der Abundanz in den Belastungsstufen 2 und 3. Diese tritt aber nicht unmittelbar nach der Belastung auf. Außerdem ist kein belastungsabhängiges Muster zu erkennen. In Level 1 bewegen sich die Werte größtenteils im Bereich der Kontrollen. Abbildung 3.48 zeigt diese Verhältnisse. Bezüglich der Bepflanzung konnten weder in Jahr 2004 noch im Jahr 2005 nennenswerte Unterschiede festgestellt werden.

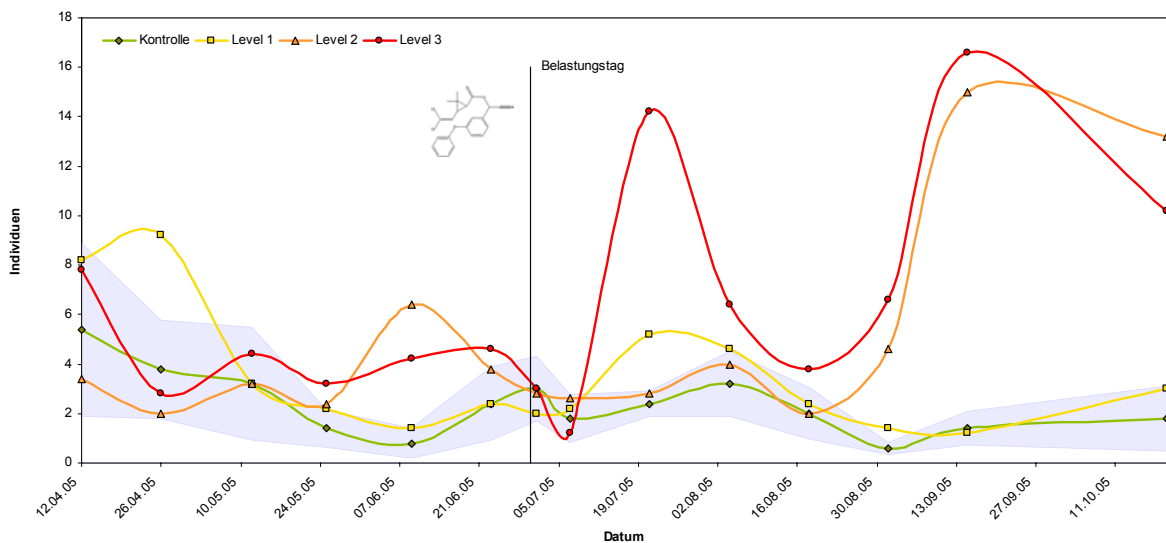


Abbildung 3.48: Abundanz Clitellata 2005; Belastungsgruppen

Zahlenmäßig wird die Klasse der Clitellata von *Naididae* dominiert. Bei dieser Familie erkennt man deutlicher Effekte, die in einem belastungsabhängigen Zusammenhang stehen (Abb. 3.49). So erkennt man, dass ca. 3 Wochen nach der Belastung für die Level 1 – 3 höhere Abundanzen gefunden wurden als in der Kontrolle.

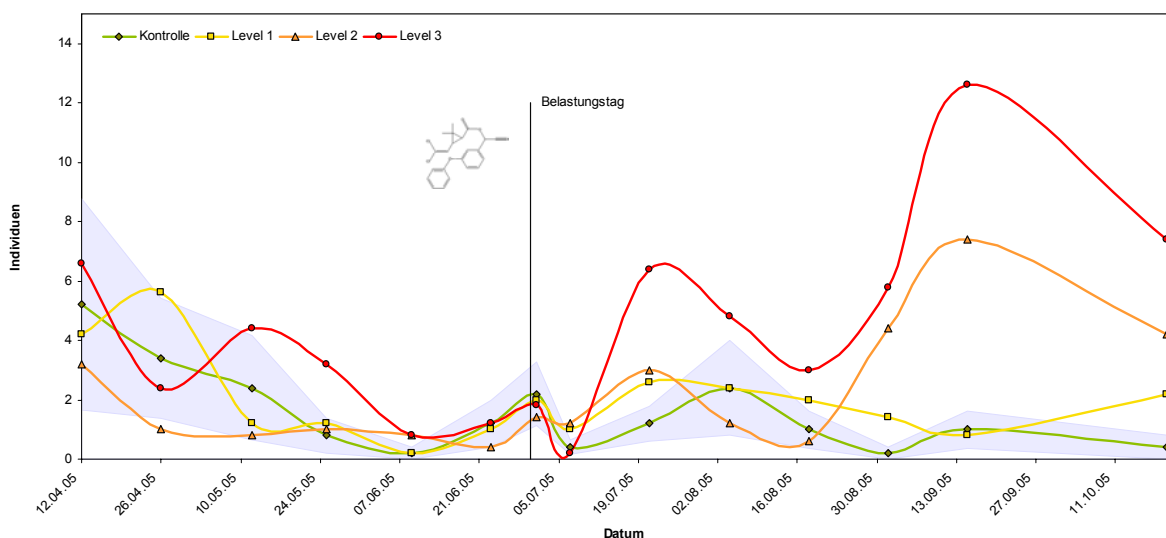


Abbildung 3.49: Abundanz *Naididae* spec. 2005; Belastungsgruppen



Dabei handelt es sich offensichtlich um indirekte Effekte, die durch das Wegfallen von invertebraten Räubern oder Nahrungskonkurrenten eintreten. Nachdem sich Oligochaeten als Destruenten auch an der Verwertung von toten Tieren beteiligen, ist ein weiterer Effekt vorstellbar, der positiv auf die Abundanz wirkt: So könnten die *Naididae* durch ein höheres Nahrungsangebot an toten Tieren einen weiteren Vorteil erlangen. Auch andere Studien konnten indirekte Effekte bei Oligochaeten nachweisen und haben diese Wirkmechanismen als Ursache zugrunde gelegt (Brock *et al.*, 1992; Van den Brink *et al.*, 1996; Woin, 1998; Dawo, 2005).

### 3.3.6 Gastropoda

Obwohl in einigen Studien ein indirekter Einfluss von Pyrethroiden auf die Gastropoden-Abundanz festgestellt wurde (Lozano *et al.*, 1992; Dawo, 2005), konnten diese Effekte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Wie man in Abbildung 3.50 sieht, ist keine Zunahme der Abundanz zu erkennen. Die Gesamtabundanz zeigt niedrigere Werte als in den Kontrollen. Da die Werte in den Belastungsstufen aber schon vor der Belastung niedriger waren, kann man nicht davon ausgehen, dass diese Abundanzen im Zusammenhang mit Cypermethrin stehen. In dieser Klasse wurden hauptsächlich Vertreter der Gattung *Lymnea* und *Planorbidae* gefunden. Auch auf Artebene konnten keine Effekte auf die Belastung festgestellt werden. Die Untersuchung mit Gewichtung auf die Bepflanzung zeigte ebenfalls keine Auswirkung auf die Abundanz.

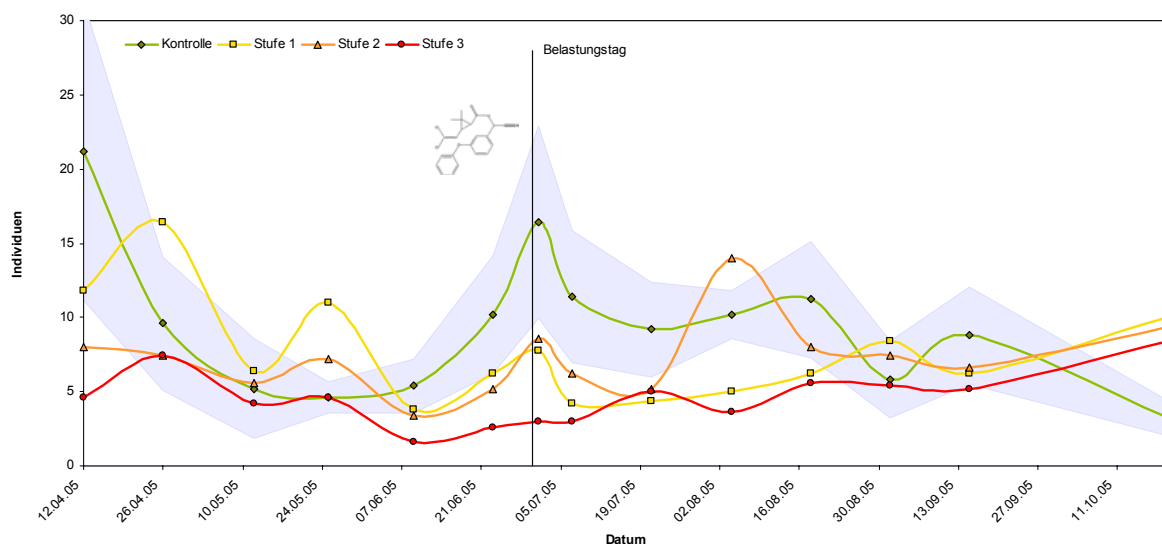


Abbildung 3.50: Abundanz Gastropoda 2005; Belastungsgruppen

### 3.3.7 Insecta

Die Klasse der Insecta zeigt bezüglich der Belastung eindeutige Effekte (Abb. 3.51): Die Abundanz sinkt unmittelbar auf die Belastung in den beiden höchsten Belastungsstufen auf sehr niedrige Werte. Auch in Level 1 ist eine Abnahme der Abundanz zu erkennen. Obwohl in Level 1 bereits nach drei Wochen wieder Werte im Bereich der Kontrollen erreicht sind, erholen sich die Abundanzen für Level 2 und 3 nur sehr langsam und zeigen bis zum Ende der Studie keine anhaltende Recovery (Zum Vergleich: Abb. A.2 im Anhang mit den unbelasteten Abundanzen von 2004). Auch in anderen Studien konnte eine sehr hohe Toxizität für Insecta nachgewiesen werden (Orme und Kegley, 2004).

Da die Insecta in der verwendeten Mesokosmen-Studie bei weitem die dominanteste Klasse war, verhält sich deren Abundanz annähernd identisch zur Gesamtabundanz. So konnte auch bezüglich der Bepflanzung nur ein geringer Einfluss während der ersten Zeit der Studie festgestellt werden (vgl. 3.3.3).

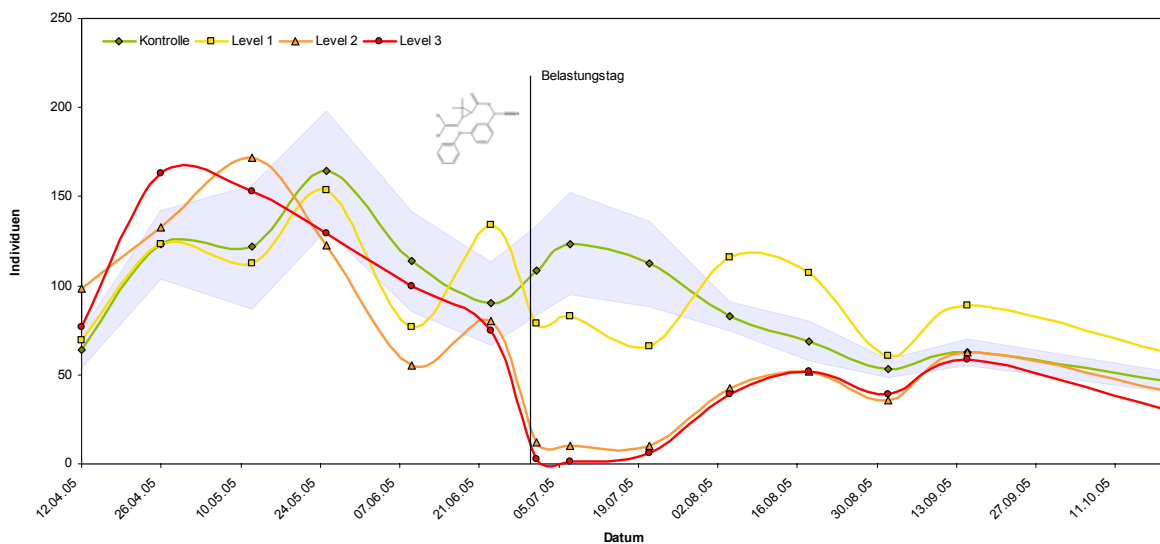


Abbildung 3.51: Abundanz Insecta 2005; Belastungsgruppen

Im Folgenden werden nur Taxa mit signifikantem Effekt auf die Abundanz oder bedeutende Arten dargestellt.

Die in der Studie bei weitem bedeutendste Art ist *Chaoborus crystallinus*. Zum einen war *Chaoborus* mit sehr hohen Abundanzen die dominierende Art; zum anderen nimmt *Chaoborus* als räuberisch lebende Larve aufgrund der Abwesenheit von Fischen eine sehr wichtige Rolle im System ein (Lair, 1990). Schwankungen in der Population von *Chaoborus* haben einen direkten Einfluss auf verschiedene Beuteorganismen. Zu seiner Beute zählen verschiedenste Arten aus der Gruppe der Zooplankter aber auch aus der Gruppe der Makroinvertebraten. Bei der Beutewahl spielen verschiedene Faktoren wie Größe, Beweglichkeit und Fraßschutzmechanismen (z.B. Panzerung, Spina, Gallerthülle) eine wichtige Rolle (Spitze, 1985; Irvine, 1997). Abbildung 3.52 zeigt den Abundanzverlauf von *Chaoborus crystallinus* im Jahr 2005. Deutlich erkennt man die toxischen Wirkungen nach der Belastung. In Level 2 und 3 wurden in den ersten drei Wochen nach der Belastung so gut wie keine Individuen gefunden. Dieser Effekt ist bei *Chaoborus* noch deutlicher zu sehen als bei der Gesamtabundanz der Insecta.

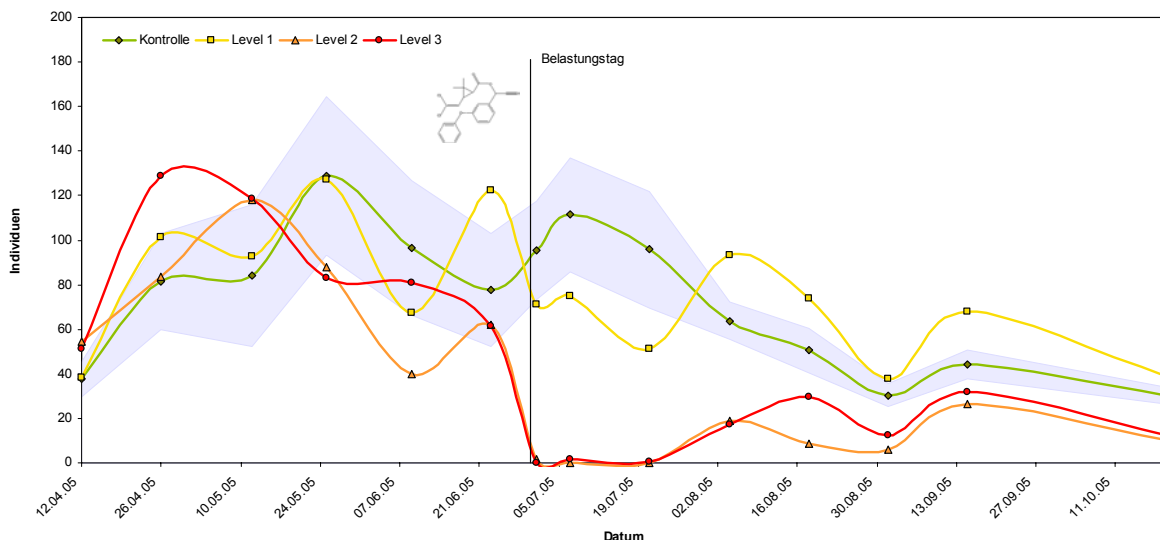


Abbildung 3.52: Abundanz *Chaoborus crystallinus* 2005; Belastungsgruppen

Auch in Level 1 sind die Auswirkungen auf das Pyrethroid erkennbar, aber deutlich geringer. Recovery konnte nur für Level 1 festgestellt werden. In Level 2 und 3 bleiben die Abundanzen bis zum Versuchsende unterhalb der Kontrollen. Betrachtet man diese Abundanzdaten und ökologischen Kenntnisse zu *Chaoborus* nun im Zusammenhang mit den beschriebenen indirekten Effekten (vgl. Zooplankton Abschnitt 3.2), werden diese Auswirkungen sehr verständlich.

Ein anderer interessanter Effekt wird bei Betrachtung von Abbildung 3.53 deutlich. Dargestellt ist die Abundanz, eingeteilt in Bepflanzungsgruppen, im Versuchsjahr 2005. Das heißt, in jeder Bepflanzungsgruppe ist die Wirkung aller drei Belastungsstufen und Kontrollen mitverrechnet. Würde das Cypermethrin unabhängig von der Bepflanzungsart wirken, so wäre zumindest der Verlauf der Kurve in allen Gruppen ähnlich. Hier fällt aber auf, dass in Pflanzgruppe 1 statt einer Abnahme der Abundanz zunächst die Werte auf gleichem Niveau bleiben und dann

sogar ansteigen. In allen anderen Gruppen fällt die Abundanz unmittelbar nach der Belastung. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass in Bepflanzungsgruppe 1 ein Schutzeffekt auf *Chaoborus crystallinus* wirkt, der die Cypermethrin-Wirkung puffert. Möglich wäre, dass aufgrund der Bepflanzung mehr Wirkstoff adsorbiert und damit weniger schädigende Substanz bioverfügbar ist. Die Analyse der zugrundeliegenden Daten zeigte folgendes: Für die in Abbildung 3.53 gezeigte Zunahme ist hauptsächlich verantwortlich, dass die Belastungsstufe Level 1 in der Bepflanzungsgruppe 1 keinen Effekt auf die Population von *Chaoborus crystallinus* zeigt, sondern sich wie die Kontrollen verhält. In den anderen Bepflanzungsgruppen ist bereits bei Level 1 ein leichter Effekt zu erkennen. Diese „Pufferwirkung“ ist also nur für die niedrigste Konzentration zu beobachten. Wie die Rückstandsanalyse zeigt, verschwindet in Gruppe 1 das Cypermethrin in seiner niedrigsten Belastung tatsächlich sehr schnell und ist dort bereits am ersten Tag nach der Applikation kaum mehr nachweisbar (vgl. Abschnitt 3.5). Dennoch ist diese Interpretation aus Mangel an Wiederholungen statistisch nicht haltbar und daher mit Vorsicht zu behandeln.

