

3 METHODEN

Zur Beschreibung der Freilandböden und des in den Laborversuchen verwendeten Standardbodens LUFA 2.2 (s. 3.7) wurden folgende physikalisch-chemische Parameter erfasst: Wassergehalt, Wasserhaltekapazität, pH-Wert, Bodenart, Humusgehalt, Temperatur sowie die Schwermetallgehalte (Zn, Cd, Cu, Cr).

3.1 Probenahme

Die Flächen RefB und nPAK wurden als Hauptuntersuchungsflächen 1996 monatlich beprobt, in den anderen Jahren 2-4x jährlich. Die übrigen Flächen wurden mit geringerer Intensität untersucht. Die Probenahmehäufigkeiten für die verschiedenen Flächen und Untersuchungsparameter sind in Tabelle 3 aufgelistet (s. a. Anhang 1 und 4).

Tab. 3: Anzahl der Probenahmen in den Untersuchungsjahren 1995 – 1999. SM: Schwermetalle, *: eine Probenahme abweichend nur bis 8 cm Tiefe

Fläche	Enchytraeiden				Wassergehalt				org. Substanz			pH-Wert			SM '99
	'95	'96	'97	'98	'95	'96	'97	'98	'95	'96	'98	'96	'97	'98	
RefB	2	9	4	3	6	9	4	3	1	1	1	1	2	2	1
nPAK	2	9	4	3	7	9	4	3	1	1	1	1	2	2	1
T 14	2	1	3	3	7	9	4	3	1	1	1	1	2	2	1
nPCB(-)	2	-	2	-	7	9	3	-	1	1	-	1	2	-	1
nPCB(+)	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1
gbB	-	1	2	2	-	1	2	2	-	1	1	1	1	1	1
T 26	2	1	-	-	2	1	-	-	1	1	-	1	-	-	1
Forst	-	2*	-	2	-	1	-	2	-	-	1	1	-	1	1

3.1.1 Enchytraeiden

Es wurden je Probenahmetermin je Fläche fünf Proben mit einem Bodenstecher (\varnothing 5 cm) bis in eine Tiefe von 16 cm entnommen und jeweils vertikal in vier Subproben unterteilt. Die organische Auflage, sofern vorhanden, beschränkte sich bei den Rieselfeldböden auf die Teilproben 0-4 cm. Es wurde keine Unterteilung der Proben nach Horizonten vorgenommen, da bei den meisten untersuchten Standorten in den oberen 16 cm des Mineralbodens keine Horizontierung erkennbar war (A-Horizont). Nur bei gbB und nPCB wurde mit der Probenahme auch der unter dem A-Horizont liegende C-Horizont erfasst. Besonderheiten wurden dokumentiert, so z. B. die Lage der Einzelproben im Verhältnis zum Mikrorelief (Furche / Wall) bzw. zum Baumbestand. Die Probenahme erfolgte bei T 14, nPAK und gbB zwischen den

Baumreihen/Wällen. Auf den Flächen RefB, nPCB und T 26 wurden die Proben sowohl auf den Wällen als auch in den Furchen entnommen. Die Probestellen wurden, bezogen auf die Probestellen der vorhergehenden Probenahme, jeweils um 0,5 - 3,0 m verschoben. Der Transport und ggf. die anschließende Lagerung der Proben erfolgte in Polypropylen-Dosen (125 ml).

3.1.2 Abiotische Bodeneigenschaften

Für die pH-Wert-Messung und die Wassergehaltsbestimmung wurden mit einem Bodenstecher (\varnothing 5 cm) je Probenahmetermin und Fläche je fünf Proben bis in 8 cm Tiefe entnommen. Die Entnahme dieser Proben erfolgte im Abstand von 10-30 cm zu den Probestellen zur Erfassung der Enchytraeiden. Jede Probe wurde geteilt in zwei 4 cm mächtige Teilproben. Die Proben zur Bestimmung des Wassergehalts wurden in Stechringen mit fest schließenden Deckeln ins Labor befördert. Die Messung erfolgte am selben Tag. Die Bestimmung der organischen Substanz erfolgte danach an denselben Proben. Für die pH-Wert-Messung wurden die fünf Teilproben einer Tiefenstufe zu einer Mischprobe vereinigt und in Polyethylen-Beuteln ins Labor transportiert. Die Lagerung bis zur Messung erfolgte in denselben Beuteln bei 4°C. Von diesen Proben wurde ein Teil des Materials zur Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität und der Bodenart verwendet. Für die Schwermetallanalysen wurden einmalig je Fläche 5 Proben mit dem Bodenstecher bis in 16 cm Tiefe entnommen (nur Mineralboden). Die Proben wurden zu Mischproben vereinigt und in Polyethylen-Beuteln ins Labor transportiert.

