

**Reaktionen von Collembolen unterschiedlicher Strata
auf ausgewählte Pflanzenschutzmittel und ihre Wirkstoffe
in Toxizitäts- und Verhaltenstests**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde des Fachbereichs Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Kristina Heupel

Berlin 2002

1. Gutachter: Prof. Dr. Rudolf K. Achazi

2. Gutachter: PD Dr. Wolfgang Heger

Tag der mündlichen Prüfung: 25.6.2002

Inhaltsverzeichnis

Anhangsverzeichnis	iv
Abkürzungsverzeichnis	v
Abbildungsverzeichnis	vi
Tabellenverzeichnis	viii
<u>1. Einleitung</u>	1
<u>2. Material und Methoden</u>	10
2.1 VERSUCHSTIERE	10
2.1.1 Verwendete Collembolenarten	10
2.1.2 Haltung und Zucht	12
2.1.3 Einteilung in Lebensformtypen	13
2.2 PFLANZENSCHUTZMITTEL	14
2.2.1 Verwendete Substanzen	14
2.2.1.1 <i>Betanal CQ 277/02 (= AVENTIS PMP)</i>	15
2.2.1.2 <i>Karate 5 WG</i>	16
2.2.1.3 <i>Cymbush 10 EC</i>	17
2.2.1.4 <i>Croneton EC 500</i>	18
2.2.1.5 <i>Curaterr SC 500</i>	19
2.2.1.6 <i>NeemAzal T/S</i>	20
2.2.2 Umrechnung der Aufwandmengen in geschätzte Umweltkonzentrationen (EEC)	21
2.3 LABORVERSUCHE	22
2.3.1 Allgemeines	22
2.3.1.1 <i>Standardboden</i>	22
2.3.1.2 <i>Bodenfeuchte</i>	23
2.3.1.3 <i>Verwendung der Versuchstiere</i>	23
2.3.1.4 <i>Verwendete Konzentrationen</i>	24
2.3.1.5 <i>Anmischung des Substrats für die Laborversuche</i>	25
2.3.2 Akutttests	25
2.3.2.1 <i>Durchführung</i>	25
2.3.2.2 <i>Auswertung</i>	27
2.3.3 Reproduktionstests	29
2.3.3.1 <i>Durchführung</i>	29
2.3.3.2 <i>Auswertung</i>	30

2.3.4	Wahlversuche zur Kontaktrepellenz	30
2.3.4.1	<i>Durchführung</i>	30
2.3.4.2	<i>Auswertung</i>	31
2.3.5	Wahlversuche zur olfaktorischen Repellenz	32
2.3.5.1	<i>Durchführung</i>	32
2.3.5.2	<i>Auswertung</i>	34
2.4	FREILANDUNTERSUCHUNGEN	36
2.4.1	Versuchsfläche	36
2.4.2	Vegetation	37
2.4.3	Klimaverhältnisse in den einzelnen Versuchszeiträumen	38
2.4.4	Extraktion und Bestimmung der Collembolen	40
2.4.5	Versuchstermine	42
2.4.6	Streusubstrat	42
2.4.7	Vorversuch zur Expositionsdauer der Netzbeutel im Freiland	42
2.4.8	Abundanzproben	43
2.4.9	Netzbeutelversuch (1. Freilandversuch)	43
2.4.10	Streudosenversuch (2. Freilandversuch)	44
2.4.10.1	<i>Vorversuche zur akuten Toxizität von Betanal mit Streu</i>	45
2.4.10.2	<i>Befüllen und Ausbringen der Streudosen</i>	46
2.4.11	Auswertung der Freilanduntersuchungen	46
2.5	VERWENDETE SOFTWARE	48
3.	<u>Ergebnisse</u>	49
3.1	LABORVERSUCHE	49
3.1.1	Akutttests	49
3.1.1.1	<i>Toxizität der Handelsprodukte</i>	50
3.1.1.2	<i>Vergleich der Toxizität der Handelsprodukte mit jener der aktiven Wirkstoffe und Leerformulierungen</i>	75
3.1.2	Reproduktionstests	90
3.1.3	Wahlversuche zur Kontaktrepellenz	94
3.1.3.1	<i>Entwicklung der Testmethode</i>	94
3.1.3.2	<i>Kontaktrepellenz der Handelsprodukte</i>	98
3.1.3.3	<i>Abschließende Charakterisierung der Testmethode</i>	110
3.1.3.4	<i>Kontaktrepellenz der Wirkstoffe und Leerformulierungen</i>	114
3.1.4	Versuche zur olfaktorischen Repellenz	121
3.2	FREILANDUNTERSUCHUNGEN	130
3.2.1	Vorversuch zur Expositionsdauer der Netzbeutel im Freiland	130