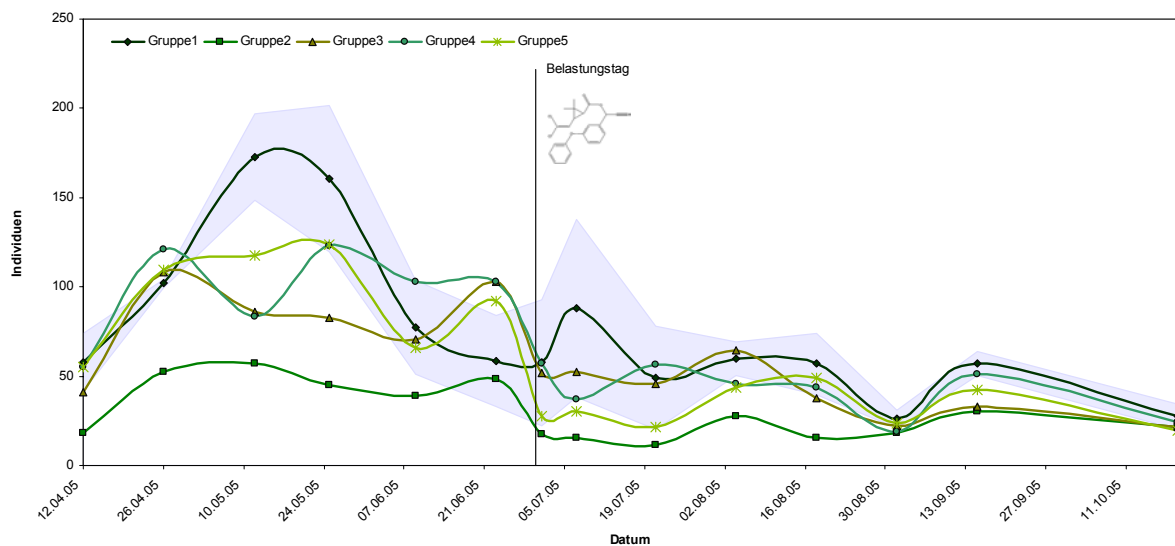


Abbildung 3.53: Abundanz *Chaoborus crystallinus* 2005; Bepflanzungsgruppen

Ein weiterer wichtiger Vertreter dieser Klasse ist *Cloeon*. Diese aquatisch lebende Eintagsfliegenlarve zeigt ebenfalls deutliche Effekte auf die Belastung (Abb. 3.54).

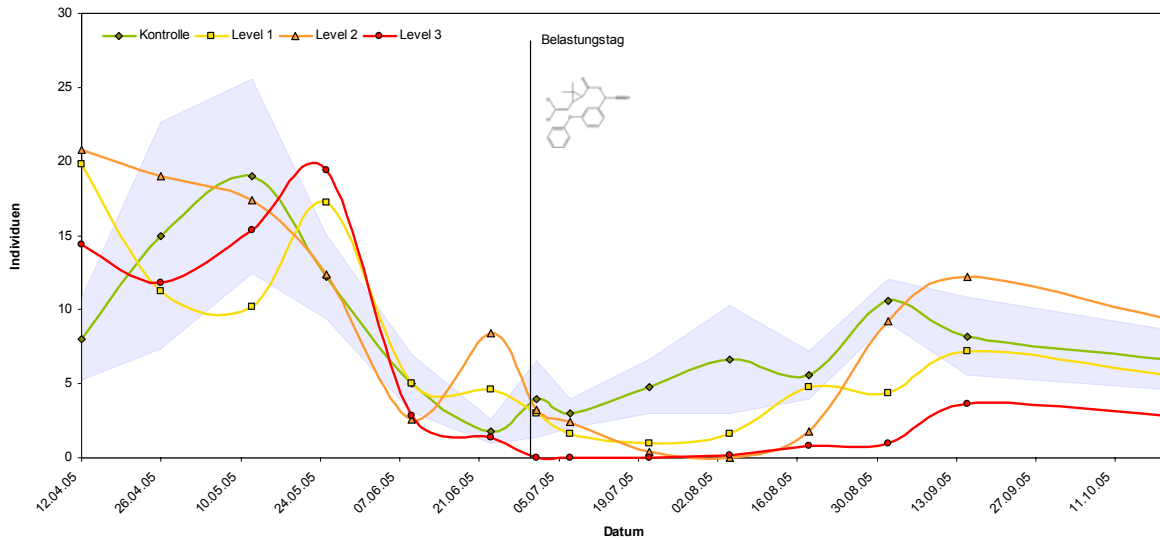


Abbildung 3.54: Abundanz *Cloeon spec.* 2005; Belastungsgruppen

Der Effekt ist in Level 3 so gravierend, dass in diesen Enclosures zunächst keine lebenden Individuen registriert wurden. Erst Anfang August kann in allen Gruppen wieder eine Zunahme der Abundanz gefunden werden. Die Populationen in Level 1 und 2 zeigen eine deutliche Recovery, die Level 3 Population dagegen bleibt bis zum Ende der Studie geschwächt.

Hinsichtlich der Bepflanzung kann im Jahr 2004 festgestellt werden, dass zunächst in Pflanzgruppe 1 höhere Abundanzen gefunden wurden, ab Mitte August aber in den weniger bepflanzten Gruppen deutlich mehr Individuen gezählt wurden (Abb. 3.55). Die Emergenz der Ephemeroptera findet teilweise massenhaft in einem nur eng umgrenzten Zeitraum des Jahres statt. Unmittelbar darauf folgen auch die Paarung und die Eiablage auf der Wasseroberfläche (Wesenberg-Lund und Storch, 1939). Die Beobachtung der hohen Abundanz gegen Ende August, könnte in Zusammenhang mit diesem Entwicklungszyklus stehen. Dabei wäre es vorstellbar, dass die jungen Larven sich in den dichter besiedelten Enclosures besser verstecken konnten und deshalb nur weniger Individuen erfasst wurden als in den unbepflanzten Bereichen.

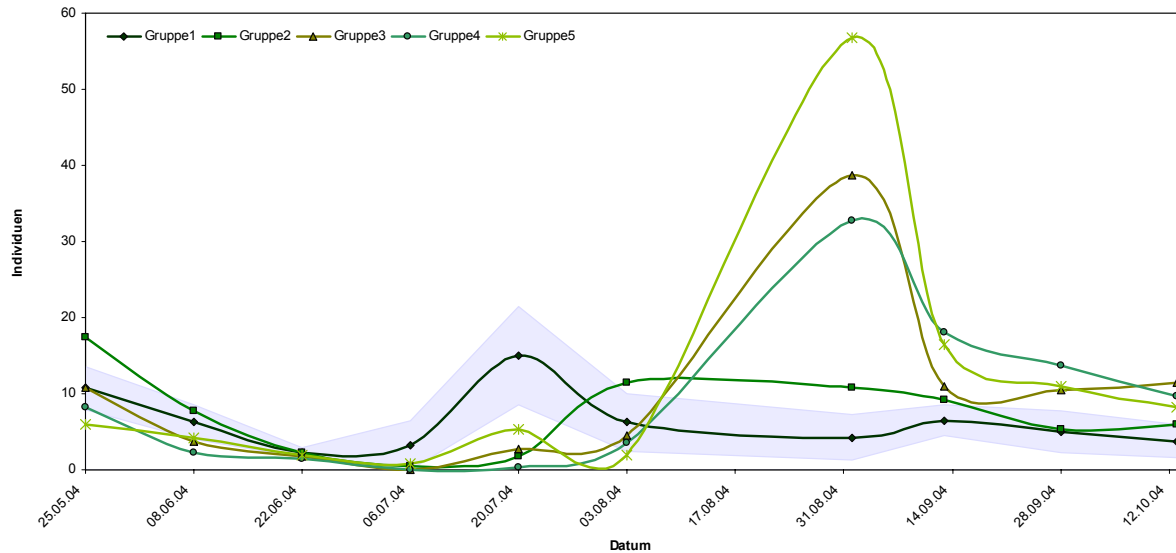


Abbildung 3.55: Abundanz *Cloeon* spec. 2004; Bepflanzungsgruppen

Bei *Zygoptera* erkennt man unterschiedliche Effekte auf die Belastung (Abb. 3.56). Unmittelbar nach der Applikation ist nur in der höchsten Konzentration für einen kurzen Zeitraum eine reduzierte Abundanz zu erkennen. Danach anschließend erkennt man in allen Belastungsstufen eine deutliche Zunahme der Abundanz. Diese indirekten Effekte auf das Pyrethroid stellen, nach meiner Interpretation, einen belastungsabhängigen indirekten Zusammenhang dar, der aber in der höchsten Belastungsstufe von direkten Effekten überlagert wird. Deshalb haben die Populationen aus Level 3 in den ersten Tagen nach der Applikation von Cypermethrin eine niedrigere Abundanz als in Level 1 und 2. Da es sich bei den Kleinlibellenlarven um eine räuberische Familie handelt, die in ihrem jüngsten Stadium aber auch zur Beute von anderen invertebraten Räubern werden können, sind verschiedene Mechanismen der indirekten Wirkung denkbar. Eine entscheidende Rolle spielt *Chaoborus crystallinus*, der sowohl als Nahrungskonkurrent aber auch als Räuber wegfällt.

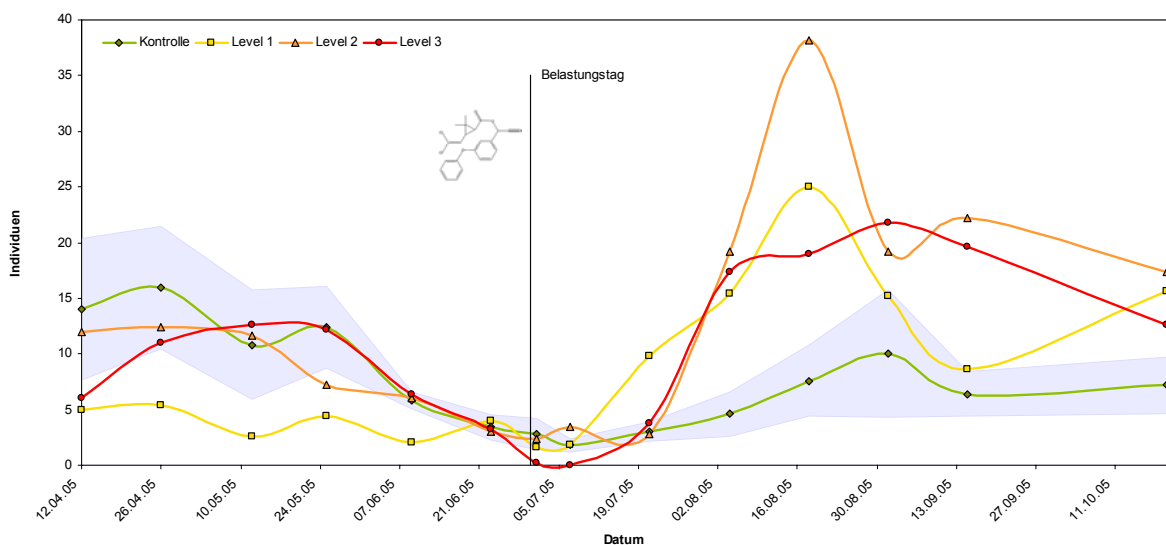


Abbildung 3.56: Abundanz *Zygoptera* spec. 2005; Belastungsgruppen

Abgesehen von *Plea* und den *Phryganeidae*, zeigten die restlichen Taxa entweder keine eindeutige Reaktion oder waren in zu geringer Abundanz vorhanden. *Plea leachi* zeigte Auswirkungen der Belastung in Level 2 und 3, erholte sich aber relativ schnell (Abb. 3.57). *Phryganeidae* zeigten nur in Level 3 ein Absinken der Abundanz (Abb. 3.58). Bei beiden Taxa lag die Individuenzahl aber relativ niedrig, weshalb das Ergebnis mit Vorsicht zu genießen ist. Bezüglich der Bepflanzung wurden nur im Jahr 2004 bei *Plea leachi* Unterschiede festgestellt, die Abundanzen der Gruppen 2 bis 5 lagen deutlich unter denen der Gruppe 1.

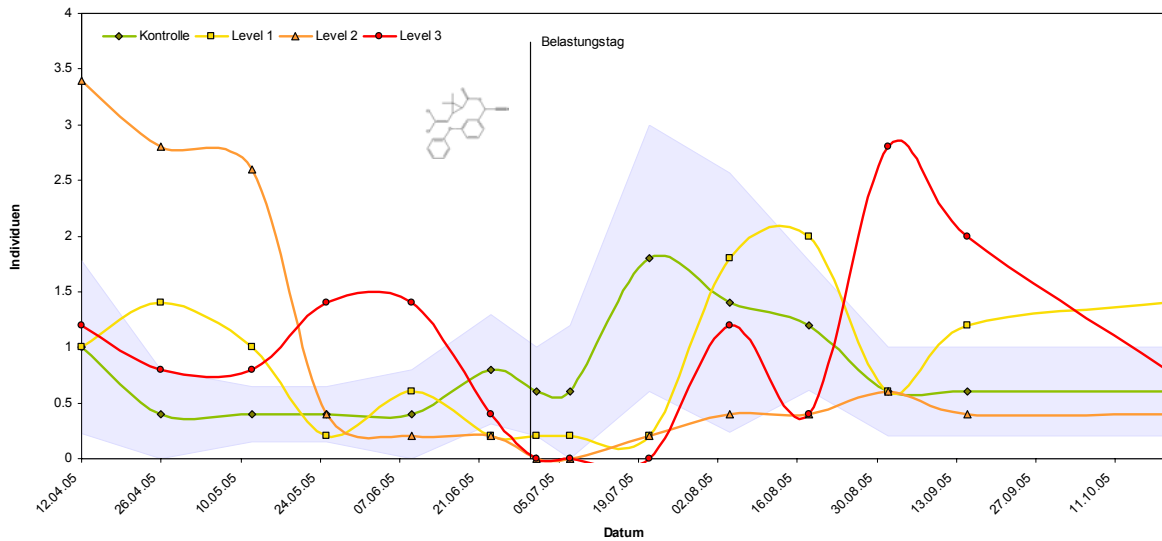


Abbildung 3.57: Abundanz *Plea leachi* 2005; Belastungsgruppen

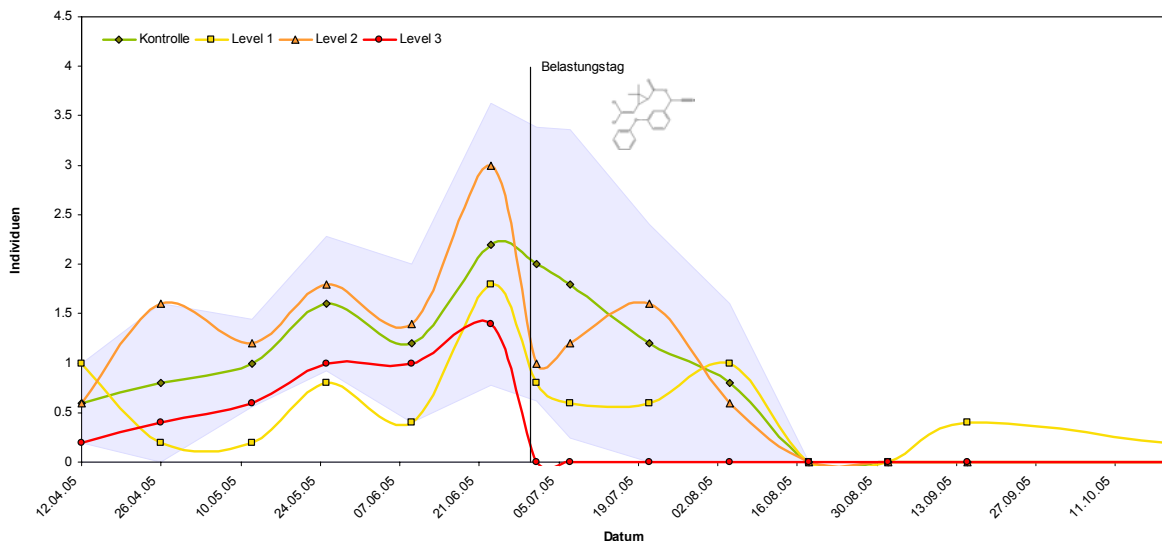


Abbildung 3.58: Abundanz *Phryganeidae* spec. 2005; Belastungsgruppen

### 3.3.8 Crustacea

Die Klasse der Crustacea wird bei den Makroinvertebraten nur von dem Isopoden *Asellus aquaticus* vertreten. Diese Art hat für die vorliegende Studie eine besondere Bedeutung, da sie auch für die Untersuchung der genetischen Diversität herangezogen wird (vgl. Abschnitt 3.4). *Asellus aquaticus* findet sich fast in allen Gewässern, in denen Detritus anfällt und die Strömungsgeschwindigkeit nicht zu schnell ist (Wesenberg-Lund und Storch, 1939; Engelhardt und Merxmüller, 1989). Das Nahrungsspektrum ist sehr breitgefächert: Sie ernährt sich hauptsächlich von pflanzlichem und tierischem Detritus, Bakterien und Pilzen (Michels und Gründler, 2001).

So bevorzugten *Asellus aquaticus* auch in der durchgeführten Studie bestimmte Enclosures. Diese waren hauptsächlich in den Pflanzgruppen 3 bis 5 zu finden und unterschieden sich von den restlichen durch zeitweilige Trübung und fauligen Geruch. Bei Auswertung der Abundanz zeigt sich in Abbildung 3.59 zunächst keine bevorzugte Pflanzgruppe. Im Laufe der Populationsentwicklung erkennt man aber eine höhere Abundanz von *Asellus aquaticus* in den Pflanzgruppen mit weniger Bewuchs. Diese Bevorzugung bleibt auch im Jahr 2005 bis zum Tag der Belastung bestehen.

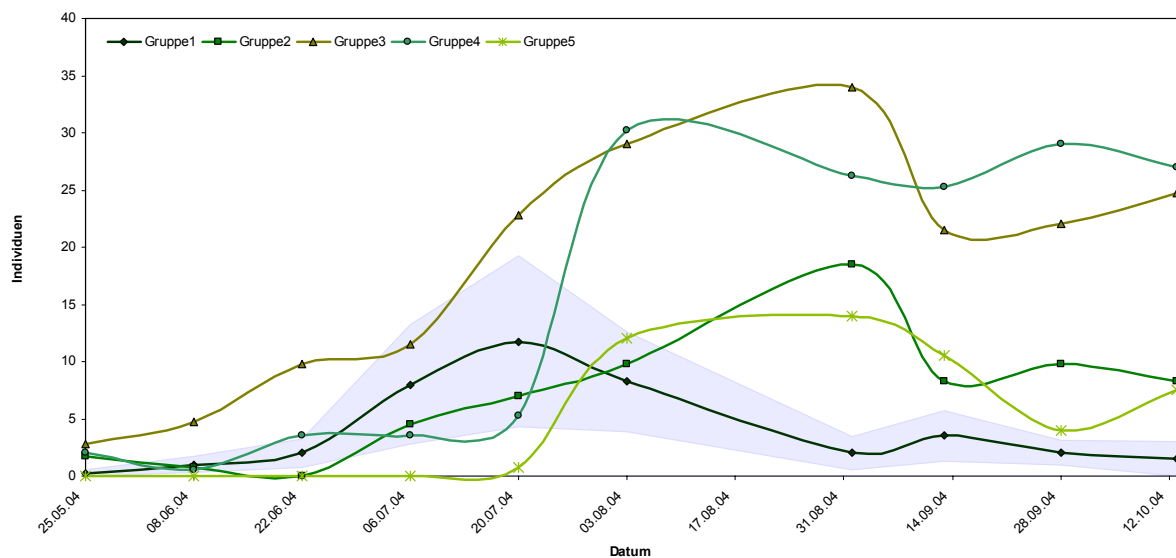


Abbildung 3.59: Abundanz *Asellus aquaticus* 2004; Bepflanzungsgruppen

*Asellus aquaticus* zeigte neben *Chaoborus crystallinus* die höchste Empfindlichkeit auf die Belastung. In Abbildung 3.60 erkennt man in Level 2 und 3 eine signifikante Abnahme der Abundanz. Diese steigt in Level 2 nur sehr langsam wieder und bleibt in Level 3 bis zum Ende der Studie deutlich unter den Kontrollen. Level 1 zeigt keine Effekte nach der Belastung und bleibt im Bereich der Kontrollen.