3.2 Extraktion und Bestimmung der Enchytraeiden

Aus den 4 cm mächtigen Subproben wurden die Tiere durch Nassextraktion bei einer Temperatur von 12-22°C isoliert. Für die Nassextraktion wurde je eine Probe in einem Sieb mit Nylonbespannung (\varnothing 12 cm) in eine Schale mit Leitungswasser gehängt (GRAEFE 1984). Die Probe wurde dabei vollständig untergetaucht. Die Enchytraeiden wanderten im Wasser aus der Probe an den Grund der Schale. Von dort wurden sie mit Hilfe einer Stereolupe abgesammelt, gezählt und lebend unter dem Mikroskop bestimmt. Die Extraktionsdauer betrug 72 h mit Wasserwechseln nach ca. 18 h und 48 h. Die von GRAEFE (1984) empfohlene Extraktionsdauer beträgt in Abhängigkeit vom Raumwiderstand des Substrats bis zu zehn Tage. Da es sich bei den bearbeiteten Proben um Böden mit hohem Sandanteil handelte, wurde eine Extraktionsdauer von drei Tagen für ausreichend erachtet. Diese Vorgehensweise

wird durch die Beobachtung gerechtfertigt, dass bei der letzten Zählung nach 72 h meist nur noch sehr wenige oder gar keine Tiere gefunden werden konnten (Tab. 4). Im Rahmen eines Ringversuchs wurden von DIDDEN ET AL. (1995) verschiedene Modifikationen der Nassextraktion von Enchytraeiden untersucht. Dabei lieferten Extraktionsverfahren ohne Wärmezufuhr, wie das hier verwendete, eine vollständigere Erfassung der Enchytraeiden als Verfahren mit Wärmezufuhr.

Tab. 4: Gesamtzahl der Enchytraeiden in allen Proben, Anzahl Tiere im dritten Zählerdurchgang (nach 72 h) und deren Anteil an der Gesamtzahl, beispielhaft für zwei Probeflächen für das Untersuchungsjahr 1996 (Mittelwerte aus 9 Probenahmeterminen)

Fläche	Individuen gesamt (0-72 h)	Individuen 3. Zählung (nach 72 h)	Anteil Individuen aus 3. Zählung an Gesamtzahl
RefB	43,4	0,89	2,05 %
nPAK	44,2	2,00	4,52 %

Die Proben wurden bis zur Extraktion maximal vier Wochen in den Transportgefäßen bei 2-4°C gelagert. Da eine Bestimmung von fixierten Tieren nur sehr eingeschränkt möglich ist, war aufgrund begrenzter Arbeitskapazität eine Lagerung und sukzessive Bearbeitung der Proben unumgänglich. Untersuchungen an Waldbodenproben von ABRAHAMSEN (1972) zeigten jedoch, dass sich nach zweimonatiger Lagerung bei 2-3°C die Enchytraeidenzahlen in den Proben nicht signifikant verändert hatten.

Für die Bestimmung der lebenden Tiere wurde ein Differential-Interferenz-Kontrast-Mikroskop mit 100-400facher Vergrößerung verwendet (Zeiss Axioskop). Die Identifikation der Arten erfolgte nach NIELSEN & CHRISTENSEN (1959, 1961, 1963), O'CONNOR (1963), ABRAHAMSEN (1969), MÖLLER (1971), GRAEFE (1973), GRAEFE (1980) sowie ROTA & HEALY (1994). Ab 1996 wurde das Verhältnis von juvenilen zu adulten Tieren dokumentiert. Für einige Probenahmetermine wurde außerdem die Segmentzahl der Adulten der häufigen Arten erfasst, da dieser Parameter auch in den Laborversuchen berücksichtigt wurde. Es sollte damit geprüft werden, ob die Segmentzahl durch unterschiedliche Bodeneigenschaften, insbesondere die Schwermetallgehalte, beeinflusst wird. Gleichzeitig wurde auf diese Weise die recht aufwendige und fehlerträchtige Wägung der Tiere (LUNDKVIST 1978, ELZER 1993) zur Ermittlung der Biomasse, einem anderen möglichen Maß für Größe und Wachstum, vermieden.