3.2.2	Abundanzen 1999 und 2000	131
3.2.3	Netzbeutelversuch (1. Freilandversuch)	135
3.2.4	Streudosenversuch (2. Freilandversuch) und Vorversuch mit Betanal und Streu	137
3.2.4.1	<i>Vorversuche zur akuten Toxizität von Betanal mit Streu</i>	137
3.2.4.2	<i>Streudosenversuch</i>	140
4.	<u>Diskussion</u>	142
4.1	LABORVERSUCHE	142
4.1.1	Toxizitätstests	142
4.1.1.1	<i>Effekte der einzelnen Pflanzenschutzmittel auf Vitalität und Reproduktion der untersuchten Collembolenarten</i>	143
4.1.1.2	<i>Durch welche Wirkmechanismen können die untersuchten Pflanzenschutzmittel die Lokomotionsfähigkeit von Collembolen beeinflussen?</i>	150
4.1.1.3	<i>Interspezifische Variation der Sensibilität in den Akuttests</i>	155
4.1.2	Wahlversuche	158
4.1.2.1	<i>Methodenkritik der Wahlversuche zur Kontaktrepellenz</i>	158
4.1.2.2	<i>Methodenkritik der Wahlversuche zur olfaktorischen Repellenz</i>	160
4.1.2.3	<i>Repellenteffekte der einzelnen Pflanzenschutzmittel auf Collembolen</i>	161
4.1.2.4	<i>Konzentrations-Wirkungsbeziehungen in den Wahlversuchen zur Kontaktrepellenz</i>	164
4.1.2.5	<i>Olfaktorische Wahrnehmung bei Collembolen</i>	166
4.1.3	Sensibilität der einzelnen Labortests	167
4.2	FREILANDUNTERSUCHUNGEN	170
4.2.1	Artenspektrum und Abundanzen der Collembolen auf der Versuchsfläche	170
4.2.2	Besiedelungsversuche	170
4.3	SCHLUSSFOLGERUNGEN	173
4.4	AUSBLICK	176
5.	<u>Zusammenfassung / Summary</u>	178
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	184
	ANHANG	199

Anhangsverzeichnis

Anhang 1:	Akutttests (Einzelergebnisse)	I
Anhang 2:	Reproduktionstests (Einzelergebnisse)	IV
Anhang 3:	Wahlversuche zur olfaktorischen Repellenz (Einzelergebnisse)	VII
Anhang 4:	Statistik der Versuche zur olfaktorischen Repellenz	XIII
Teilpublikationen		XIV
Lebenslauf		XV
Danksagung		XVI

Abkürzungsverzeichnis

α	Signifikanzniveau
a	Schnittpunkt einer Geraden mit der y-Achse
ai	active ingredient, aktiver Wirkstoff
ANOVA	Analysis of Variance
b	Steigung einer Geraden
BBA	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
CaCl ₂	Calciumchlorid
d	Tag(e)
EC ₅₀	Effect Concentration. Jene Konzentration, bei der der gemessene Effekt 50% beträgt
EEC	Estimated Environmental Concentration. Geschätzte Konzentration, der der Organismus in der Umwelt ausgesetzt ist
F	Prüfgröße der Varianzanalyse
FG	Frischgewicht; Freiheitsgrade
Gew.	Gewicht
h	Stunde(n)
ha	Hektar. 1ha = 10.000 m ²
HP	Handelsprodukt
Konf.-Int.	Konfidenzintervall
LC ₅₀	Lethal Concentration. Jene Konzentration, bei der 50% der Versuchstiere sterben
LF	Leerformulierung
LOEC	Lowest Observed Effect Concentration. Niedrigste Konzentration im Versuchsansatz, bei der erste signifikante Effekte nachgewiesen werden.
LUFA 2.2	Standardboden der Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer, Typ 2.2
mval	Einheit der Kationenaustauschkapazität
MWK	maximale Wasserhaltekapazität
n. b.	nicht berechnet
NN	Normalnull
NOEC	No Observed Effect Concentration. Jene Konzentration im Versuchsansatz, bei der keine signifikanten Effekte auftreten.
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
Org. C.	organischer Kohlenstoffgehalt
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pa	Pascal. Einheit des Drucks. 1 Pa = 1 N/m ² (Newton pro Quadratmeter), 100 Pa = 1 Hektopascal (hPa)
PflSchG	Pflanzenschutzgesetz
r ²	Bestimmtheitsmaß
s	Standardabweichung
TG	Trockengewicht