Betrachtet man nun die Abundanz im Jahr 2005 hinsichtlich der Bepflanzung, so erkennt man, dass die Effekte der Belastung in den Pflanzgruppen 3 und 4 am



deutlichsten ausfallen (Abb. 3.61). In Pflanzgruppe 1 und 5 ist der Effekt auf die Belastung fast gar nicht zu erkennen. Eine Zuordnung der Effekte zu einzelnen Belastungsstufen ist im Falle von *Asellus aquaticus* leider nicht möglich, da die Individuen sehr ungleich auf die einzelnen Enclosures verteilt waren. Es fällt aber auch bei *Asellus aquaticus* auf, dass die Effekte in der Bepflanzungsgruppe 1 nicht so stark ausfallen wie in den restlichen Gruppen. Diese Beobachtung wurde ja bereits bei *Chaoborus crystallinus* gemacht, was die These der durch die Bepflanzung abgeschwächten Wirkung bestätigt (vgl. *Chaoborus crystallinus*).

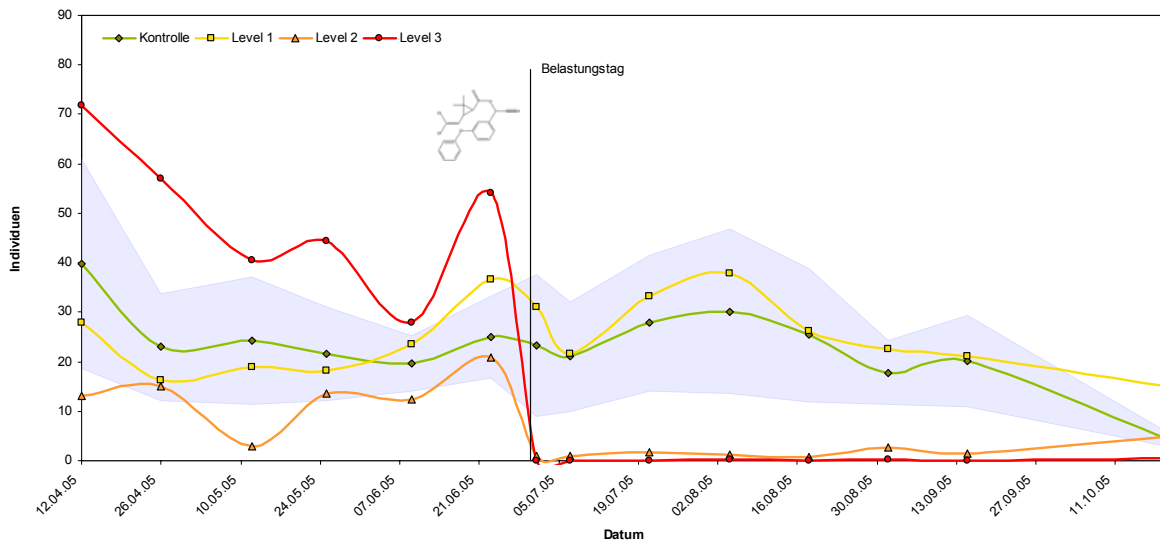


Abbildung 3.60: Abundanz *Asellus aquaticus* 2005; Belastungsgruppen

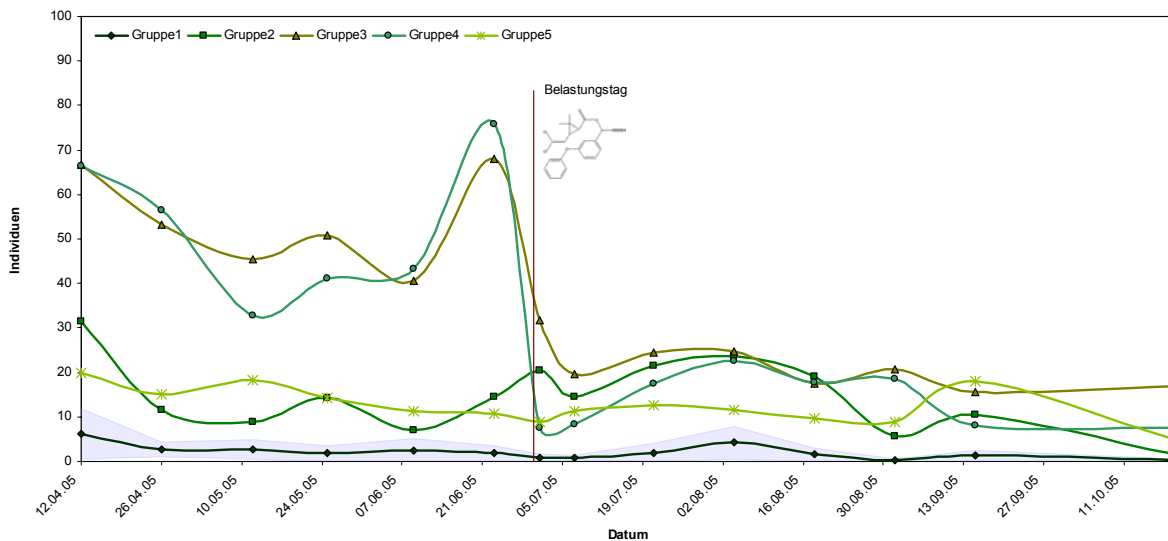


Abbildung 3.61: Abundanz *Asellus aquaticus* 2005; Bepflanzungsgruppen

Zusammenfassend reagierten *Asellus aquaticus* und *Chaoborus crystallinus* am sensitivsten auf die Belastung. Die beiden Arten waren außerdem die einzigen in der vorliegenden Studie, bei welchen auch eine bepflanzungsabhängige Sensitivität hinsichtlich der Abundanz gezeigt werden konnte.

### 3.3.9 Diversität

Bei der Analyse des Shannon Index zeigt sich bei den Makroinvertebraten folgendes Bild: Da bereits direkt vor der Belastung Schwankungen in den einzelnen Belastungsstufen vorhanden waren, sind die Daten in diesem Fall schwer zu interpretieren.  $H_S$  macht auf den ersten Blick keinen direkten Zusammenhang mit der Belastung deutlich. Die einzige Auffälligkeit in Zusammenhang mit der Belastung ist das Ausmaß der Abnahme von  $H_S$  zwischen der Applikation und dem 07.07.05. So erkennt man, dass in der Kontrolle und Level 1 ähnliche Bedingungen herrschen. In Level 2 ist die Abnahme von  $H_S$  stärker und in Level 3 am stärksten (Abb. 3.62).

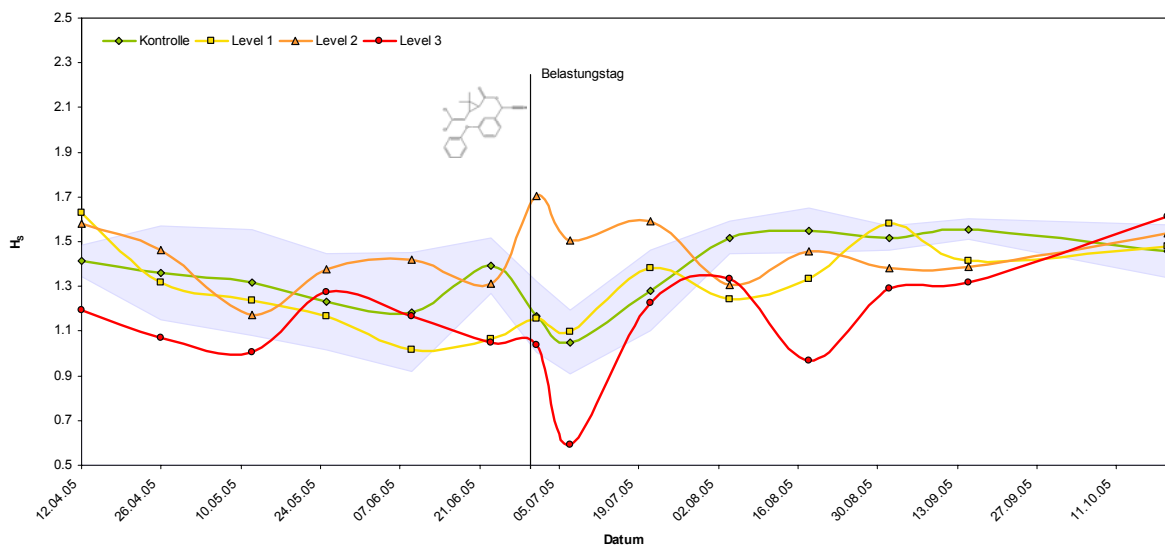


Abbildung 3.62: Shannon Index Makroinvertebraten 2005; Belastungsgruppen

Die Auswertung der Evenness zeigt ein deutlicheres Muster: Es ist eine klare Zunahme der Gleichverteilung in Abhängigkeit von der Belastung zu erkennen. In Level 3 sind die vorkommenden Arten annähernd gleich verteilt. Die Evenness zeigt einen Monat nach der Belastung, dass sich die Werte wieder normalisieren (vgl. Abb. 3.63). Die starke Zunahme der Evenness resultiert wahrscheinlich aus dem Wegfall von *Chaoborus crystallinus*. Da dieser im betrachteten System die zahlenmäßig dominanteste Art ist (vgl. Abschnitt 3.3.2), fällt die Abwesenheit dieser Art sehr stark ins Gewicht. Bei seiner Anwesenheit waren die Individuen sehr ungleichmäßig verteilt: Es waren sehr viele *Chaoborus crystallinus* Individuen und jeweils bedeutend weniger in den restlichen Arten. Durch Ausfall der Gewichtung auf *Chaoborus crystallinus* sind die verbleibenden Individuen gleichmäßiger auf die restlichen Arten verteilt.

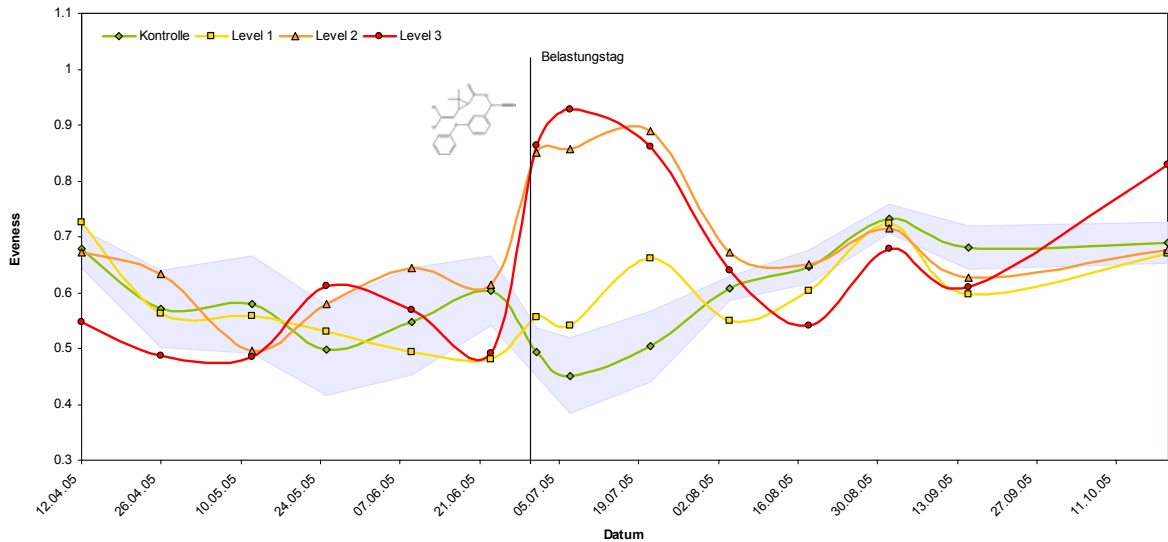


Abbildung 3.63: Evenness Makroinvertebraten 2005; Belastungsgruppen

In Abbildung 3.64 ist die Dominanz von *Chaoborus crystallinus* bezüglich der Gesamtpopulation dargestellt. Es fällt auf, dass die Kurve annähernd umgekehrt zur Darstellung der Evenness verläuft. Dies bestärkt die gerade geschilderte Vermutung.

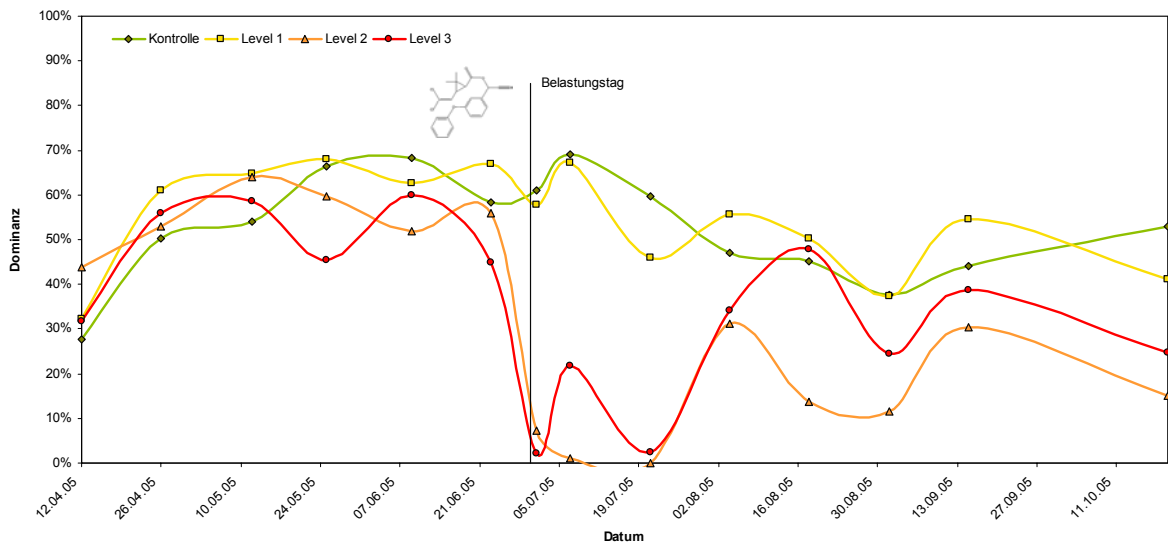


Abbildung 3.64: Anteil von *Chaoborus crystallinus* an der Gesamtpopulation 2005; Belastungsgruppen

Die Auswertung der Diversität hinsichtlich der Bepflanzungsgruppen lieferte keine neuen Erkenntnisse. Es waren keine Unterschiede in den einzelnen Pflanzgruppen zu erkennen.

### 3.3.10 PRC-Analyse

Die multivariate Analyse der  $C_{dt}$ -Werte zeigt einen hochsignifikanten Zusammenhang mit der Belastung. Die Werte verlaufen zunächst im Bereich der Kontrollen und zeigen am Tag nach der Applikation einen starken Ausschlag. In Level 1 sind diese Effekte nicht so ausgeprägt und pendeln sich bald wieder nahe der x-Achse ein. Level 2 und 3 hingegen zeigen eine enorme Abweichung, die bis zum Ende der Studie anhält (Abb. 3.65). Das Ergebnis ist mit  $p = 0,002$  hochsignifikant und repräsentiert gut den Gesamteffekt auf die Makroinvertebratengesellschaft. Tabelle 3.8 zeigt die statistische Zuordnung der ermittelten Varianz. Wie schon in Abschnitt 3.2.9 geschildert, resultieren diese relativ niedrigen Werte aus der hohen Varianz innerhalb der Gruppen.

Die Zuordnung der Species-Scores zeigt sehr deutlich die bereits bei den Abundanzdaten geschilderten Effekte auf die einzelnen Arten. Tabelle 3.9 zeigt diese Zuordnung.

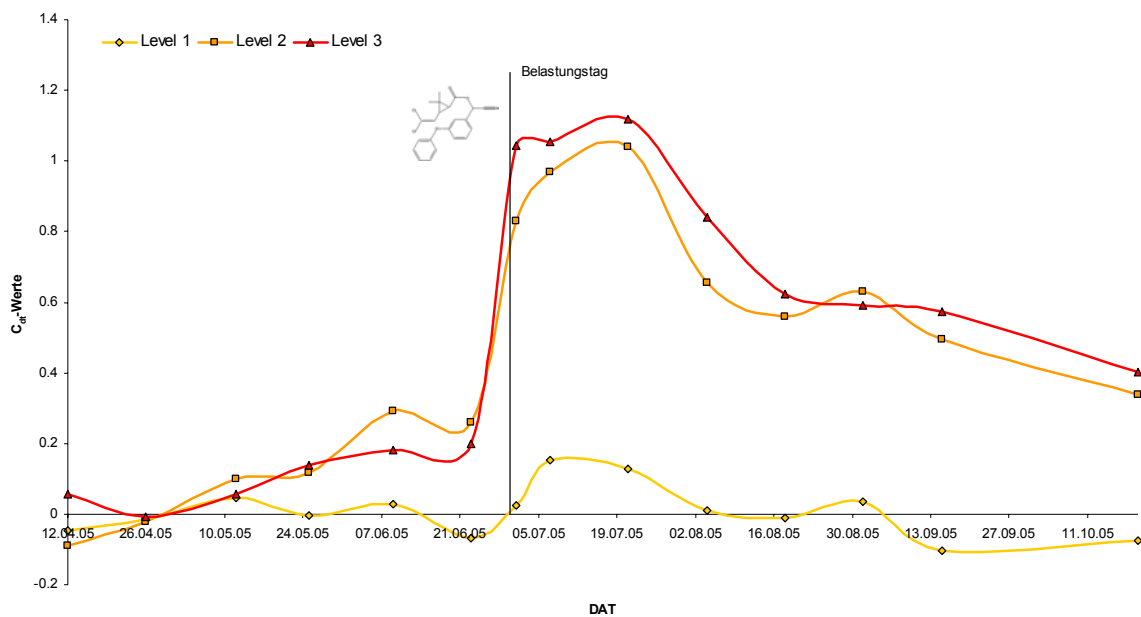


Abbildung 3.65: PRC Makroinvertebraten 2005

Summary:	
15.30%	der Varianz sind durch Zeiteffekte zu erklären
23.10%	der Varianz sind durch die Behandlung mit Cypermethrin zu erklären
17.00%	der Varianz sind durch die unterschiedliche Bepflanzung zu erklären
44.60%	der Varianz bleiben unerklärt
55.30%	dieser Varianzen sind von der abgebildeten PRC erfasst worden

Tabelle 3.8: Varianzanalyse der PRC Makroinvertebraten 2005

Art	Species-Scores
<i>Naididae</i> spec.	0.8415
<i>Acari</i> spec.	-0.7137
<i>Planorbidae</i> spec.	-0.8185
<i>Pisidium</i> spec.	-1.1921
<i>Cloeon</i> spec.	-1.3417
<i>Asellus aquaticus</i>	-3.4736
<i>Chaoborus crystallinus</i>	-3.9575

Tabelle 3.9: Species-Scores der PRC Makroinvertebraten 2005

So sind auch laut PRC-Analyse *Asellus aquaticus* und *Chaoborus crystallinus* die beiden Arten, die am sensitivsten auf die Cypermethrin-Belastung reagieren. Auch für *Naididae* zeigte sich bei der PRC eine Zunahme der Abundanz.