3.3 Messung abiotischer Bodeneigenschaften

3.3.1 Wassergehaltsbestimmung

Die Wassergehaltsbestimmung erfolgte gravimetrisch durch Differenzwägung vor und nach Trocknung der Proben (SCHLICHTING ET AL. 1995). Die Trocknung erfolgte bei 105°C. Die Trockenzeit betrug bei den Freilandproben 15-20 h, bei den Proben aus Labortests aufgrund der geringeren Bodenmenge nur 4-5 h. Die Angabe des Wassergehaltes erfolgt in % des Trockengewichts (% TG), wenn nicht anders angegeben.

3.3.2 Bestimmung der Wasserhaltekapazität (WHK)

Die Bodenproben wurden zunächst luftgetrocknet und gesiebt (Maschenweite 2 mm). Der gesiebte Boden wurde in einen Kunststoffzylinder gegeben, der auf einer Seite mit feinmaschiger Gaze (ca. 125 µm Maschenweite) verschlossen war. Der Zylinder mit dem Boden wurde für 30 h in ein mit Wasser gefülltes Gefäß gestellt, wobei der Wasserspiegel bis knapp über die Schütthöhe des Bodens reichte. Kürzere Sättigungszeiten (vgl. z. B. DIN ISO 11268-2: 2000) reichten für eine vollständige Sättigung des lufttrockenen Bodens mit Wasser nicht aus. Wegen der schlechten Benetzbarkeit einiger Rieselfeldböden wurden diese z. T. noch vorbefeuchtet, da andernfalls selbst nach 30 h keine Wassersättigung gewährleistet war. Aus dem Wasserbad wurde der Zylinder in ein feuchtes Sandbad überführt, wo er für 24 h abtropfen konnte. Die Schütthöhe des Sandes betrug 9 cm. Zur Befeuchtung des Sandbads wurde bei geschlossenem Ablauf Aqua dest. zugegeben bis zur Überstauung. Luftblasen wurden durch Klopfen entfernt. Dann wurde der Ablauf geöffnet, so dass überschüssiges Wasser ablaufen konnte, und der Ablauf wieder verschlossen. Dieser Vorgang wurde nach 30 h noch einmal wiederholt. Der feuchte Sand wurde dann mit einem feuchten Filterpapier bedeckt, auf das die Zylinder gestellt wurden. Das Sandbad samt Zylindern wurde mit Folie abgedeckt, um die Verdunstung einzuschränken. Nach dem Abtropfen wurde der Wassergehalt des Bodens gravimetrisch bestimmt (18 h bei 105 °C) und in % TG angegeben.

Die Methode wird hier so ausführlich geschildert, da sich in den verschiedenen Methodenvorschriften (SCHINNER ET AL. 1993, ISO 14238 1997, DIN ISO 11268-2 2000, ISO/WD 16387 2000) teils widersprüchliche, teils lückenhafte Angaben zu Füllhöhe bzw. Einwaage in den Zylindern, Sättigungs- und Abtropfzeiten sowie der

Schütthöhe und Feuchtigkeit des Sandbades finden. Die Füllhöhe in den Zylindern ist von Bedeutung, da der Druck der Wassersäule in der Bodenprobe entwässernd wirkt (SCHLICHTING ET AL. 1995) und von der Höhe dieser Wassersäule abhängt. Die Füllhöhe der Zylinder betrug in der vorliegenden Untersuchung 3,2 cm. Diese Füllhöhe wurde gewählt, um eine Vergleichbarkeit mit den Untersuchungen von ABRAHAMSEN (1971) und DÓZSA-FARKAS (1977) zu gewährleisten. Die Wassersättigung und Füllhöhe des Sandbades beeinflussen dessen Saugspannung und sind damit ebenfalls von Belang (SCHINNER ET AL. 1993).