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: In den ökotoxikologischen Laborversuchen verwendete Collembolenarten der Freilandversuchsfläche
- Abb. 2: Versuchseinheit mit 4 Glaskammern für Wahlversuche zur olfaktorischen Repellenz
- Abb. 3: Klimaverhältnisse auf der Freilandversuchsfläche im Versuchszeitraum 1999 (Tagesmittelwerte)
- Abb. 4: Klimaverhältnisse auf der Freilandversuchsfläche im Versuchszeitraum 2000 (Tagesmittelwerte)
- Abb. 5: Kempson-Extraktionsgerät für Bodentiere
- Abb. 6: Betanal Akuttests: Prozentualer Anteil toter und lokomotionsgestörter Collembolen bei Versuchslaufzeiten von 24 Stunden bzw. 7 Tagen
- Abb. 7: Konzentrations-Wirkungskurven für die sechs untersuchten Collembolenarten im Akuttest über 24 Stunden und 7 Tage mit Betanal
- Abb. 8: Karate Akuttests: Prozentualer Anteil toter und lokomotionsgestörter Collembolen bei Versuchslaufzeiten von 24 Stunden bzw. 7 Tagen
- Abb. 9: Konzentrations-Wirkungskurven für die sechs untersuchten Collembolenarten im Akuttest über 24 Stunden und 7 Tage mit Karate
- Abb. 10: Cymbush Akuttests: Prozentualer Anteil toter und lokomotionsgestörter Collembolen bei Versuchslaufzeiten von 24 Stunden bzw. 7 Tagen
- Abb. 11: Konzentrations-Wirkungskurven für die sechs untersuchten Collembolenarten im Akuttest über 24 Stunden und 7 Tage mit Cymbush
- Abb. 12: Croneton Akuttests: Prozentualer Anteil toter und lokomotionsgestörter Collembolen bei Versuchslaufzeiten von 24 Stunden bzw. 7 Tagen
- Abb. 13: Konzentrations-Wirkungskurven für die sechs untersuchten Collembolenarten im Akuttest über 24 Stunden und 7 Tage mit Croneton
- Abb. 14: Curaterr Akuttests: Prozentualer Anteil toter und lokomotionsgestörter Collembolen bei Versuchslaufzeiten von 24 Stunden bzw. 7 Tagen (Mittelwerte aus jeweils 5 Parallelen).
- Abb. 15: Konzentrations-Wirkungskurven für die sechs untersuchten Collembolenarten im Akuttest über 24 Stunden und 7 Tage mit Curaterr
- Abb. 16: NeemAzal T/S Akuttests: Prozentualer Anteil toter und lokomotionsgestörter Collembolen bei Versuchslaufzeiten von 24 Stunden bzw. 7 Tagen
- Abb. 17: Konzentrations-Wirkungskurven für die sechs untersuchten Collembolenarten im Akuttest über 24 Stunden und 7 Tage mit NeemAzal T/S
- Abb. 18: Vergleich der Akuttests mit Betanal, dem aktiven Wirkstoff Phenmedipham und einer Leerformulierung an zwei Collembolenarten über 24 Stunden und 7 Tage
- Abb. 19: Vergleich der Akuttests mit Karate und dem aktiven Wirkstoff λ -Cyhalothrin an zwei Collembolenarten über 24 Stunden und 7 Tage
- Abb. 20: Vergleich der Akuttests mit Cymbush und dem aktiven Wirkstoff Cypermethrin an zwei Collembolenarten über 24 Stunden und 7 Tage
- Abb. 21: Vergleich der Akuttests mit Croneton und dem aktiven Wirkstoff Ethiofencarb an zwei Collembolenarten über 24 Stunden und 7 Tage
- Abb. 22: Vergleich der Akuttests mit Curaterr und dem aktiven Wirkstoff Carbofuran an zwei Collembolenarten über 24 Stunden und 7 Tage
- Abb. 23: Vergleich der Akuttests mit NeemAzal T/S, dem Neemkernextrakt NeemAzal (35% aktiver Wirkstoff Azadirachtin A) und einer Leerformulierung an zwei Collembolenarten über 24 Stunden und 7 Tage
- Abb. 24: Wirkung der sechs Pflanzenschutzmittel auf die Reproduktion von *Folsomia candida* nach 28 Tagen
- Abb. 25: Methodenvergleich für die Wahlversuche zur Kontaktrepellenz
- Abb. 26: Kontaktrepellenz von Betanal in Einwanderungs- und Fluchtversuchen
- Abb. 27: Kontaktrepellenz von Karate in Einwanderungs- und Fluchtversuchen
- Abb. 28: Kontaktrepellenz von Cymbush in Einwanderungs- und Fluchtversuchen
- Abb. 29: Kontaktrepellenz von Croneton in Einwanderungs- und Fluchtversuchen
- Abb. 30: Kontaktrepellenz von Curaterr in Einwanderungs- und Fluchtversuchen