Die Bepflanzung zeigte auch bei Makroinvertebraten einen Zusammenhang mit der Population. So erkennt man in Abbildung 3.66 deutliche Unterschiede:

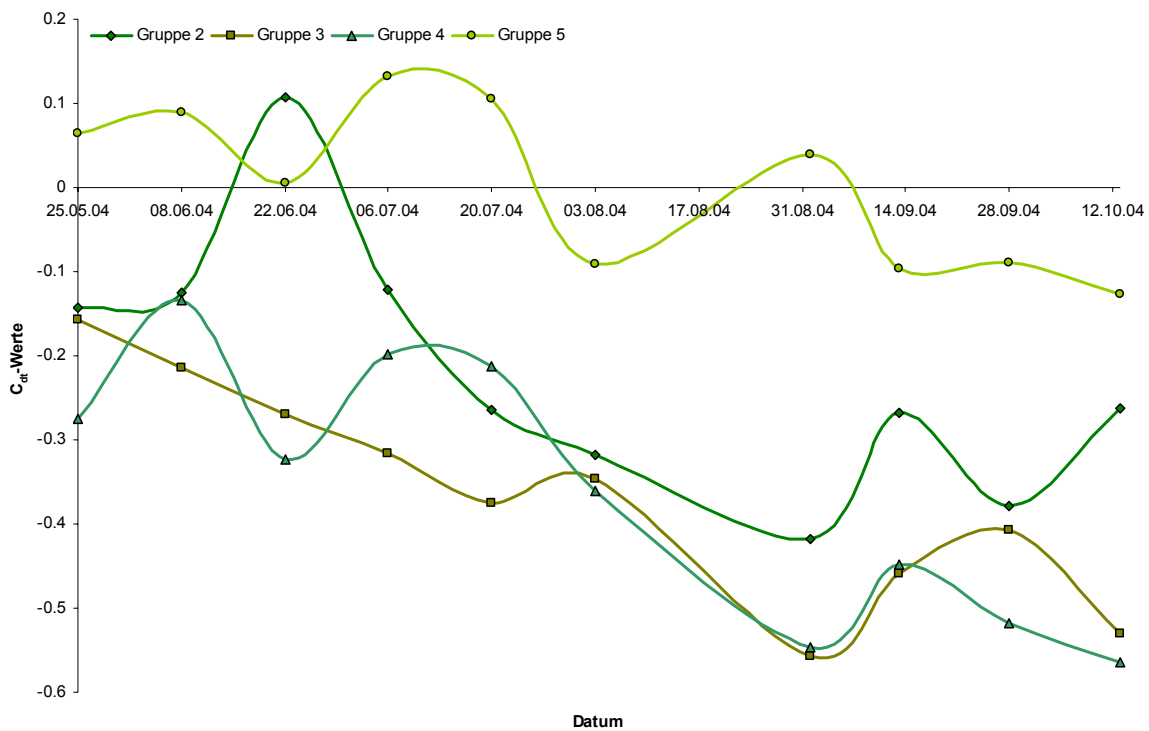


Abbildung 3.66: PRC Makroinvertebraten 2004; Bepflanzungsgruppen

Offensichtlich können die Effekte bezüglich der Bepflanzung in zwei Gruppen unterteilt werden, denn es zeigen sich ähnliche Werte für Gruppe 1 und 5 zum einen und Gruppe 2, 3 und 4 zum anderen. Die Erklärung der im Jahr 2004 beobachteten Varianz kann immerhin zu 22,6 % auf die unterschiedliche Bepflanzung zurückgeführt werden (Tabelle 3.10).

<b>Summary:</b>	
18.80%	der Varianz sind durch Zeiteffekte zu erklären
22.60%	der Varianz sind durch die unterschiedliche Bepflanzung zu erklären
58.60%	der Varianz bleiben unerklärt
26.20%	dieser Varianzen sind von der abgebildeten PRC erfasst worden

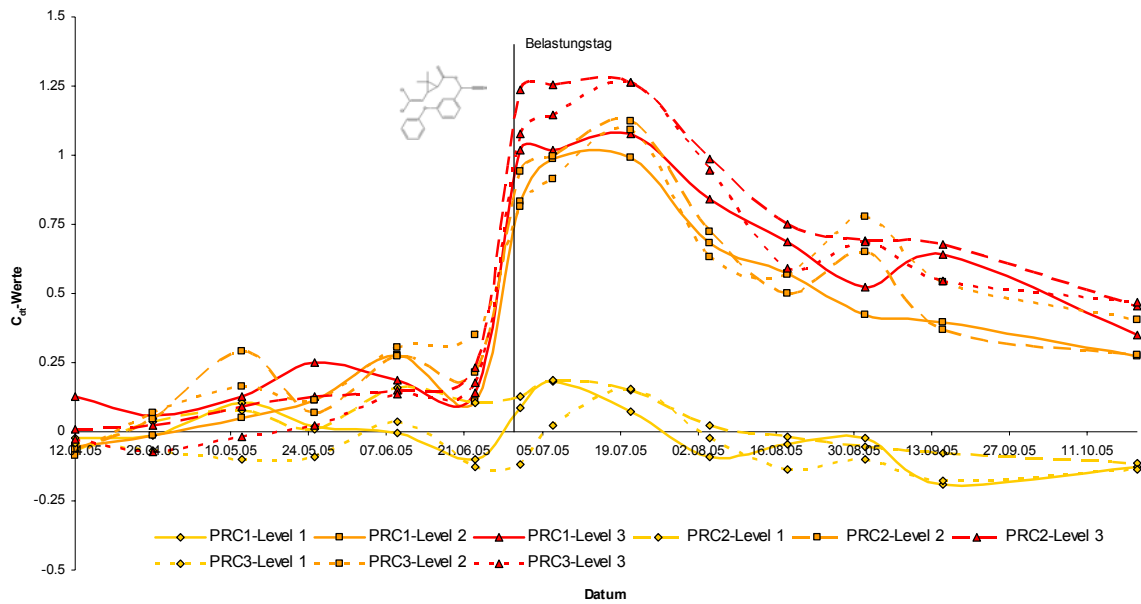
**Tabelle 3.10:** Varianzanalyse der PRC Makroinvertebraten 2004

Betrachtet man die Species-Scores, bestätigen sich auch hier die Beobachtungen, die bereits auf Artebene gemacht wurden (siehe Tabelle 3.11). So zeigt sich *Asellus aquaticus* als sensitivste Art bezüglich der Bepflanzung. Auch diese Analyse liegt laut Monte Carlo Test mit  $p = 0,046$  innerhalb des signifikanten Bereichs.

<b>Art</b>	<b>Species-Scores</b>
<i>Zygoptera spec.</i>	1.8979
<i>Dytiscidae spec.</i>	1.2119
<i>Plea leachi</i>	0.9922
<i>Phryganeidae spec.</i>	0.6918
<i>Chironomidae spec.</i>	0.6794
<i>Halipus spec.</i>	0.5689
<i>Anisoptera spec.</i>	-0.5639
<i>Turbellaria spec.</i>	-0.6697
<i>Radix spec.</i>	-1.1867
<i>Asellus aquaticus</i>	-4.6719

**Tabelle 3.11:** Species-Scores der PRC Makroinvertebraten 2004

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wurde untersucht, ob sich eine bepflanzungsabhängige Sensitivität für die Makroinvertebratengesellschaft ergibt. Dazu wurden, wie bereits in Abschnitt 3.2.9 beschrieben, drei verschiedene PRCs gerechnet. Die Monte Carlo Simulation zeigte mit  $p = 0,006$  und  $p = 0,004$  nur für PRC 2 (Pflanzgruppen 2,3 und 4) und PRC 3 (Pflanzgruppen 3,4 und 5) signifikante Zusammenhänge zur Bepflanzung. Der Vergleich der einzelnen PRCs (siehe Abb. 3.67) zeigt, dass die Effekte durch die Bepflanzung relativ gering sind. Dennoch erkennt man in Level 3, dass die Auswirkungen in den Enclosures mit der höheren Pflanzendichte (PRC 1) niedriger waren als in den anderen Gruppen.



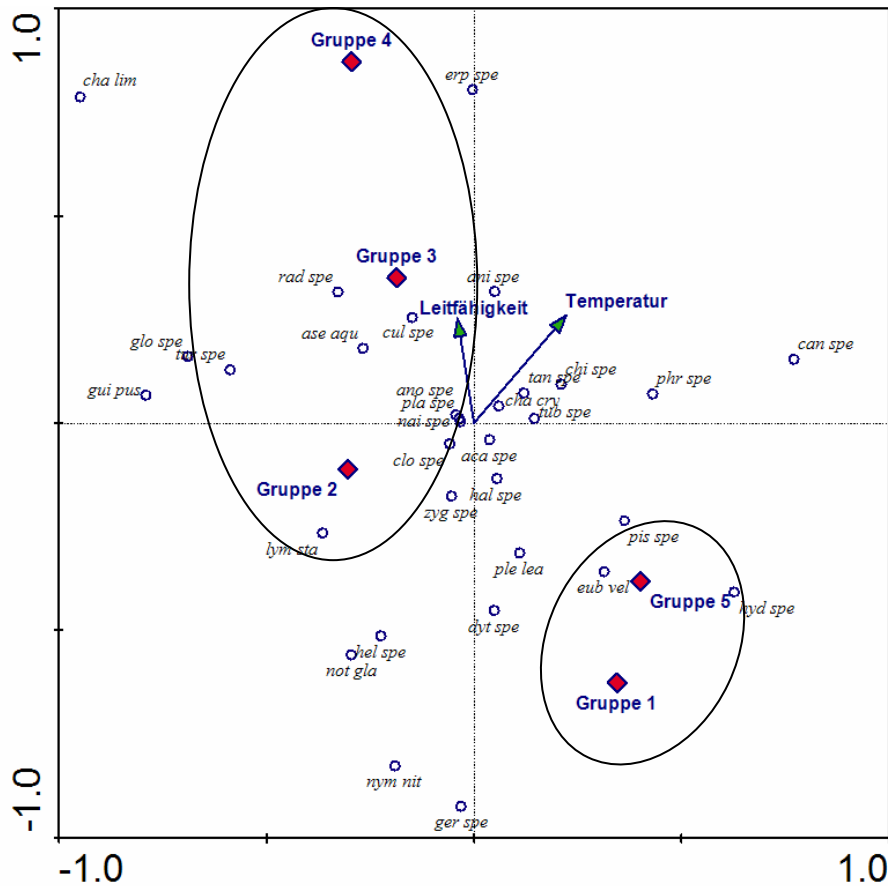
**Abbildung 3.67:** PRC 1, PRC 2 und PRC 3 Makroinvertebraten bepflanzungsabhängig 2005

Die Species-Scores entsprechen denjenigen der Einzel-PRC (siehe Tabelle 3.9) und sind nicht erneut dargestellt. Die  $C_{dt}$ -Werte liegen für PRC 1 – Level 3 bis Anfang August deutlich unter den Werten der anderen Gruppen. Auch die Irrtumswahrscheinlichkeit liegt für PRC 1 mit  $p = 0,07$  oberhalb des Signifikanzniveaus, was ebenfalls dafür spricht, dass die Belastung in dieser Gruppe weniger Effekte zeigt.

Wie bereits bei der Analyse der Zooplanktondaten, spielt auch hier die Bioverfügbarkeit der Substanz eine entscheidende Rolle (vgl. Abschnitt 3.2.9). Diese ist aufgrund der größeren Oberfläche in den stärker bepflanzten Bereichen deutlich niedriger. Dennoch sind die Unterschiede im Vergleich zu den Zooplanktondaten nicht so ausgeprägt. Eine mögliche Erklärung dafür wäre folgende: Nachdem in den Versuchssystemen keine Fische waren und die Makroinvertebraten somit im System die höchste Trophieebene darstellen, sind indirekte Effekte auszuschließen. Demnach spielen Schlupflöcher als Fluchtmöglichkeit für die Gesellschaft der Makroinvertebraten nur eine untergeordnete Rolle.

### 3.3.11 Kanonische Korrespondenz Analyse

Auch für die Makroinvertebraten-Daten wurde eine CCA durchgeführt um nichtlineare Zusammenhänge besser darstellen zu können. Zunächst wurde mittels „forward selection“ die Signifikanz der Zusammenhänge geprüft. Dabei zeigte sich nur für die Bepflanzung, die Temperatur und die Leitfähigkeit ein signifikanter Zusammenhang mit den Makroinvertebraten-Daten. Diese Daten sind in Abbildung 3.68 dargestellt.



**Abbildung 3.68** Zusammenhänge zwischen Bepflanzung, Makroinvertebratengesellschaft und signifikanten Messwerten 2004

Man erkennt deutlich auch bei dieser Art der Analyse die bereits durch die PRC dargestellte Zweiteilung der Pflanzgruppen.



### 3.4 Allozyme

Die Daten der genetischen Variabilität wurden mittels Allozym-Elektrophorese von *Asellus aquaticus* gewonnen. In mehreren Vorversuchen wurden verschiedenste Enzyme getestet. Besonderes Augenmerk war dabei auf folgende Punkte gerichtet: Die Allozyme müssen sich deutlich unterscheiden lassen, die Proteinbanden müssen deutlich erkennbar sein und die Proteine müssen alle im gleichen elektrophoretischen System (pH-Wert, Stromstärke, etc.) trennbar sein. Da es für die elektrophoretische Trennung von Proteinen je nach Art der untersuchten Substanz verschiedenste Techniken gibt, wurden die Techniken zunächst auf *Asellus aquaticus* angepasst. Als Vorauswahl wurde Augenmerk auf folgende Enzyme gerichtet: ACP, ALP, EST, LAP, GPI und MDH (Vorauswahl nach Eric Verspoor, FRS Marine Laboratory, UK, mündliche Mitteilung). Davon erwiesen sich ALP, GPI und EST als geeignete Proteine.

#### 3.4.1 Glucose-6-Phosphat Isomerase

Für GPI wurden während der Versuchsperiode 6 verschiedene Phänotypen gefunden (Abb. 3.69). Die gefundene Variation entspricht derjenigen, die für ein dimeres Protein mit codominanten Allelen aus einem Locus erwartet wird (Verspoor, 1982).

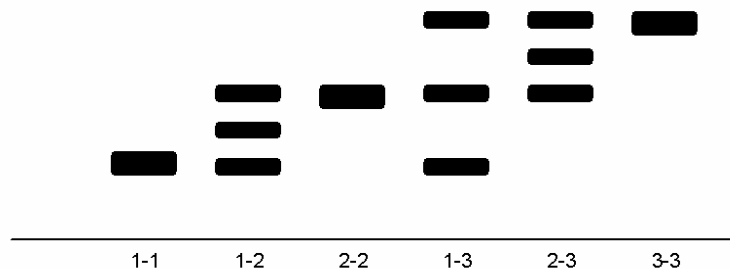


Abbildung 3.69: Phänotypen GPI (schematische Darstellung)

### 3.4.2 Alkalische Phosphatase

Das Enzym ALP kann als monomere oder dimere Form vorliegen. So zeigten auch die gefundenen Phänotypen ein Bandenmuster, das man von diesem Enzym erwarten würde. Die Abbildung 3.70 zeigt diese Phänotypen.

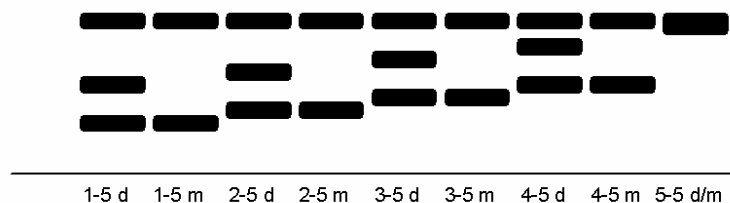


Abbildung 3.70: Phänotypen ALP (schematische Darstellung)

### 3.4.3 Esterase

Trotz vielversprechender Vorversuche, konnten die Daten des Esterase-Stainings keinem eindeutigen Muster zugeordnet werden. Dies lag an verschiedenen Gründen. Zum einen wurde eine Färbemethode verwendet, die unspezifische Esterase-Proteine färbt. Zum anderen wird dieses Enzym von einer Vielzahl unbekannter Loci codiert, was eine eindeutige Zuordnung der Bandenmuster stark erschwert (Richardson *et al.*, 1986). Ein weiterer Grund ist, dass es sich bei Esterasen um Hydrolasen und Lipasen handelt, die abhängig von der Nahrung der Individuen sehr unterschiedlich exprimiert werden.

Die Auswertung der Allozyme beschränkt sich deshalb in der vorliegenden Arbeit nur auf ALP und GPI.

### 3.4.4 Diversität

Die genetische Diversität wurde mit Nei's Diversitäts Index geschätzt. So zeigt sich sowohl für GPI als auch für ALP eine deutliche Abnahme der Diversität in der höchsten Belastungsstufe (vgl. Abb. 3.71 und 3.72). Da an den ersten Tagen nach der Belastung keine Isopoden gefangen wurden, ist dieser Effekt jedoch erst einige Zeit nach der Applikation zu beobachten. Bezüglich der GPI-Phänotypen ist dieser Effekt deutlicher ausgeprägt als bei ALP. Außerdem fällt auf, dass bei ALP die restlichen Belastungsstufen sehr ähnlich zur Kontrolle verlaufen. Bei GPI jedoch zeigt sich deutlich, dass Level 2 nach der Applikation sogar eine höhere Diversität als die Kontrolle zeigt. Zum Ende der Studie liegen sowohl für ALP als auch für GPI alle Gruppen wieder im Kontrollbereich. Für GPI ist dies in Level 3 nicht durch mehrmalige Messungen bestätigt. Dabei spielen direkte Zusammenhänge zwischen

der Anzahl der gefundenen Individuen und der Diversität keine Rolle, wie beispielsweise im Vergleich der Abundanz und Diversität von Belastungsstufe 2 deutlich wird. Dementsprechend erkennt man eine niedrige Abundanz im Vergleich zu einer erhöhten (GPI) bzw. gleich bleibenden (ALP) Diversität.