3.3.3 Glühverlustbestimmung

Die ofentrockenen Proben der Wassergehaltsbestimmung wurden für die Bestimmung des Gehalts organischer Substanz weiterverwendet. Die fünf Proben der gleichen Tiefenstufe eines Standorts wurden zu einer Mischprobe vereinigt. Das Material wurde gesiebt (Maschenweite 2 mm) und der Gehalt organischer Substanz über eine Glühverlustbestimmung ermittelt. Für die Messung wurden 5-11 g des ofentrockenen Bodens bei 550°C über 5 h verascht (drei Parallelen). Der Gehalt organischer Substanz in % TG wurde durch Differenzwägung vor und nach der Veraschung ermittelt. Eine mögliche Fehlerquelle dieser Methode ist der Gewichtsverlust durch Freisetzung von Kristallwasser aus Gips, Tonmineralen und Sesquioxiden (SCHLICHTING ET AL. 1995). Aufgrund des hohen Sand- und geringen Tonanteils der untersuchten Böden wird der dadurch verursachte Fehler hier als gering eingeschätzt.

3.3.4 pH-Wert

Der pH-Wert wurde in 0,01 molarer CaCl_2 -Lösung gemessen. Dazu wurden 4 g Boden nach Zugabe von 10 ml CaCl_2 -Lösung (Verhältnis Boden zu Lösung 1 : 2,5) für 2 h geschüttelt. Die Messung erfolgte mit einem Ionen-Meter (Schott CG 104) mit Glaselektrode (Schott BlueLine 12 pH). Die Freilandproben wurden in feldfrischem Zustand gemessen. Vor der Messung wurden die Proben auf ≤ 2 mm gesiebt.

Die bei den ökotoxikologischen Labortests nach Testende vorgenommene pH-Messung erfolgte überwiegend wie oben beschrieben. Auch hier wurde der Boden in feuchtem Zustand gemessen. Da die Wassergehalte bei den verschiedenen Versuchen unterschiedlich waren, wurde für das Mischungsverhältnis Boden : CaCl_2 -Lsg. (1 : 2,5) das Bodentrockengewicht zugrundegelegt, so dass immer die gleiche Menge Boden untersucht wurde.

3.3.5 Bodenart

Die Bodenart wurde an angefeuchtetem Bodenmaterial durch die Fingerprobe gemäß Bodenkundlicher Kartieranleitung (AG BODEN 1994) bestimmt.

3.3.6 Temperatur

Die Bodentemperatur wurde in drei Tiefenstufen gemessen: an der Bodenoberfläche, in 5 cm und 10 cm Tiefe (Sekundenthermometer testotherm 7200). Die Messung erfolgte nacheinander auf den am jeweiligen Termin untersuchten Flächen. Der Messzeitpunkt war für die einzelnen Flächen nicht an allen Terminen exakt derselbe, sondern lag je Fläche innerhalb eines Zeitrahmens von etwa 2 h.

3.3.7 Schwermetallanalysen

Zur Erfassung der Gesamtgehalte ausgewählter Schwermetalle wurde ein Königswasseraufschluss nach VDLUFA (1991) vorgenommen. In Abweichung von dieser Vorschrift wurde für das Kochen des Aufschlusses kein Rückflusskühler, sondern ein temperaturregulierbares Sandbad benutzt. Außerdem wurde eine Ammoniumnitrat-Extraktion vorgenommen, um Anhaltspunkte für den bioverfügbaren Schwermetallanteil zu haben (DIN 19730 1997, ZEIEN & BRÜMMER 1989). Entgegen der DIN wurde kein Überkopf- sondern ein Horizontalschüttler verwendet. Für die Filtration wurden bei beiden Aufschlussmethoden Filter der Firma Schleicher & Schuell verwendet (589³ Blaubandfilter aschefrei, Ref. No. 300211). Die verwendeten Chemikalien waren „zur Analyse“ geeignet. Zur Herstellung von Lösungen wurde bidestilliertes Wasser eingesetzt. Die Messungen beider Aufschlüsse erfolgten mit einem Atomabsorptions-Spektralphotometer (Flammen-AAS: Perkin Elmer 3300) durch das Institut für Landschaftsentwicklung, Fachgebiet Landschaftsbau/Abfallbelastung der Landschaft, der Technischen Universität Berlin.