- Abb. 31: Kontaktrepellenz von NeemAzal T/S in Einwanderungs- und Fluchtversuchen
- Abb. 32: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz des aktiven Wirkstoffs und der Leerformulierung des Herbizids Betanal (Einwanderungstests)
- Abb. 33: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz des aktiven Wirkstoffs des Insektizids Karate (Einwanderungstests)
- Abb. 34: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz des aktiven Wirkstoffs des Insektizids Cymbush (Einwanderungstests)
- Abb. 35: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz des aktiven Wirkstoffs des Insektizids Croneton (Einwanderungstests)
- Abb. 36: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz des aktiven Wirkstoffs des Insektizids Curaterr (Einwanderungstests)
- Abb. 37: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz des aktiven Wirkstoffs (zu 35% in NeemAzal) und der Leerformulierung des Insektizids NeemAzal T/S (Einwanderungstests)
- Abb. 38: Versuche zur olfaktorischen Repellenz des Herbizids Betanal, einer Leerformulierung und des aktiven Wirkstoffs Phenmedipham mit der Collembolenart *O. armatus*
- Abb. 39: Versuche zur olfaktorischen Repellenz des Insektizids Karate und des aktiven Wirkstoffs λ -Cyhalothrin mit der Collembolenart *O. armatus*
- Abb. 40: Versuche zur olfaktorischen Repellenz des Insektizids Cymbush und des aktiven Wirkstoffs Cypermethrin mit der Collembolenart *O. armatus*
- Abb. 41: Versuche zur olfaktorischen Repellenz des Insektizids Croneton und des aktiven Wirkstoffs Ethiofencarb mit der Collembolenart *O. armatus*
- Abb. 42: Versuche zur olfaktorischen Repellenz des Insektizids Curaterr und des aktiven Wirkstoffs Carbofuran mit der Collembolenart *O. armatus*
- Abb. 43: Versuche zur olfaktorischen Repellenz des Insektizids NeemAzal, einer Leerformulierung, des Neemkernextraktes NeemAzal und kaltgepressten Neem-Öls mit der Collembolenart *O. armatus*
- Abb. 44: Besiedelung der Netzbeutel durch Collembolen in Abhängigkeit von der Expositionsdauer
- Abb. 45: Dominanzen der in den einzelnen Freilandversuchen (Bodenproben 1999 und 2000; Netzbeutelversuch 1999, Streudosenversuch 2000) gefundenen Collembolenarten
- Abb. 46: Besiedelung der Netzbeutel im Freilandversuch 1999
- Abb. 47: Konzentrations-Wirkungskurven für den Einfluss von Betanal-kontaminierter Streu auf die sechs Labor-Collembolenarten
- Abb. 48: Besiedelung der Streudosen im Freilandversuch 2000
- Abb. 49: Vergleich der Sensibilitäten der sechs Collembolenarten gegenüber den untersuchten Pflanzenschutzmitteln in den Akuttests über 7 Tage anhand der EC_{50} -Werte für die Schädigung

- Kasten 1: Beispiel für die Berechnung der EEC aus der empfohlenen Aufwandmenge
- Kasten 2: Allgemeine Angaben zum Standort Blumberg
- Kasten 3: Pflanzenarten auf der Dauerbrache im Juli 1999
- Kasten 4: Für die Beurteilung der Freilanduntersuchungen verwendete ökologische Indices