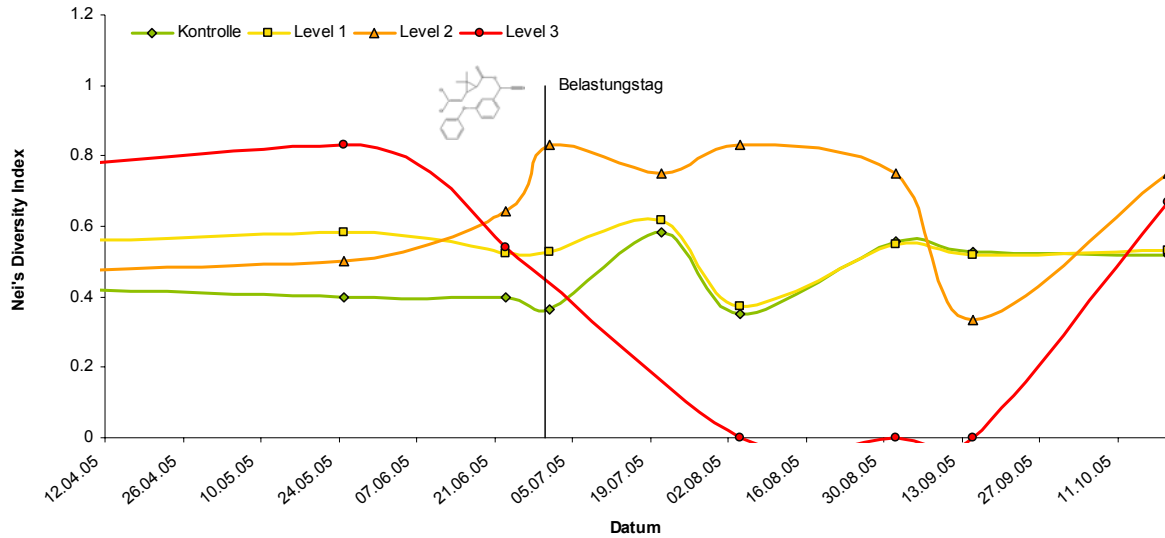


Abbildung 3.71: Nei's Diversity Index GPI; Belastungsgruppen

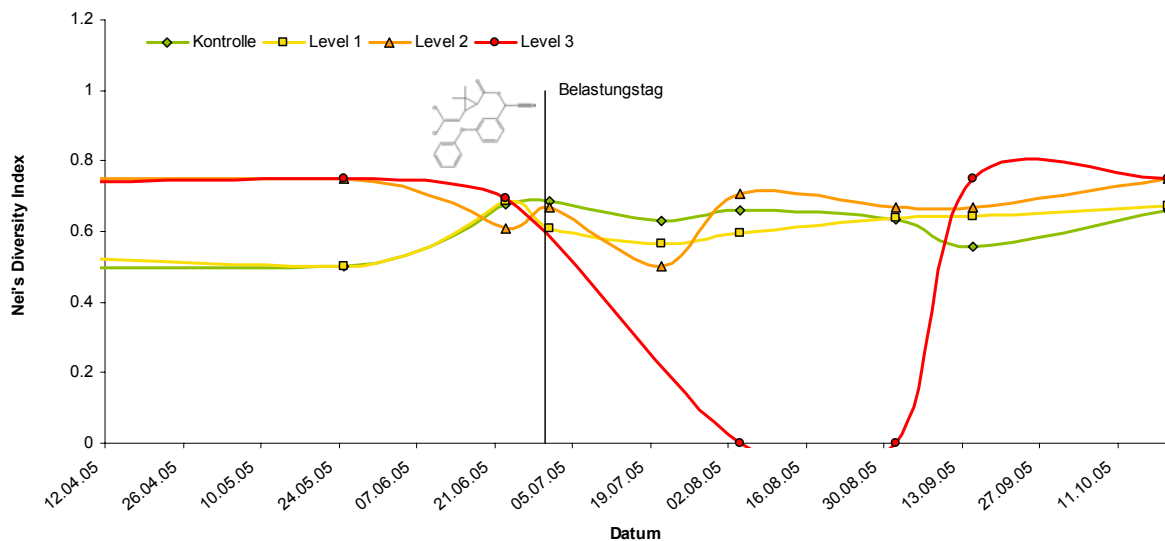


Abbildung 3.72: Nei's Diversity Index ALP; Belastungsgruppen

Hinsichtlich der Bepflanzung wird im Folgenden der Mittelwert der einzelnen Bepflanzungsgruppen vor der Belastung dargestellt. Dabei zeigen sich deutliche bepflanzungsbedingte Unterschiede (siehe Abb. 3.73 und 3.74). So erkennt man bei GPI, dass Gruppe 1 die niedrigste Diversität zeigt und in Gruppe 3 das Maximum der Diversität erreicht ist. Auch die Diversität bezüglich der ALP-Phänotypen zeigt ein ähnliches Bild, mit einem Maximum in Gruppe 3. Diese Ergebnisse stehen in guter Relation zu der bereits gezeigten Abundanz von *Asellus aquaticus*. Demgemäß zeigte sich auch in Abschnitt 3.3.8, dass in Bepflanzungsgruppe 1 die niedrigste und Gruppe 3 die höchste Abundanz zu finden war.

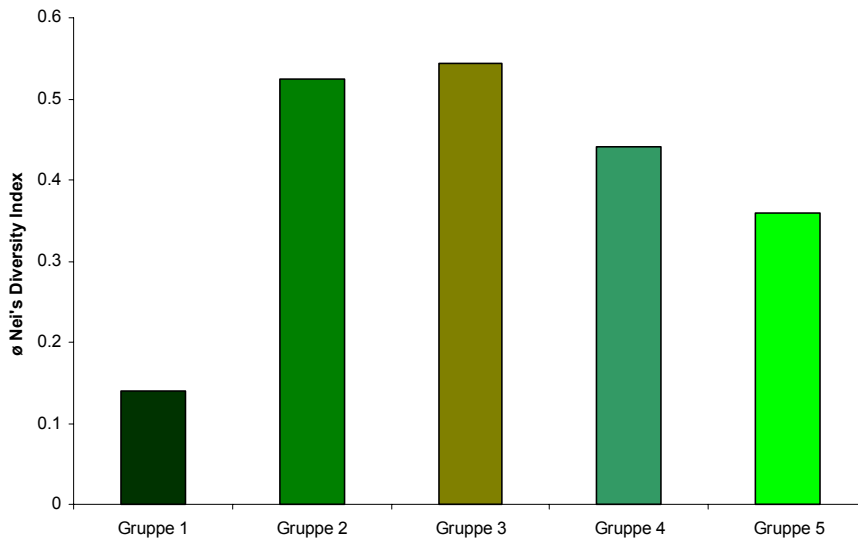


Abbildung 3.73: Nei's Diversity Index GPI; Bepflanzungsgruppen

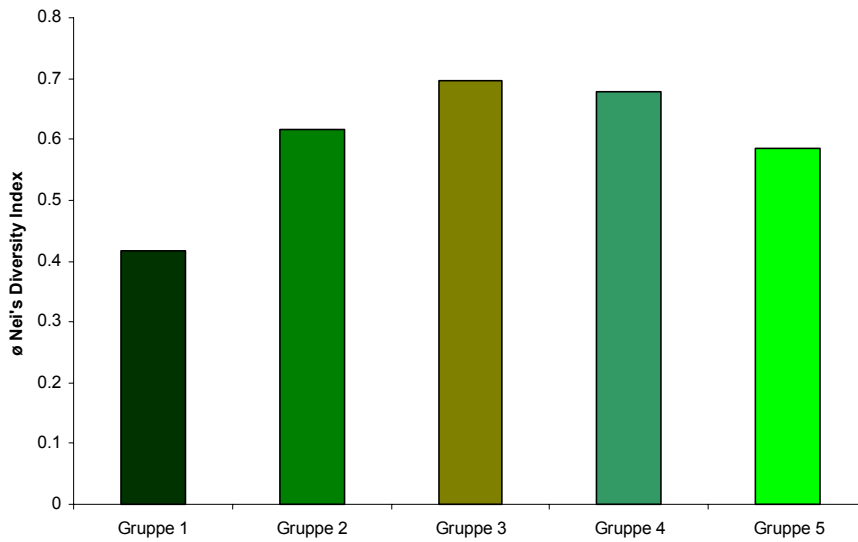


Abbildung 3.74: Nei's Diversity Index ALP; Bepflanzungsgruppen

### 3.4.5 PRC-Analyse

Auch die Analyse der  $C_{dt}$ -Werte der Phänotypen zeigt belastungsabhängige Effekte (siehe Abb. 3.75).

So ist Level 1 der Kontrolle sehr ähnlich, Level 2 zeigt starke und Level 3 die stärksten Abweichungen. Die Ergebnisse sind darüber hinaus mit  $p = 0,026$  signifikant. Die Auswirkungen zeigen bis zum Ende der Studie in Level 2 und 3 trotz der Tendenz in Richtung Kontrollen keine Recovery.

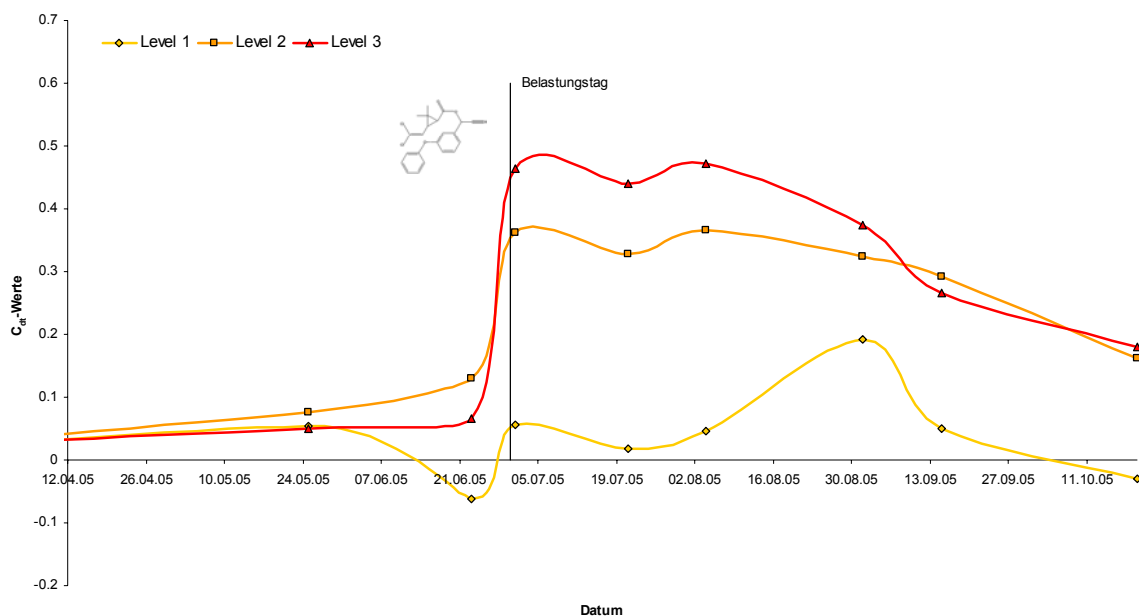


Abbildung 3.75: PRC Phänotypen 2005

Die beobachtete Variabilität ist entsprechend der statistischen Analyse auf folgende Ursachen zurückzuführen:

Summary:	
9.10%	der Varianz sind durch Zeiteffekte zu erklären
19.80%	der Varianz sind durch die Behandlung mit Cypermethrin zu erklären
18.60%	der Varianz sind durch die unterschiedliche Bepflanzung zu erklären
52.50%	der Varianz bleiben unerklärt
53.70%	dieser Varianzen sind von der abgebildeten PRC erfasst worden

Tabelle 3.12: Varianzanalyse der PRC Phänotypen 2005

Wurde bei Zooplankton und Makroinvertebraten der Zusammenhang zu den einzelnen Arten hergestellt, so werden hier die Zusammenhänge zu den einzelnen Phänotypen hergestellt. In Tabelle 3.13 sind die relevanten Phänotypen aufgelistet und die Zusammenhänge anhand der Species-Scores dargestellt.

Es fällt auf, dass offensichtlich solche Moleküle, die bei der Elektrophorese am weitesten gewandert sind, besonders anfällig auf die Belastung reagieren.

Die durchlaufene Wegstrecke steht bei der Elektrophorese von Proteinen in direktem Zusammenhang mit Molekülgröße und Ladung (Brewer, 1970). So bewegen sich kleine, negativ geladene Proteine schneller in Richtung Anode als große, positiv geladene Proteine. Dementsprechend zeigen also bei GPI besonders die kleinen, negativ geladenen Phänotypen eine sensitive Reaktion auf die Belastung. Bei ALP erkennt man, dass besonders die dimeren Formen eine sensitive Reaktion zeigen.

<b>Phänotyp</b>	<b>Species-Scores</b>
GPI 2 - 2	-0.822
ALP 2 - 5 (Dimer)	-0.8908
ALP 1 - 5 (Dimer)	-1.1127
GPI 2 - 3	-1.3566
ALP 3 - 5 (Dimer)	-1.9264
GPI 3 - 3	-2.499

**Tabelle 3.13:** Species-Scores der PRC Phänotypen 2005

### 3.4.6 Cluster-Analyse

Ziel der Cluster-Analyse war es die genetische Entfernung zwischen den Bepflanzungs- oder Belastungsgruppen darzustellen. Tabelle 3.14 zeigt die berechneten genetischen Distanzen, sowie das dazu berechnete Dendrogramm.

<b>Distance / Similarity Matrix</b>				
	<i>Kontrolle</i>	<i>Level 1</i>	<i>Level 2</i>	<i>Level 3</i>
<i>Kontrolle</i>	***	0.922	0.934	0.974
<i>Level 1</i>	0.008	***	0.963	0.983
<i>Level 2</i>	0.068	0.038	***	0.958
<i>Level 3</i>	0.026	0.017	0.043	***
<b>Clustering Strategy</b>				
<i>Cluster</i>	<i>1st Item</i>	<i>2nd Item</i>	<i>Distance</i>	
1	Kontrolle	Level 1	0.008	
2	Cluster 1	Level 3	0.022	
3	Cluster 2	Level 2	0.050	
<b>Dendrogramm</b>				

**Tabelle 3.14:** Cluster-Analyse der genetischen Distanz nach dem 30.06.05; Belastungsgruppen

Hier zeigt sich, dass die geringsten Unterschiede zwischen den Kontrollen und Level 1 herrschen, gefolgt von Level 3 und Level 2. Aufgrund der sehr niedrigen Werte ist aber nicht unbedingt von genetischer Distanz zu sprechen. Obwohl auch Studien mit höheren Organismen oder Bakterienkulturen bisher keinen gentoxischen Effekt nachweisen konnten (Pronk *et al.*, 1996), zeigt dieses Bild nicht das erwartete Ergebnis.

Das Baumdiagramm aus der Cluster-Analyse der Bepflanzungsgruppen zeigt ebenfalls interessante Ergebnisse (siehe Tabelle 3.15).

<b>Distance / Similarity Matrix</b>					
	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5
Gruppe 1	***	0.020	0.055	0.013	-0.005
Gruppe 2	0.020	***	-0.006	-0.006	0.027
Gruppe 3	0.055	-0.006	***	0.003	0.047
Gruppe 4	0.013	-0.006	0.003	***	0.009
Gruppe 5	-0.005	0.027	0.047	0.009	***

<b>Clustering Strategy</b>			
Cluster	1st Item	2nd Item	Distance
1	Gruppe 3	Gruppe 2	-0.006
2	Gruppe 5	Gruppe 1	-0.005
3	Cluster 1	Gruppe 4	-0.001
4	Cluster 3	Cluster 2	0.028

**Dendrogramm**

Das Dendrogramm zeigt die hierarchische Zusammenführung der fünf Bepflanzungsgruppen basierend auf ihrer genetischen Distanz. Die Gruppen 3, 2 und 4 sind die am stärksten verwandten (geringste Distanz). Diese drei Gruppen vereinen sich bei einer Distanz von ca. 0.028 mit der Gruppe 5 und 1, was die Bildung der beiden Hauptgruppen bestätigt.

**Tabelle 3.15:** Cluster-Analyse der genetischen Distanz vor dem 30.06.05; Bepflanzungsgruppen

Deutlich erkennt man zwei Hauptgruppen, in die man die Bepflanzungsgruppen einteilen kann. Demnach sind Gruppe 3, 2 und 4 sehr ähnlich und entsprechend die Gruppen 5 und 1. Vergleicht man dieses Ergebnis mit den bereits gezeigten Analysen der ökologischen Daten (PRC und CCA) der Makroinvertebraten, so erkennt man, dass in den unterschiedlichen Untersuchungsebenen annähernd identische Zusammenhänge zwischen den einzelnen Bepflanzungsgruppen vorherrschen (vgl. Abb. 3.66 und 3.68).



### 3.5 Cypermethrin-Rückstandsanalyse

Zur Analyse der verbleibenden Cypermethrin-Rückstände wurden aus den belasteten Enclosures an Tag 1 und Tag 7 Proben entnommen. Die Daten wurden mit folgender nichtlinearen Regression standardisiert:

$$(9) \quad y = \frac{(a + b \cdot x)}{(1 + c \cdot x)}$$

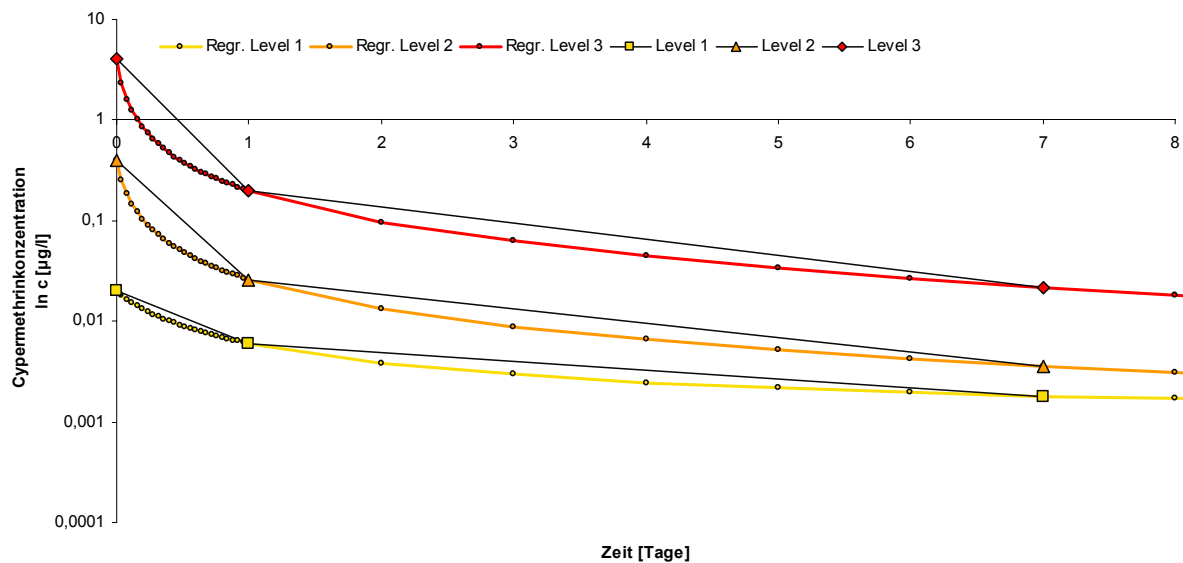
mit  $a$  = Ausgangskonzentration [ $\mu\text{g/l}$ ]

Bei der Berechnung wurden die Daten der Ausgangskonzentration, Tag 1 und Tag 7 verwendet. Daraus konnten für die einzelnen Belastungsstufen folgende Koeffizienten und Ergebnisse ermittelt werden:

Cyp.-Konz.	$a$	$b$	$c$	$DT_{50}$ [h]	$R$	$p$
Level 1	0,02	0,0023	2,7143	9,6	1	< 0,0001
Level 2	0,4	-0,0056	14,1684	1,68	1	< 0,0001
Level 3	4	-0,1682	18,3524	1,2	1	< 0,0001

**Tabelle 3.16:** Koeffizienten und Halbwertszeiten der Regression

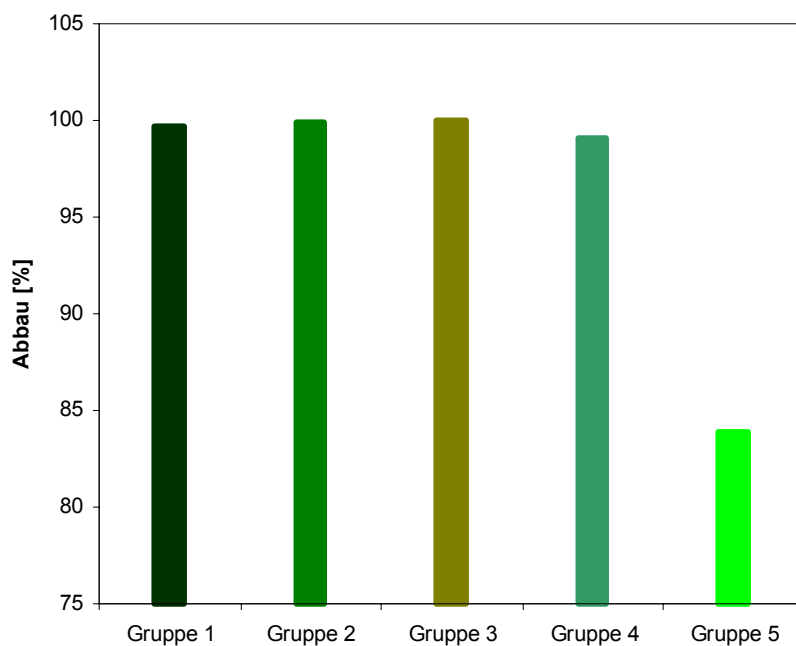
Die berechneten Regressionen waren für alle Datensätze passend und hochsignifikant ( $p < 0,0001$ ). Die Betrachtung aller Belastungsstufen zeigt eine mittlere Halbwertszeit von 4,08 Stunden. Abbildung 3.76 zeigt die Messwerte in Kombination mit den berechneten Regressionen (Logarithmische Darstellung).