Neben Rieselfeldproben wurde auch der Standardboden LUFA 2.2 (siehe 3.7) sowie mit Zink dotierter Standardboden LUFA 2.2 analysiert. Die Kontamination mit Zink erfolgte in gleicher Weise wie für die Reproduktionsversuche (siehe 3.7.7). Der Standardboden wurde für die Analysen auf folgende Gehalte aufdotiert: 55 mg Zn/kg, 137 mg Zn/kg und 228 mg Zn/kg. Von jedem dieser Ansätze wurde außerdem eine angesäuerte Variante angemischt mit 0,05 ml HCl (37 %) je 100 g (TG). Der Zeitraum zwischen Zink- sowie Säurezugabe und den Schwermetallanalysen betrug zwei Wochen.

3.4 Besiedlungsversuche mit Enchytraeiden im Freiland

Auf der Probefläche nPCB(-) (ohne Vegetation) wurden im ersten Untersuchungsjahr (1995) keine Enchytraeiden gefunden. Als Ursache dafür wurden die relativ hohen Schwermetallgehalte auf dieser Fläche in Kombination mit einem niedrigen pH-Wert vermutet (s. Tab. 1). Andererseits erschien es aber auch denkbar, dass die Enchytraeidenpopulation aufgrund der vorangehenden Berieselung und anschließenden Einebnung erloschen und der Boden zufällig, d. h. unabhängig von der stofflichen Belastung, bis dahin nicht wieder von Enchytraeiden besiedelt worden war. Getestet werden sollte daher in zwei Freilandversuchen, ob eine Einwanderung von Enchytraeiden in Versuchsgefäße mit organischem bzw. mineralischem Material des nPCB-Bodens prinzipiell stattfindet. Auf der Fläche nPCB findet sich oberflächlich ein mineralischer Horizont sowie in 2-10 cm Tiefe in den Wallbereichen der ehemals gepflügten Fläche ein Horizont mit einem hohen Anteil organischer Substanz. Mit Material aus dem mineralischen Horizont von nPCB(-) wurde der Besiedlungsversuch im mineralischen Oberboden einer eingezäunten Versuchsfläche am Standort RefB durchgeführt, welche direkt an das Areal für die längerfristigen Untersuchungen angrenzte. Dieser Standort wurde ausgewählt, da hier das Einwanderungspotential aus einer eher dünn mit Enchytraeiden besiedelten, ehemaligen Rieselfeldfläche betrachtet werden sollte und die Umzäunung Schutz vor Vandalismus bot. Um festzustellen, ob Rieselfeldböden von den weniger säureempfindlichen Arten besiedelt werden können, die bevorzugt in der organischen Auflage saurer Forstböden vorkommen, wurde ein zweiter Versuch auf einer Versuchsfläche im Bucher Forst durchgeführt. Aufgrund der höheren Besiedlungsdichte im Vergleich zu den Rieselfeldflächen wurde hier ein deutlich höheres Besiedlungspotential vermutet. Testmaterial für diesen Versuch wurde aus dem stark organischen Horizont der nPCB(-)-Fläche entnommen. Außer der Variante mit Material des nPCB-Bodens im Testgefäß wurden bei beiden Versuchen zwei weitere Varianten angelegt (Tab. 5). Die Kontrollvarianten ohne Testgefäß bestanden aus einer Bodenstecherprobe bis in 8 cm Tiefe. Für die Kontrollvarianten mit Testgefäß wurde Material der RefB-Fläche bzw. des Of- und Oh-Horizontes des Forstbodens entnommen. Das Material zur Befüllung der Testgefäße wurde jeweils in Gefrierbeuteln ins Labor transportiert und dann zwecks Abtötung eventuell darin enthaltener Enchytraeiden 24-48 Stunden bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren (BAUER ET AL. 1994). Vor dem Einfrieren wurde eine Mischprobe zur Bestimmung des pH-Wertes entnommen. Die weitere Lagerung erfolgte bei $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tab. 5: Die Varianten der Besiedlungsversuche