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: Lebensdaten und Futterpräferenzen der für die Labortests verwendeten Collembolenarten
- Tab. 2: Lebensformtypen von Collembolen und ihre Merkmale
- Tab. 3: Vergleich von empfohlenen Aufwandmengen und EEC's für die verwendeten Pflanzenschutzmittel
- Tab. 4: Physikalische und chemische Eigenschaften des Standardbodens LUFA 2.2
- Tab. 5: Klassifizierung des Zustands der Collembolen bei der Akuttest-Auswertung
- Tab. 6: Übersicht über die Termine und Laufzeiten der Freilandversuche
- Tab. 7: Effektkonzentrationen und LOEC (lowest observed effect concentration) für die Schädigung (lokomotionsgestörte und tote Tiere) im Akuttest mit Betanal nach 24 Stunden (a) bzw. 7 Tagen (b)
- Tab. 8: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgestörte Tiere) im Akuttest mit Karate nach 24 Stunden (a) bzw. 7 Tagen (b)
- Tab. 9: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgestörte Tiere) im Akuttest mit Cymbush nach 24 Stunden (a) bzw. 7 Tagen (b)
- Tab. 10: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgestörte Tiere) im Akuttest mit Croneton nach 24 Stunden (a) bzw. 7 Tagen (b)
- Tab. 11: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgestörte Tiere) im Akuttest mit Curaterr nach 24 Stunden (a) bzw. 7 Tagen (b)
- Tab. 12: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgestörte Tiere) im Akuttest mit NeemAzal T/S nach 24 Stunden (a) bzw. 7 Tagen (b)
- Tab. 13: Richtkonzentrationen für die Wahlversuche
- Tab. 14: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgeschädigte Tiere) bei Akuttests mit Betanal, dem aktiven Wirkstoff Phenmedipham (Phen.) und einer Leerformulierung (LF)
- Tab. 15: Ergebnisse der zweifaktoriellen ANOVA zum Vergleich der Effekte von Betanal und einer Leerformulierung auf die zwei Collembolenarten *I. anglicana* und *O. armatus*
- Tab. 16: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgeschädigte Tiere) bei Akuttests mit Karate und dem aktiven Wirkstoff λ -Cyhalothrin
- Tab. 17: Ergebnisse der zweifaktoriellen ANOVA zum Vergleich der Effekte von Karate und dem technischen Reinstoff λ -Cyhalothrin auf die zwei Collembolenarten *I. anglicana* und *O. armatus*
- Tab. 18: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgeschädigte Tiere) bei Akuttests mit Croneton und dem aktiven Wirkstoff Ethiofencarb
- Tab. 19: Ergebnisse der zweifaktoriellen ANOVA zum Vergleich der Effekte von Croneton und dem technischen Reinstoff Ethiofencarb auf die zwei Collembolenarten *I. anglicana* und *O. armatus*
- Tab. 20: Ergebnisse der zweifaktoriellen ANOVA zum Vergleich der Effekte von Curaterr und dem technischen Reinstoff Carbofuran auf die zwei Collembolenarten *I. anglicana* und *O. armatus*
- Tab. 21: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgeschädigte Tiere) bei Akuttests mit Curaterr und dem aktiven Wirkstoff Carbofuran
- Tab. 22: Effektkonzentrationen und LOEC für die Schädigung (tote und lokomotionsgeschädigte Tiere) bei Akuttests über 7 Tage mit NeemAzal T/S, dem Neemkernextrakt NeemAzal (35% aktiver Wirkstoff Azadirachtin A), sowie einer Leerformulierung (LF)
- Tab. 23: Ergebnisse der zweifaktoriellen ANOVA zum Vergleich der Effekte von NeemAzal T/S und dem Neemkernextrakt NeemAzal auf die zwei Collembolenarten *I. anglicana* und *O. armatus*
- Tab. 24: Zusammenfassung der Toxizität von Wirkstoffen und Leerformulierungen
- Tab. 25: Reproduktionstests mit *Folsomia candida* und EC_{20} - bzw. EC_{50} -Werte bei einer Versuchsdauer von 28 Tagen
- Tab. 26: Wahlversuche zur Kontaktrepellenz der sechs untersuchten Pflanzenschutzmittel: Vergleich von Einwanderungs- und Fluchttests sowie Anteil nicht-wiedergefundener Tiere
- Tab. 27: Zusammenfassung der Kontakt- und olfaktorischen Repellenz der Handelsprodukte, Wirkstoffe und Leerformulierungen
- Tab. 28: Artenzusammensetzung, Dominanz und Frequenz der Collembolen in den Bodenproben 1999 und 2000 sowie in den Netzbeutelversuchen 1999 und den Streudosenversuchen 2000

- Tab. 29: Individuenzahlen, Gesamtartenzahl, Diversität und Evenness der Abundanzproben (1999 u. 2000, a) sowie der beiden Freilandversuche mit Netzbeuteln (1999, b) und Streudosen (2000, c)
- Tab. 30: Effektkonzentrationen für Betanal im Streuversuch
- Tab. 31: Vergleich der Effektkonzentrationen für die Schädigung in Akuttests mit dem Herbizid Betanal in Boden (Versuchsdauer 7 Tage) und Streusubstrat (Versuchsdauer 3 Tage)
- Tab. 31: Lowest observed effect concentrations (LOEC) für die einzelnen Laborversuche