**Abbildung 3.76:** Abbaukurven Cypermethrin

Auch in anderen Studien, die den Abbau von Cypermethrin in natürlicher Umgebung oder umweltnahen Mesokosmen untersuchten, wurden mit  $DT_{50}$  Werten von 1-6 h ähnlich kurze Halbwertszeiten gefunden (Takahashi *et al.*, 1985; Funk, 2004).

Die Analyse der Halbwertszeiten mit Unterscheidung der Bepflanzungsgruppen zeigte keine nennenswerten Unterschiede. Betrachtet man aber die Daten im Detail, so wird deutlich, dass in den Enclosures mit natürlicher Bepflanzung nach 7 Tagen annähernd keine Substanz mehr nachweisbar war und ca. 99,9 % abgebaut waren. Demgegenüber zeigte sich in den Enclosures mit künstlicher Bepflanzung nur ein Abbau von 99 % und in den Enclosures ohne Bepflanzung sogar nur ein Abbau von 84 % (siehe Abb. 3.77).



**Abbildung 3.77:** Prozentualer Abbau des Cypermethrin nach 7 Tagen; Bepflanzungsgruppen

Man erkennt zwar innerhalb der natürlichen Bepflanzungsgruppen keinen Unterschied. Jedoch zeigt sich eine deutlich niedrigere Abbaurrate in unbepflanzten Bereichen. Hinsichtlich der bereits beschriebenen Eigenschaften von Cypermethrin, mit seiner sehr hohen Adsorptionsfähigkeit an organische Substanzen (vgl. 2.2), entspricht dieses Ergebnis der Erwartung.

### 4 Schlussdiskussion

In der Arbeit wurden funktionelle, strukturelle und molekulare Parameter eines aquatischen Modellökosystems im Zusammenhang mit unterschiedlichen Belastungs- und Bepflanzungsgruppen untersucht.

Hinsichtlich der Belastung mit Cypermethrin zeigten die physikalischen und chemischen Kenngrößen des Wasserkörpers nur mäßige Effekte. Nur Sauerstoffgehalt, pH-Wert und Leitfähigkeit lassen Zusammenhänge mit der Belastung vermuten. Signifikanz erwies sich jedoch nur für den pH-Wert und die Leitfähigkeit. Diese Veränderungen lassen sich mit indirekten, im Zusammenhang mit der Belastung auftretenden Topdown-Effekten in der Nahrungspyramide erklären. Hinsichtlich der Bepflanzung waren die beobachteten Effekte deutlicher. So konnte man für die Leitfähigkeit und die Alkalinität klare Zusammenhänge erkennen. Signifikanz erwies sich aber nur für die Alkalinität. Sowohl Leitfähigkeit als auch Alkalinität stehen in engem Zusammenhang mit der Primärproduktion und der Photosyntheseleistung des Systems. Dies erklärt auch die beobachteten Schwankungen im Zusammenhang mit der aquatischen Flora oder mit jahreszeitlichen Veränderungen. Folglich reagieren die physikalisch-chemischen Parameter, wie auch andere Studien festgestellt haben, relativ unempfindlich auf toxische Belastungen mit Cypermethrin (Brock *et al.*, 2000; Caquet *et al.*, 2001).

Für die Zooplanktongesellschaft konnten hinsichtlich der Belastung verschiedene Effekte beobachtet werden. So zeigten sich im Allgemeinen eher indirekte Effekte auf die Gesellschaft, die aber bei manchen Arten und besonders in der höchsten Belastungsstufe mit direkten Effekten in Wechselbeziehung standen.

Es konnten Veränderungen bei der Dominanz beobachtet werden. Die Gesamtabundanz wies einen stark belastungsabhängigen Anstieg auf. Auch die Diversität war in den beiden höchsten Belastungsstufen niedriger als in der Kontrolle. Dementsprechend wurden auch mittels multivariater Analyse signifikante Auswirkungen auf die Gesellschaft der Zooplankter nachgewiesen. Wie bereits bei den Abundanzdaten waren auch hier die Effekte bei bestimmten Arten besonders ausgeprägt: Für *Keratella cochlearis* und *Keratella quadrata* sowie die Familie der Cyclopiden bestätigten sich demnach starke indirekte Effekte. Die Entwicklungsstadien der Nauplien und Copepoditen zeigten dabei deutlichere sekundäre Effekte als die Adulten. Hingegen konnten bei *Ostracoda*, *Euchlanis dilatata*, *Graptoleberis testudinaria* und *Alonella nana* direkte Effekte nachgewiesen werden. Die indirekten Effekte stehen dabei eindeutig mit dem drastischen Rückgang räuberischer Insekten in Verbindung. Auch die Analyse der Abundanz bestätigt diese Ergebnisse: Rotatorien zeigten unmittelbar nach der Belastung einen konzentrationsabhängigen Anstieg der Abundanz; Cladoceren und Copepoden erlitten in den höheren Belastungsstufen nach der Applikation zunächst einen

Einbruch der Individuendichte, profitierten aber später von dem Wegfall der Fraßfeinde; bei *Ostracoda* waren direkte negative Effekte bestimmend.

Die Bepflanzung zeigte auf Artniveau keine eindeutigen Effekte. Diesbezüglich wurden aber auf übergeordneten Ebenen Zusammenhänge ersichtlich. So konnte man beim Artenreichtum und der Gesamtabundanz erkennen, dass die Bepflanzungsgruppen 1 und 2 höhere Werte als die restlichen Gruppen hatten. Bei Betrachtung der Diversität wurden für die Gruppen 1 und 2 jedoch niedrigere Werte gefunden. Die Auswertung der Dominanz zeigte leichte Unterschiede, die hauptsächlich die Gruppe der Cladoceren und *Ostracoda* betraf. Auch die multivariate Statistik ergab signifikante Zusammenhänge mit den Bepflanzungsgruppen, wobei sich die Gruppen 4 und 5 besonders deutlich vom Rest abhoben.

Hinsichtlich bepflanzungsbedingter Sensitivität lieferten die Daten der Abundanzen keine Hinweise auf Zusammenhänge. Jedoch konnte die statistische Auswertung schwache aber signifikante Zusammenhänge aufweisen. Eine abnehmende Bepflanzung zeigt demnach eher direkte, negative Effekte und umgekehrt eine zunehmende Bepflanzung eher positive, indirekte Effekte.

Zusammenfassend resultiert die Belastung auf die Zooplanktongesellschaft in folgenden Effekten:

Die Wirkung auf das Zooplankton erfolgt überwiegend auf indirekte Weise. Dies wird durch die Ergebnisse anderer Studien bestätigt (Maund *et al.*, 1995; Wendt-Rasch *et al.*, 2003). Sie ist insbesondere auf den Wegfall des invertierten Räubers *Chaoborus crystallinus* zurückzuführen. *Keratella cochlearis*, *Keratella quadrata* und die verschiedenen Entwicklungsstadien der Copepoden scheinen dabei seine bevorzugte Beute zu sein. Cypermethrin zeigt hauptsächlich auf Crustaceen eine direkte schädigende Wirkung. Das Zooplankton nutzt besonders natürliche Makrophyten als ihren bevorzugten Lebensraum. Unterschiede in der Bepflanzung führen aber nur zu leichten Veränderungen hinsichtlich der Sensitivität auf die Gesellschaft. Dabei spielen die Größe der Adsorptionsfläche (hinsichtlich direkter Effekte) und Fluchtmöglichkeiten vor Fraßfeinden (hinsichtlich indirekter Effekte) eine Rolle.

Für die Makroinvertebratengesellschaft ergeben sich hinsichtlich der Belastung hauptsächlich direkte Effekte in Form von abnehmender Abundanz. So resultierte die Belastung in einer deutlichen Abnahme der Artenzahl und der Gesamtabundanz. Auch die Dominanzverteilung zeigt starke Veränderungen in der Gesellschaftsstruktur. Die Diversität weist nur schwache und unklare Zusammenhänge mit der Belastung auf. Allerdings zeigen die einzelnen Gesellschaften eine deutliche Gleichverteilung als Resultat auf den Cypermethrin-Eintrag. Effekte auf niedrigeren taxonomischen Ebenen werden besonders für die Insecta, Crustacea und Clitellata deutlich. Die Insekten wurden zahlenmäßig von *Chaoborus crystallinus* dominiert. Diese Art nimmt für viele Wechselbeziehungen im untersuchten System eine entscheidende Schlüsselrolle ein. Aufgrund der Abwesenheit von Fischen und ihrer hohen Individuenzahl sind diese Larven die wichtigsten Räuber im System. Zum

anderen reagiert diese Art sehr sensitiv auf die Belastung und ermöglicht so die Ausprägung indirekter Effekte. Dabei profitieren Arten, die zu ihren Beuteorganismen zählen oder auch Nahrungskonkurrenten. Auch die meisten anderen Insekten zeigten direkte Effekte auf die Belastung. Eine Ausnahme war die Libellen-Unterordnung der *Zygoptera*. Hier ergab sich eine deutliche Wechselbeziehung zwischen direkten und indirekten Effekten. *Asellus aquaticus* war bei der Gruppierung der Makroinvertebraten die einzige Art der Crustaceen. Die Art reagiert sehr sensitiv auf das Pyrethroid, jedoch scheint der Sensitivitätslevel höher zu liegen, da nur in den beiden höchsten Belastungsstufen ein Effekt beobachtet wurde. Indirekte Effekte zeigten sich hauptsächlich bei der Familie der *Naididae*. Dabei spielt erneut der Wegfall von Räubern aber auch ein größeres Nahrungsangebot durch die zunehmende Zahl toter Organismen eine Rolle. Entsprechend dieser Ergebnisse zeigte auch die PRC hochsignifikante Zusammenhänge mit der Belastung. Dabei erwiesen sich ebenfalls *Chaoborus crystallinus* und *Asellus aquaticus* als besonders sensitive Organismen. Auch für die Familie der *Naididae* bestätigten sich die indirekten Effekte.

Effekte der unterschiedlichen Bepflanzungsgruppen auf die Makroinvertebraten wurden auf verschiedenen Ebenen deutlich. Die Makrophyten sind für einen Großteil der Makroinvertebraten der wichtigste Lebensraum. Dabei spielen das Nahrungsangebot, Fluchtmöglichkeiten und entwicklungsbedingte Faktoren eine Rolle. So ergab eine abnehmende Bepflanzung auch eine Abnahme der Artenzahl. Auf Artebene zeigten sich nur für *Asellus aquaticus* deutliche Zusammenhänge mit der Bepflanzung. Auch die statistische Auswertung machte Zusammenhänge mit der Bepflanzung deutlich und konnte Unterschiede in der Gesellschaft der Makroinvertebraten aufzeigen.

Die Untersuchung der Belastungs-Sensitivität hinsichtlich unterschiedlicher Bepflanzungsgruppen zeigte auf Artebene nur für *Chaoborus crystallinus* und *Asellus aquaticus* Unterschiede. Für andere Taxa waren keine Unterschiede festzustellen. Auch die statistische Auswertung konnte nur schwache Unterschiede deutlich machen. Dabei zeigte sich nur für die Bepflanzungsgruppen mit weniger Bepflanzung ein signifikanter Zusammenhang mit den Belastungsstufen.

Auf Ebene der Makroinvertebraten können folgende Effekte zusammengefasst werden: *Chaoborus crystallinus* und *Asellus aquaticus* reagieren besonders empfindlich auf eine Pyrethroid Applikation (Stephenson, 1982; Brock *et al.*, 2004). Wie bei diesen Arten sind für andere Makroinvertebraten fast ausschließlich direkte, negative Effekte zu beobachten. Einzige Ausnahmen sind die *Zygoptera* (direkte und indirekte Effekte) und die Familie der *Naididae* (nur indirekte Effekte). *Chaoborus crystallinus* spielt als räuberische Larve mit sehr hoher Abundanz eine Schlüsselrolle im Ökosystem. Bepflanzungsabhängige Empfindlichkeit bezüglich der Belastung ist, wenn auch nur schwach, nur für *Chaoborus crystallinus* und *Asellus aquaticus* zu erkennen. Da für beide Arten keine Räuber im System vorhanden waren, sind bepflanzungsabhängige Effekte auf das Pyrethroid die wahrscheinlichste Erklärung.

Zur Untersuchung der genetischen Diversität wurden die Daten von mehr als 500 Proben ausgewertet. Dabei zeigte die Diversität von *Asellus aquaticus* auf molekularer Ebene Zusammenhänge mit der Belastung und der Bepflanzung. Für GPI wurden 6 und für ALP 9 verschiedene Phänotypen gefunden.

Die Diversität wies für GPI und ALP eine starke Abnahme in der höchsten Belastungsstufe auf. Außerdem war für GPI die Diversität in Level 2 leicht erhöht. Bei ALP lagen Level 1 und 2 im Bereich der Kontrollen. Obwohl keine Recovery nachgewiesen werden konnte, schienen sich die Werte gegen Ende der Studie zu erholen. Die statistische Auswertung ergab signifikante Zusammenhänge mit der Belastung. Die Zuordnung zu den Phänotypen offenbarte deutlichere Effekte auf kleine, dimere und negativ geladene Enzyme.

Die Diversität wies auch Zusammenhänge zu den verschiedenen Bepflanzungsgruppen auf. In der Bepflanzungsgruppe 1 wurde mit Abstand die niedrigste Diversität gefunden. Bei den Gruppen 2 bis 4 trat die höchste Diversität hervor. Auch die statistische Auswertung konnte diese Zusammenhänge bestätigen. Interessanterweise bildete sich für die Bepflanzungsgruppen hinsichtlich der genetischen Differenz das gleiche Muster, das bereits für die Makroinvertebratengesellschaft gezeigt wurde.

Grundsätzlich macht die Analyse der genetischen Diversität durch Allozym-Elektrophorese sowohl mit den Belastungsgruppen als auch mit den Bepflanzungsgruppen Zusammenhänge deutlich. Auch andere Studien beschreiben Zusammenhänge zwischen Umweltfaktoren und der genetischen Diversität von *Asellus aquaticus* (Christensen, 1977; Verspoor, 1983; Hargeby *et al.*, 2005).

In der vorliegenden Arbeit werden die Ursachen für die Diversität offensichtlich durch zwei Faktoren beeinflusst:

- Weniger bepflanzte Bereiche sind der bevorzugte Lebensraum und die Basis für eine intraspezifisch höhere Diversität.
- Sehr hohe Belastung mit Cypermethrin wirkt selektiv auf die Diversität von GPI und ALP.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wäre es für weitergehende Forschungsarbeiten sinnvoll, die Untersuchungen an verschiedenen Arten mit mehreren Enzymen zu wiederholen, bzw. mit DNA-Analysen zu erweitern (z.B. AFLP). Sollten sich auch hier die gezeigten Ergebnisse bestätigen, so wäre es wichtig, bei künftigen Studien dieser Art auch die Veränderung der genetischen Diversität mit in Betracht zu ziehen. Dadurch können auch die selektiv auf die genetische Diversität wirkenden Effekte einer Substanz in der natürlichen Umgebung besser beurteilt werden.

Die Untersuchung der Cypermethrin-Rückstände zeigte, dass das Cypermethrin schnell aus dem Wasserkörper verschwunden war. Die Regressionsanalyse ergab eine mittlere Halbwertszeit von ca. 4 Stunden. Dies entspricht Studien, die ebenfalls mit technischem Cypermethrin durchgeführt wurden (Takahashi *et al.*, 1985; Funk, 2004). Durch die Zugabe verschiedener chemischer Stabilisatoren liegen die Halbwertszeiten der landwirtschaftlich eingesetzten Produkte jedoch höher (Schettgen, 2000). Die Halbwertszeiten unterschieden sich hinsichtlich der Bepflanzungsgruppen unwesentlich. Jedoch ließ sich in den Enclosures mit natürlicher Bepflanzung prozentual weniger Cypermethrin nachweisen. Nach 7 Tagen waren dort annähernd 99,9 % der ursprünglichen Menge verschwunden. Die Enclosures ohne Bepflanzung zeigten aber noch ca. 26 % der Ausgangsmenge. Diese Ergebnisse machen deutlich, dass die Bepflanzung mit natürlichem Substrat in der Lage ist, das Verschwinden von Cypermethrin aus dem Freiwasser zu begünstigen. Die physikalischen Eigenschaften mit starkem Adsorptionspotential und der bevorzugten Bindung an organische Materialien in Kombination mit einer relativ niedrigen Halbwertszeit stehen mit diesem Ergebnis im Einklang. So belegen auch andere Studien Zusammenhänge zwischen Makrophyten und dem Abbauverhalten von Pyrethroiden (Hand *et al.*, 2001; Leistra *et al.*, 2004).

Die Bepflanzung spielt für die Zooplankton- und Makroinvertebratengesellschaften des Ökosystems ebenso wie beim Abbauverhalten des Wirkstoffs eine wichtige Rolle. Diese Aspekte sollten auch bei der Risikobeurteilung von insektiziden Wirkstoffen für die Übertragbarkeit der ökotoxikologischen Daten auf natürliche Freilandgewässer in Betracht gezogen werden. Eine unterschiedliche Wirkung, in Abhängigkeit von der Bepflanzung des betroffenen Gewässers, muss berücksichtigt werden.

Die Untersuchungsergebnisse machen deutlich, dass die unsachgemäße Anwendung von Cypermethrin zu drastischen Effekten auf die aquatische Insekten- und Zooplanktongesellschaft führt und sogar Veränderungen auf molekularer Ebene hervorruft. Zur Sicherung von aquatischen Ökosystemen sollte die Anwendung von Cypermethrin auf das nötigste Maß reduziert werden und wenn nötig nur in gebührendem Abstand zu Gewässern stattfinden.

## Anhang

Name	Firma	Strukturformel	Mw [g/mol]	Sonst
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat	Roth	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1235,86	
Ammoniumsulfat	Roth	$\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	132,14	
Bengalrosa B	Roth	$\text{C}_2\text{O}_2\text{H}_2\text{Cl}_4\text{J}_4\text{K}_2\text{O}_5$	1017,65	
Bromkressolgrün	Merck	$\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$	698,05	
Di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	174,18	
Dinatriumpentacyanonitrosylferrat	Merck	$\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}$		
Ethanol	Roth	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	46,07	99,8%
Indikatortabletten	Merck	-	-	
Kaliumantimon-(III)-Oxidatetrahydrat	Merck	$\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$	333,93	
Kaliumhydroxid	Merck	$\text{KOH}$	56,11	Plättchen
Kaliumnitrat	Roth	$\text{KNO}_3$	101,11	
Kaliumperoxidsulfat	Merck	$\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$	270,33	
L-Ascorbinsäure	Roth	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	176,12	
Methylrot	Merck	$\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$	296,31	
Natriumdichloroisocyanurat	Merck	$\text{C}_3\text{N}_3\text{Cl}_2\text{O}_3\text{Na}$	255,98	
Natriumhydroxid	Merck	$\text{NaOH}$	40,0	
Natriumsalicylat	J.T.Baker	$2\text{-HOC}_6\text{H}_4\text{COONa}$	160,11	
Salzsäurelösung	Roth	$\text{HCl}$		0,1N
Schwefelsäure	Roth	$\text{H}_2\text{SO}_4$	98,08	98%
Silicium Lösung	Merck	-	-	1g/l
Silikat Test	Aquamerck	-	-	Lsg. 1-3
Titriplex Lösung B	Merck	-	-	
Trinatriumcitrat	J.T.Baker	$\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	294,10	

Tabelle A.1: Chemikalienliste 1

Name	Firma	Strukturformel	Mw [g/mol]
Aceton	Roth	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	58,08 g/mol
Black K Salt	Sigma	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0,5\text{ZnCl}_4$	417,87 g/mol
Borsäure	Roth	$\text{H}_3\text{BO}_3$	61,84 g/mol
Citronensäure	Roth	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	192,13 g/mol
di-Natriumhydrogenphosphat	Merck	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	177,99 g/mol
Fast Blue BB Salt	Sigma	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl} \cdot 1/2\text{ZnCl}_2$	831,89 g/mol
Fructose 6-phosphate disodium salt hydrate	Sigma	$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{Na}_2\text{O}_5\text{P} \cdot x\text{H}_2\text{O}$	304,10
Glucose-6-phosphate Dehydrogenase	Sigma	One unit will oxidize 1,0 umol of Glucose-6-Phosphate to 6-Phospho-Gluconate per minute at pH 7,8 at 30 °C using NAD as Coenzyme	
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	136,09 g/mol
L-Leucyl-β-naphthylamide HCl	Sigma	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$	292,80 g/mol
Magnesiumchlorid Hexahydrat	Roth	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	203,3 g/mol
Maleic anhydride	Aldrich	$\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_3$	98,06 g/mol
Mangan(II)-chlorid-Tetrahydrat	Merck	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	197,91 g/mol
Natriumacetat Trihydrat	Merck	$\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	136,08 g/mol
Natriumchlorid	Fisher	$\text{NaCl}$	58,44 g/mol
Natriumhydroxid	Merck	$\text{NaOH}$	40,00 g/mol
Nicotinamide adenine dinucleotid (NAD)	Roth	$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_{14}\text{P}_2$	663,4 g/mol
Phenazine methosulfate (PMS)	Sigma	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2 \cdot \text{CH}_3\text{SO}_4$	306,34 g/mol
PVP Polyvinylpyrrolidon 25	Merck	$(\text{C}_6\text{H}_9\text{NO})_n$	~24000 g/mol
Salzsäure 32 %	Roth	$\text{HCl}$	36,46 g/mol
Stärke (nach Smithies)	Roth	$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$	(162,14) <sub>n</sub> g/mol
Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT)	Sigma	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrN}_5\text{S}$	414,32 g/mol
TRIS	Roth	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$	121,14 g/mol
α-Naphthyl Acetat	Roth	$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_2$	186,21 g/mol
α-Naphthyl-Acid-Phosphat	Sigma	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{OP}(\text{O})(\text{OH})(\text{ONa})$	264,15 g/mol

Tabelle A.2: Chemikalienliste 2



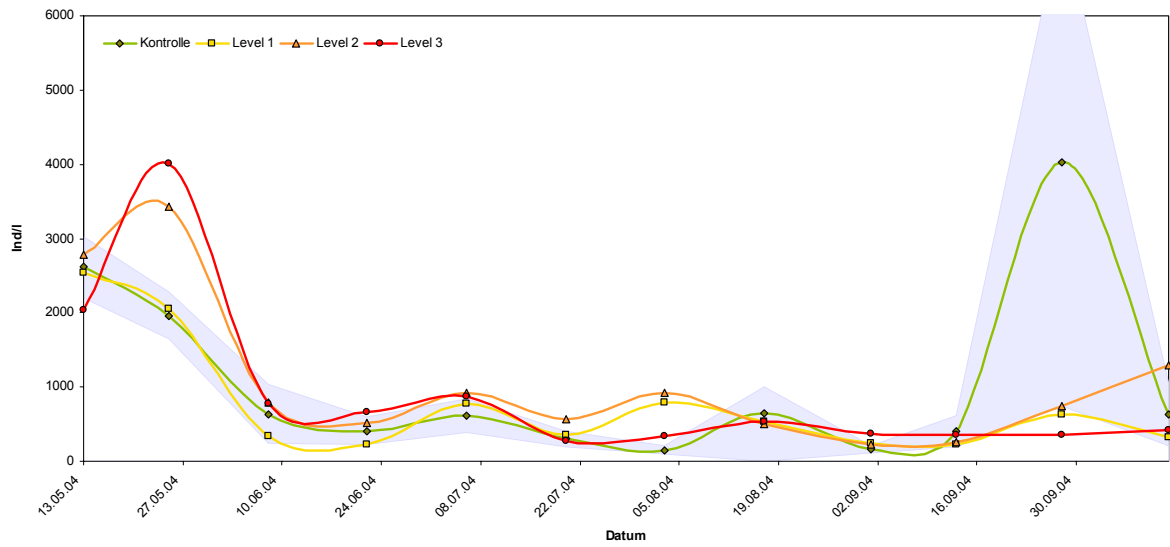


Abbildung A.1: Abundanz Rotatoria 2004; Belastungsgruppen

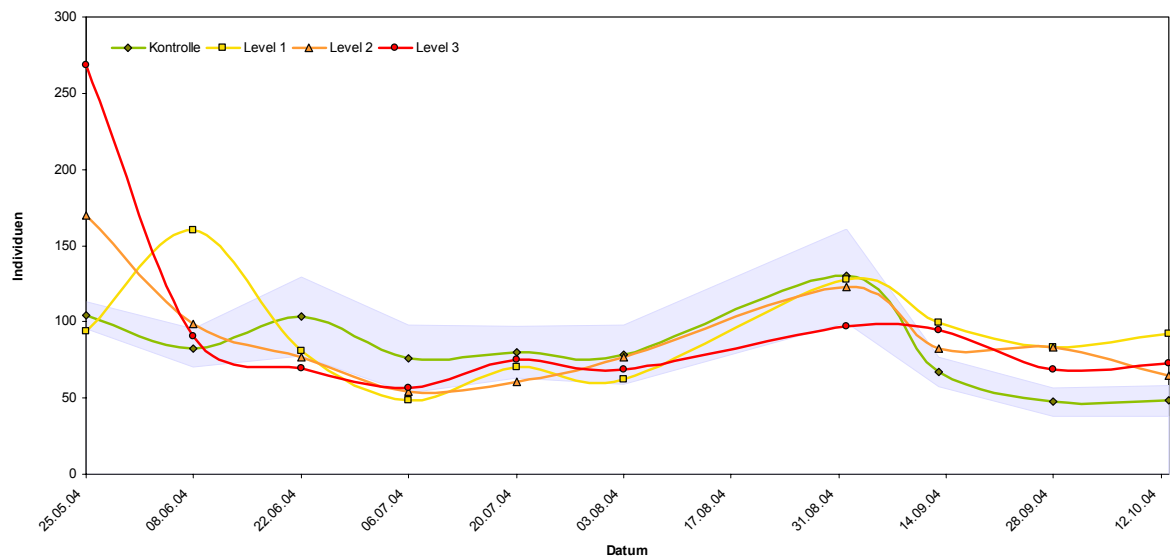


Abbildung A.2: Abundanz Insecta 2004; Belastungsgruppen

### Abkürzungen

ACP	Acid Phosphatase
ALP	Alkalische Phosphatase
CCA	Canonical Correspondence Analysis
$C_{dt}$	Kanonischer Koeffizient (C) für die (d)te Behandlung zum Zeitpunkt (t)
Dest.	Destilliert
DIN	Deutsches Institut für Normung
$DT_{50}$	Halbwertszeit
EST	Esterase
EU	Europäische Union
GC-ECD	Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektoren
GLP	Good Laboratory Practice
GPI	Glucose-6-Phosphat Isomerase
h	Stunden
Ind.	Individuen
LAP	Leucine Aminopeptidase
M	Molarität [mol/Liter]
MDH	Malat Dehydrogenase
MTT	Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotid
NOEC	No observed effect concentration
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PMS	Phenazine methosulfate
PRC	Principal Response Curve
PVP	Polyvenylpyrrolidon
SRP	Soluble Reactive Phosphorus
TP	Totalphosphat
UV/VIS	Ultraviolett und sichtbarer Bereich des Lichts
Vol.	Volumen

### Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1.1: <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> (aus Köhlers Medizinal Pflanzen (Pabst, 1887)).....	12
Abbildung 2.1: Mesokosmen .....	14
Abbildung 2.2: Wasserproben Entnahmegesetz .....	18
Abbildung 2.3: Kunstsubstrat .....	19
Abbildung 2.4: Elektrophorese-Gel vor dem Lauf .....	23
Abbildung 3.1: Temperaturwerte 2005; Bepflanzungsgruppen.....	32
Abbildung 3.2: Sauerstoffwerte 2005; Belastungsgruppen .....	33
Abbildung 3.3: pH-Wert 2005; Belastungsgruppen.....	34
Abbildung 3.4: Leitfähigkeit 2004; Bepflanzungsgruppen .....	35
Abbildung 3.5: Leitfähigkeit 2005; Bepflanzungsgruppen .....	35
Abbildung 3.6: Chlorophyll a Messwerte 2004; Bepflanzungsgruppen.....	36
Abbildung 3.7: Alkalinität 2004; Bepflanzungsgruppen .....	37
Abbildung 3.8: Bepflanzungsgruppen mit Umweltvariablen.....	39
Abbildung 3.9: Belastungsgruppen mit Umweltvariablen.....	39
Abbildung 3.10: Anzahl der Zooplanktontaxa 2004; Bepflanzungsgruppen .....	41
Abbildung 3.11: Anzahl der Zooplanktontaxa 2005; Belastungsgruppen .....	42
Abbildung 3.12: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Kontrolle .....	43
Abbildung 3.13: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Level 1 .....	43
Abbildung 3.14: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Level 2 .....	44
Abbildung 3.15: Dominanzverteilung Zooplankton 2005; Level 3 .....	44
Abbildung 3.16: Dominanzverteilung Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppe 1 .....	45
Abbildung 3.17: Dominanzverteilung Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppe 5 .....	45
Abbildung 3.18: Gesamtabundanz Zooplankton 2005; Belastungsgruppen.....	46
Abbildung 3.19: Gesamtabundanz Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppen.....	47
Abbildung 3.20: Abundanz Rotatoria 2005; Belastungsgruppen .....	48
Abbildung 3.21: Abundanz <i>Keratella cochlearis</i> 2005; Belastungsgruppen .....	49
Abbildung 3.22: Abundanz <i>Keratella quadrata</i> 2005; Belastungsgruppen .....	49
Abbildung 3.23: Abundanz Cladocera 2005; Belastungsgruppen.....	50
Abbildung 3.24: Abundanz <i>Simocephalus vetulus</i> 2005; Belastungsgruppen.....	51
Abbildung 3.25: Abundanz <i>Alona costata</i> 2005; Belastungsgruppen .....	51
Abbildung 3.26: Abundanz <i>Ostracoda</i> ssp. 2005; Belastungsgruppen.....	52
Abbildung 3.27: Abundanz Copepoda 2005; Belastungsgruppen .....	53
Abbildung 3.28: Abundanz <i>Eudiaptomus gracilis</i> (Copepoditen) 2005; Belastungsgruppen.....	54
Abbildung 3.29: Abundanz <i>Eudiaptomus gracilis</i> (Adulte) 2005; Belastungsgruppen .....	54
Abbildung 3.30: Abundanz <i>Cyclops</i> spec. (Copepoditen) 2005; Belastungsgruppen .....	55
Abbildung 3.31: Abundanz <i>Cyclops</i> spec. (Adulte) 2005; Belastungsgruppen.....	55
Abbildung 3.32: Shannon Index Zooplankton 2005; Belastungsgruppen .....	56
Abbildung 3.33: Evenness Zooplankton 2005; Belastungsgruppen .....	57
Abbildung 3.34: Evenness Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppen .....	57
Abbildung 3.35: PRC Zooplankton 2005.....	58
Abbildung 3.36: PRC Zooplankton 2004; Bepflanzungsgruppen.....	60
Abbildung 3.37: PRC 1, PRC 2 und PRC 3 Zooplankton bepflanzungsabhängig 2005.....	61
Abbildung 3.38: Zusammenhänge zwischen Bepflanzung, Zooplanktongesellschaft und signifikanten Messwerten 2004 .....	62
Abbildung 3.39: Anzahl der Makroinvertebratentaxa 2004; Bepflanzungsgruppen .....	64
Abbildung 3.40: Anzahl der Makroinvertebratentaxa 2005; Belastungsgruppen .....	65
Abbildung 3.41: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Kontrolle .....	65
Abbildung 3.42: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Level 1.....	66

Abbildung 3.43: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Level 2.....	66
Abbildung 3.44: Dominanzverteilung Makroinvertebraten 2005; Level 3.....	67
Abbildung 3.45: Gesamtabundanz Makroinvertebraten 2005; Belastungsgruppen.....	68
Abbildung 3.46: Gesamtabundanz Makroinvertebraten 2004; Bepflanzungsgruppen .....	69
Abbildung 3.47: Abundanz <i>Pisidium</i> spec. 2005; Belastungsgruppen.....	71
Abbildung 3.48: Abundanz Clitellata 2005; Belastungsgruppen .....	72
Abbildung 3.49: Abundanz <i>Naididae</i> spec. 2005; Belastungsgruppen .....	72
Abbildung 3.50: Abundanz Gastropoda 2005; Belastungsgruppen .....	73
Abbildung 3.51: Abundanz Insecta 2005; Belastungsgruppen .....	74
Abbildung 3.52: Abundanz <i>Chaoborus crystallinus</i> 2005; Belastungsgruppen .....	75
Abbildung 3.53: Abundanz <i>Chaoborus crystallinus</i> 2005; Bepflanzungsgruppen .....	76
Abbildung 3.54: Abundanz <i>Cloeon</i> spec. 2005; Belastungsgruppen.....	77
Abbildung 3.55: Abundanz <i>Cloeon</i> spec. 2004; Bepflanzungsgruppen.....	78
Abbildung 3.56: Abundanz <i>Zygoptera</i> spec. 2005; Belastungsgruppen .....	78
Abbildung 3.57: Abundanz <i>Plea leachi</i> 2005; Belastungsgruppen .....	79
Abbildung 3.58: Abundanz <i>Phryganeidae</i> spec. 2005; Belastungsgruppen .....	79
Abbildung 3.59: Abundanz <i>Asellus aquaticus</i> 2004; Bepflanzungsgruppen.....	80
Abbildung 3.60: Abundanz <i>Asellus aquaticus</i> 2005; Belastungsgruppen.....	81
Abbildung 3.61: Abundanz <i>Asellus aquaticus</i> 2005; Bepflanzungsgruppen.....	81
Abbildung 3.62: Shannon Index Makroinvertebraten 2005; Belastungsgruppen.....	82
Abbildung 3.63: Evenness Makroinvertebraten 2005; Belastungsgruppen .....	83
Abbildung 3.64: Anteil von <i>Chaoborus crystallinus</i> an der Gesamtpopulation 2005; Belastungsgruppen .....	83
Abbildung 3.65: PRC Makroinvertebraten 2005.....	84
Abbildung 3.66: PRC Makroinvertebraten 2004; Bepflanzungsgruppen .....	85
Abbildung 3.67: PRC 1, PRC 2 und PRC 3 Makroinvertebraten bepflanzungsabhängig 2005.....	87
Abbildung 3.68 Zusammenhänge zwischen Bepflanzung, Makroinvertebratengesellschaft und signifikanten Messwerten 2004 .....	88
Abbildung 3.69: Phänotypen GPI (schematische Darstellung) .....	89
Abbildung 3.70: Phänotypen ALP (schematische Darstellung).....	90
Abbildung 3.71: Nei's Diversity Index GPI; Belastungsgruppen .....	91
Abbildung 3.72: Nei's Diversity Index ALP; Belastungsgruppen.....	91
Abbildung 3.73: Nei's Diversity Index GPI; Bepflanzungsgruppen .....	92
Abbildung 3.74: Nei's Diversity Index ALP; Bepflanzungsgruppen.....	92
Abbildung 3.75: PRC Phänotypen 2005.....	93
Abbildung 3.76: Abbaukurven Cypermethrin.....	97
Abbildung 3.77: Prozentualer Abbau des Cypermethrin nach 7 Tagen; Bepflanzungsgruppen.....	98
Abbildung A.1: Abundanz Rotatoria 2004; Belastungsgruppen.....	105
Abbildung A.2: Abundanz Insecta 2004; Belastungsgruppen.....	105

Tabelle 2.1: Details der Mesokosmen .....	15
Tabelle 2.2: Bepflanzungssystem .....	15
Tabelle 2.3: Cypermethrin; Werte nach Angaben von Syngenta und (Takahashi <i>et al.</i> , 1985; Jones, 1995; Funk, 2004; Orme und Kegley, 2004) .....	16
Tabelle 2.4: Belastungsschema .....	17
Tabelle 2.5: Zuordnung Enclosure – Bepflanzungsgruppe – Belastungsstufe .....	17
Tabelle 2.6: Messgeräte .....	19
Tabelle 2.7: Nachweismethoden .....	20
Tabelle 3.1: Zusammenfassung der chemischen Parameter.....	38
Tabelle 3.2: Taxonomie des Zooplanktons .....	40
Tabelle 3.3: Varianzanalyse zur PRC Zooplankton 2005 .....	58
Tabelle 3.4: Species-Scores der PRC Zooplankton 2005.....	59
Tabelle 3.5: Varianzanalyse der PRC Zooplankton 2004 .....	59
Tabelle 3.6: Species-Scores der PRC Zooplankton 2004.....	60
Tabelle 3.7: Taxonomie der Makroinvertebraten .....	63
Tabelle 3.8: Varianzanalyse der PRC Makroinvertebraten 2005.....	84
Tabelle 3.9: Species-Scores der PRC Makroinvertebraten 2005 .....	85
Tabelle 3.10: Varianzanalyse der PRC Makroinvertebraten 2004 .....	86
Tabelle 3.11: Species-Scores der PRC Makroinvertebraten 2004 .....	86
Tabelle 3.12: Varianzanalyse der PRC Phänotypen 2005.....	93
Tabelle 3.13: Species-Scores der PRC Phänotypen 2005 .....	94
Tabelle 3.14: Cluster-Analyse der genetischen Distanz nach dem 30.06.05; Belastungsgruppen .....	95
Tabelle 3.15: Cluster-Analyse der genetischen Distanz vor dem 30.06.05; Bepflanzungsgruppen .....	96
Tabelle 3.16: Koeffizienten und Halbwertszeiten der Regression .....	97
Tabelle A.1: Chemikalienliste 1 .....	104
Tabelle A.2: Chemikalienliste 2 .....	104

## Literaturverzeichnis

- Ayala, F. J., Powell, J. R., Tracey, M. L., Mourao, C. A. und Perez-Salas, S.** (1972). *Enzyme variability in the Drosophila willistoni group. IV. Genic variation in natural populations of Drosophila willistoni*. *Genetics* 70(1): 113-39.
- Bellmann, H. und Steinbach, G.** (1996). *Leben in Bach und Teich : Pflanzen und Wirbellose der Kleingewässer*. München, Mosaik Verlag.
- Brewer, G. J.** (1970). *An introduction to isozyme techniques*. New York, Academic Press.
- Brock, T. C. M.** (1998). *Assessing chemical stress in aquatic ecosystems: remarks on the need of an integrative approach*. *Aquatic Ecology* 32(2): 107-111.
- Brock, T. C. M., Schroer, A. F. W., Belgers, J. D. M., Matser, A. M., Maund, S. J. und Van-den-Brink, P. J.** (2004). *Comparison of laboratory single species and field population-level effects of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin on freshwater invertebrates*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46(3): 324-335.
- Brock, T. C. M., Van Wijngaarden, R. P. A. und Van Geest, G. J.** (2000). *Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems*. Alterra Rapport 089.
- Brock, T. C. M., Van-Den-Bogaert, M., Bos, A. R., Van-Breuklen, S. W. F., Reiche, R., Terwoert, J., Suykerbuyk, R. E. M. und Roijackers, R. M. M.** (1992). *Fate and effects of the insecticide Dursban 4E in indoor Elodea dominated and macrophyte-free freshwater model ecosystems: II. Secondary effects on community structure*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 23(4): 391-409.
- Brohmer, P. und Schaefer, M.** (1992). *Fauna von Deutschland : ein Bestimmungsbuch unserer heimischen Tierwelt*. Heidelberg, Quelle und Meyer.
- Cairns, J. J.** (1984). *Are Single Species Toxicology Tests Alone Adequate for Estimating Environmental Hazard*. *Environmental Monitoring and Assessment* 4(3): 259-274.

- Caquet, T., Lagadic, L., Monod, G., Lacaze, J.-C. und Coute, A.** (2001). *Variability of physicochemical and biological parameters between replicated outdoor freshwater lentic mesocosms*. *Ecotoxicology* 10(1): 51-66.
- Chippindale, P.** (1989). *A high pH discontinuous buffer system for resolution of isozymes in starch gel electrophoresis*. *Stain Technology* 64(2): 61-4.
- Christensen, B.** (1977). *Habitat preference among amylase genotypes in *Asellus aquaticus* (Isopoda, Crustacea)*. *Hereditas* 87(1): 21-6.
- Dawo, U.** (2005). *Die ökotoxikologische Bewertung multipler Pestizideinträge in aquatische Ökosysteme: Der Vergleich einer einmaligen mit einer mehrmaligen Pyrethroidbelastung*. Dissertation, Technische Universität München.
- DIN 38 406** (1983). *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Kationen (Gruppe E); Bestimmung des Ammonium Stickstoffs (E5)*.
- DIN EN ISO 6878** (2004). *Wasserbeschaffenheit Bestimmung von Phosphor Photometrisches Verfahren mittels Ammoniummolybdat*.
- Engelhardt, W. und Merxmüller, H.** (1989). *Was lebt in Tümpel, Bach und Weiher? Pflanzen und Tiere unserer Gewässer in Farbe eine Einführung in die Lehre vom Leben der Binnengewässer*. Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlag.
- Ernst, W. K., Doe, K., Jonah, P., Young, J., Julien, G. und Hennigar, P.** (1991). *The Toxicity of Chlorothalonil to Aquatic Fauna and the Impact of Its Operational Use on a Pond Ecosystem*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21(1): 1-9.
- EU** (1991). *Richtlinie 91/414/EWG des Rates vom 15. Juli 1991 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln*.
- EU** (2002). *Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC*. Sanco/3268/2001 rev.4 (final).
- Fent, K.** (2003). *Ökotoxikologie*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Flössner, D.** (1972). *Krebstiere, Crustaceae Kiemen- und Blattfüßer, Branchiopoda, Fischläuse, Branchiura*. Jena, Fischer Verlag.

- Fomin, A., Oehlmann, J. und Markert, B. A.** (2003). *Praktikum zur Ökotoxikologie Grundlagen und Anwendungen biologischer Testverfahren*. Landsberg, Ecomed Verlagsgesellschaft.
- Funk, M.** (2004). *Zooplanktonuntersuchungen an einem natürlichen Seelitoral und die Effekte von Cypermethrin auf aquatische Mikro- und Mesokosmen*. Dissertation, Technische Universität München.
- Gerhardt, V., Bodemer, U. und Eckert, W.** (2005). *Determination of phytoplankton colour classes: Online excitation spectroscopy of the delayed fluorescence (DF) of algae*. Verh. Internat. Verein. Limnol. 29: 306-309.
- Giddings, J.-M., Travis, K.-Z., Hendley, P. und Solomon, K.-R.** (2001). *Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: V. Combining landscape-level exposures and ecotoxicological effects data to characterize risks*. Environmental Toxicology and Chemistry 20(3): 687-692.
- Goudet, J.** (2001). *FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)*.
- Greenpeace** (2007). *Essen ohne Pestizide*. Hamburg.
- Grünwald, H.** (2003). *Effects of a Pesticide Mixture on Plankton in Freshwater Mesocosms - from single studies to combination impacts*. Dissertation, Technische Universität München.
- Hand, L.-H., Kuet, S.-F., Lane, M.-C. G., Maund, S.-J., Warinton, J.-S. und Hill, I.-R.** (2001). *Influences of aquatic plants on the fate of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin in aquatic environments*. Environmental Toxicology and Chemistry 20(8): 1740-1745.
- Hargeby, A., Stoltz, J. und Johansson, J.** (2005). *Locally differentiated cryptic pigmentation in the freshwater isopod *Asellus aquaticus**. Journal of Evolutionary Biology 18(3): 713-721.
- Herbst, H. V.** (1976). *Blattfusskrebse (Phyllopoden, echte Blattfüsser und Wasserflöhe)*. Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlag.
- Hill, I. R.** (1994). *Freshwater field tests for hazard assessment of chemicals*. Boca Raton, Lewis Publishers.
- Hillis, D. M., Moritz, C. und Mable, B. K.** (1996). *Molecular systematics*. Sunderland (Mass.), Sinauer Ass.



- Holler, S., Schäfers, C. und Sonnenberg, J.** (1996). *Umweltanalytik und Ökotoxikologie*. Berlin, Springer Verlag.
- Hose, G. C. und Van-den-Brink, P. J.** (2004). *Confirming the species-sensitivity distribution concept for endosulfan using laboratory, mesocosm, and field data*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 47(4): 511-520.
- Huber, W., Zieris, F. J., Draxl, R. und Fiedl, S.** (1995). *Untersuchungen zur Verwendung von künstlichen Teichen als standardisierte Testsysteme zur Abschätzung des Umweltrisikos von Pflanzenschutzmitteln mit Hilfe der Wirkung und des Verbleibs von zwei Herbiziden*. Umweltforschungsplan des Bundesministers für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit 126 05 088.
- Irvine, K.** (1997). *Food selectivity and diel vertical distribution of Chaoborus edulis (Diptera, Chaoboridae) in Lake Malawi*. Freshwater Biology 37(3): 605-620.
- Jones, D. A.** (1995). *Environmental Fate of Cypermethrin*. Environmental Monitoring & Pest Management, Department of Pesticide Regulation, Sacramento.
- Kiefer, F.** (1973). *Ruderfusskrebse (Copepoden)*. Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlag.
- Lair, N.** (1990). *Effects of Invertebrate Predation on the Seasonal Succession of a Zooplankton Community a Two Year Study in Lake Aydat France*. Hydrobiologia 198(1): 1-12.
- Leistra, M., Zweers, A.-J., Warinton, J.-S., Crum, S.-J. H., Hand, L.-H., Beltman, W.-H. J. und Maund, S.-J.** (2004). *Fate of the insecticide lambda-cyhalothrin in ditch enclosures differing in vegetation density*. Pest Management Science 60(1): 75-84.
- Lozano, S. J., O'Halloran, S. L., Sargent, K. W. und Brazner, J. C.** (1992). *Effects of Esfenvalerate on Aquatic Organisms in Littoral Enclosures*. Environmental Toxicology and Chemistry 11(1): 35-48.
- Mauch, E., Schmedtje, U., Bauer, A. und Fischer, F.** (2003). *Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands*. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft.
- Maund, S. J., Farmer, D. und Hill, I.-R.** (1995). *A comparison of the fate and effects of two pyrethroid insecticides (lambda-cyhalothrin and cypermethrin) in pond mesocosms*. Ecotoxicology 4(4): 219-244.

- Maund, S. J., Hamer, M.-J., Lane, M.-C. G., Farrelly, E., Rapley, J.-H., Goggin, U.-M. und Gentle, W.-E.** (2002). *Partitioning, bioavailability, and toxicity of the pyrethroid insecticide cypermethrin in sediments*. Environmental Toxicology and Chemistry 21(1): 9-15.
- Michels, U. und Gründler, B.** (2001). *Die Wasserassel (Asellus aquaticus) in Wasserversorgungsanlagen*. Studie, Limno-Plan GbR, Bestensee.
- Moore, M. V., Yan, N.-D. und Pawson, T.** (1994). *Omnivory of the larval phantom midge (Chaoborus spp.) and its potential significance for freshwater planktonic food webs*. Canadian Journal of Zoology 72(11): 2055-2065.
- Mühlenberg, M.** (1976). *Freilandökologie*. Heidelberg, Quelle und Meyer Verlag.
- Muir, D. C. G., Rawn, G. P., Townsend, B. E. und Lockhart, W. L.** (1985). *Bioavailability and Toxicity of Six Synthetic Pyrethroids to Chironomus-Tentans Larvae in Sediment-Water Systems*. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences(1368): 425-426.
- Mulla, M. S., Darwazeh, H. A. und Ede, L.** (1982). *Evaluation of New Pyrethroids against Immature Mosquitoes and Their Effects on Nontarget Organisms*. Mosquito News 42(4): 583-590.
- Nagel, R.** (1990). *Ökotoxikologie - eine junge Wissenschaft mit hohem Anspruch*. Biologie in unsrer Zeit 20(6): 299 - 304.
- Nei, M.** (1972). *Genetic Distance between Populations*. American Naturalist 106(949): 283-292.
- Nei, M.** (1978). *Estimation of Average Hetero Zygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals*. Genetics 89(3): 583-590.
- Nei, M.** (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New York, Columbia University Press.
- Nurminen, L. und Horppila, J.-A.** (2002). *A diurnal study on the distribution of filter feeding zooplankton: Effect of emergent macrophytes, pH and lake trophy*. Aquatic Sciences 64(2): 198-206.
- Nurminen, L., Horppila, J. und Tallberg, P.** (2001). *Seasonal development of the cladoceran assemblage in a turbid lake: The role of emergent macrophytes*. Archiv fuer Hydrobiologie 151(1): 127-140.

- OECD** (2000). *Daphnia Acute Immobilisation Test and Reproduction Test*. OECD-Guideline for testing chemicals no. 202.
- Orme, S. und Kegley, S.** (2004). *Chemical Toxicity Studies on Aquatic Organisms*. PAN Pesticide Database, Pesticide Action Network, San Francisco.
- Pabst, G.** (1887). *Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Text Atlas zur Pharmacopoea germanica, austriaca, belgica, danica, helvetica*. Gera-Untermhaus, Köhler Verlag.
- Poulik, M. D.** (1957). *Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers*. Nature 180(4600): 1477-9.
- Pronk, M. E. J., Speijers, G. J. A., Wouters, M. F. A. und Ritter, L.** (1996). *Insecticides; Cypermethrin & alpha-Cypermethrin*. Toxicology Advisory Centre, National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven.
- Richardson, B. J., Baverstock, P. R. und Adams, M.** (1986). *Allozyme electrophoresis : a handbook for animal systematics and population studies*. Sydney ; Orlando, Academic Press.
- Ruttner-Kolisko, A.** (1974). *Plankton rotifers biology and taxonomy*. Stuttgart, Schweizerbart (Nägele u. Obermiller).
- Sanderson, H., Boudreau, T.-M., Mabury, S.-A. und Solomon, K.-R.** (2004). *Effects of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid on the zooplanktonic community*. Ecotoxicology and Environmental Safety 58(1): 68-76.
- Schettgen, C.** (2000). *Bioakkumulation von Triclosan bei verschiedenen pH-Werten des Wassers und der Pyrethroide Cyfluthrin, Cypermethrin, Deltamethrin und Permethrin*. Dissertation, Universität Oldenburg.
- Schwoerbel, J.** (1986). *Methoden der Hydrobiologie, Süßwasserbiologie*. Stuttgart, Fischer Verlag.
- Schwoerbel, J.** (1987). *Einführung in die Limnologie*. Stuttgart, Fischer Verlag.
- Shaw, C. R. und Prasad, R.** (1970). *Starch gel electrophoresis of enzymes--a compilation of recipes*. Biochem. Genet. 4(2): 297-320.

- Shaw, J. L. und Kennedy, J. H.** (1996). *THE USE OF AQUATIC FIELD MESOCOSM STUDIES IN RISK ASSESSMENT-Editorial*. Environmental Toxicology and Chemistry 15(5): 605-607.
- Spitze, K.** (1985). *Functional Response of an Ambush Predator Chaoborus-Americanus Predation on Daphnia-Pulex*. Ecology (Washington D C) 66(3): 938-949.
- Stephenson, R. R.** (1982). *Aquatic Toxicology of Cypermethrin 1. Acute Toxicity to Some Fresh Water Fish and Invertebrates in Laboratory Tests*. Aquatic Toxicology (Amsterdam) 2(3): 175-185.
- Streble, H. und Krauter, D.** (2006). *Das Leben im Wassertropfen : Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers ; ein Bestimmungsbuch ; neu: biologische Gewässeranalyse*. Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlag.
- Takahashi, N., Mikami, N., Matsuda, T. und Miyamoto, J.** (1985). *Photodegradation of the Pyrethroid Insecticide Cypermethrin in Water and on Soil Surface*. Journal of Pesticide Science 10(4): 629-642.
- Ter Braak, C. J. F.** (1987). *The Analysis of Vegetation-Environment Relationships by Canonical Correspondence Analysis*. Vegetatio 69(1-3): 69-78.
- Ter Braak, C. J. F. und Šmilauer, P.** (2002). *Canoco Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide*. Wageningen und České Budějovice.
- Thiel, M.-E.** (1928). *Zur Biologie unserer Süßwassermuscheln*. Z. Morph. Ökol. Tiere 13(1/2): 65-116.
- Tümping, W. v.** (1999). *Biologische Gewässeruntersuchung : mit 47 Tabellen*. Jena, G. Fischer.
- Umweltbundesamt.** (2006). *REACH*. auf [www.reach-info.de](http://www.reach-info.de).
- Van den Brink, P. J. und Ter-Braak, C.-J. F.** (1998). *Multivariate analysis of stress in experimental ecosystems by principal responses curves and similarity analysis*. Aquatic Ecology 32(2): 163-178.
- Van den Brink, P. J., Van-Wijngaarden, R.-P. A., Lucassen, W.-G. H., Brock, T.-C. M. und Leeuwangh, P.** (1996). *Effects of the insecticide Dursban 4E (active ingredient chlorpyrifos) in outdoor experimental ditches: II. Invertebrate community responses and recovery*. Environmental Toxicology and Chemistry 15(7): 1143-1153.

- Verspoor, E.** (1982). *Description and Genetics of Glucose Phosphate Isomerase Ec-5.3.1.9 and Phospho Gluco Mutase Ec-2.7.5.1 Polymorphisms in Asellus-Aquaticus*. *Biochemical Genetics* 20(9-10): 891-906.
- Verspoor, E.** (1983). *Allozyme frequencies in western European populations of Asellus Aquaticus (L.) Isopoda and their association with water pollution*. *Biological Journal of the Linnean Society* 19: 275-293.
- Voigt, M.** (1956). *Rotatoria die Rädertiere Mitteleuropas ein Bestimmungsbuch*. Berlin, Bornträger.
- Voigt, M. und Koste, W.** (1978). *Rotatoria die Rädertiere Mitteleuropas ein Bestimmungswerk Überordnung Monogonota*. Berlin, Bornträger.
- Wendt-Rasch, L., Friberg-Jensen, U., Woin, P. und Christoffersen, K.** (2003). *Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. II. Direct and indirect effects on the species composition*. *Aquatic Toxicology (Amsterdam)* 63(4): 373-389.
- Wesenberg-Lund, C. und Storch, O.** (1939). *Biologie der Süßwassertiere*. Wien, Springer Verlag.
- WHO** (1989). *Cypermethrin (Environmental Health Criteria 82)*. Geneva.
- WHO** (2003). *The world health report 2003 – shaping the future*. Geneva.
- Woin, P.** (1998). *Short- and long-term effects of the pyrethroid insecticide fenvalerate on an invertebrate pond community*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 41(2): 137-156.
- YEH, F. C. und BOYLE, T. J. B.** (1997). *Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits*. *Belgian Journal of Botany* 129(157).

### Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Wilfried Huber für die Betreuung meiner Doktorarbeit bedanken. Dank seiner Unterstützung war es mir möglich dieses interessante Thema zu bearbeiten.

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Höll und Herrn Prof. Dr. Arnulf Melzer gilt mein Dank für die Zweitkorrektur der Arbeit und den Prüfungsvorsitz.

Bei Dr. Jochen Theiss möchte ich mich für das Interesse an meiner Arbeit sowie anregende Diskussionen zum Thema bedanken.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls, besonders meinen Zimmerkolleginnen Iris Waikinat, Eva Wacker und Dr. Uta Cascorbi, gilt mein Dank für die Unterstützung meiner Arbeit sowie das freundliche Arbeitsklima.

Abschließend möchte ich mich besonders bei meiner Lebensgefährtin Barbara und meiner Tochter Clara für ihr grenzenloses Verständnis und die eingeräumten Freiräume zur Fertigstellung meiner Arbeit bedanken.