Versuchsfläche	Kontrolle ohne Testgefäß	Kontrolle mit Testgefäß	nPCB-Material im Testgefäß
RefB	Bodenprobe aus 2-8 cm Tiefe	Mineralboden von RefB im Testgefäß	Mineralboden von nPCB(-) im Testgefäß
Forst	Bodenprobe aus 2-8 cm Tiefe	Material der Of/Oh-Horizonte der Fläche Forst im Testgefäß	Material aus dem org. Horizont von nPCB(-) im Testgefäß

Für die Ausbringung wurden Kunststoffringe von 5 cm Durchmesser und 2 cm Höhe, die beiderseits mit Gaze (Maschenweite ca. 1 mm) verschlossen wurden (Abb. 6), randvoll mit dem jeweiligen Bodenmaterial gefüllt. Für die Einbringung der Gazebehälter in den Boden wurde jeweils ein Loch gleichen Durchmessers mit dem Bodenstecher vorgebohrt, der Ring in 4-6 cm Tiefe versenkt und mit den oberen 4 cm des ausgestochenen Bodens abgedeckt. Es wurden jeweils 16 Ringe für die Varianten „Kontrolle mit Testgefäß“ bzw. „nPCB-Material“ auf zwei Flächen von 4x4 m eingesetzt. Gleichzeitig mit bzw. eine Woche nach Einsetzen der Gazebehälter (RefB-Fläche) wurde unmittelbar benachbart zur Testfläche eine Erhebung zur Enchytraeidendichte und zum Bodenwassergehalt durchgeführt.

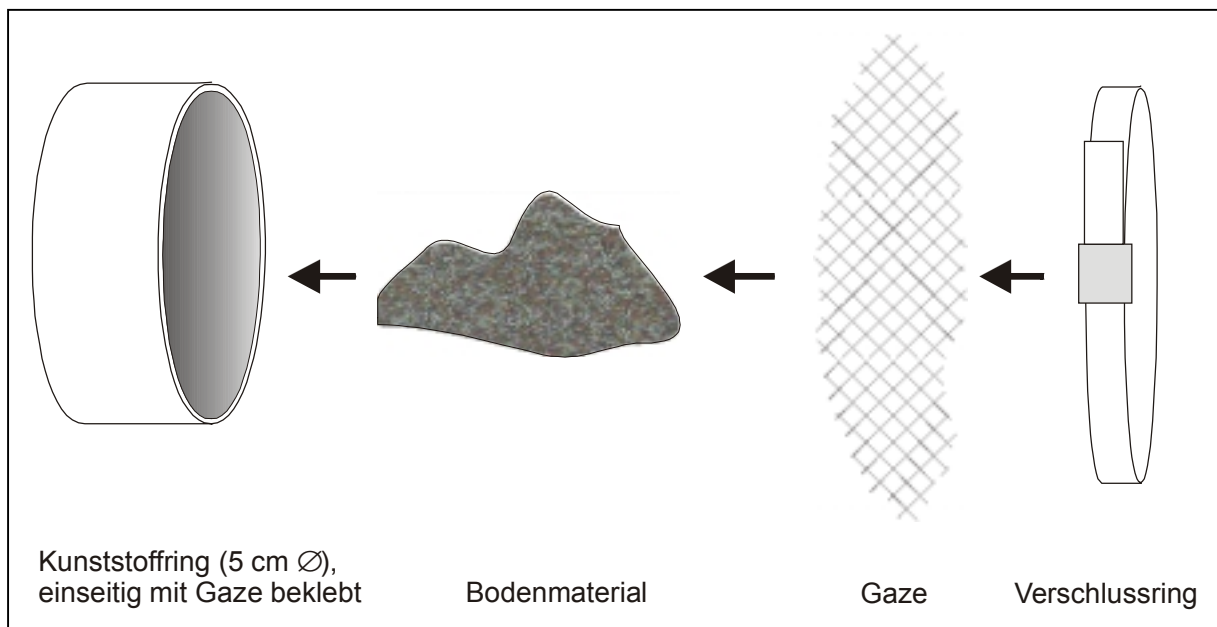


Abb. 6: Zusammensetzen eines Testgefäßes

Die Versuchszeiträume betragen bei der RefB-Fläche wegen der geringen Besiedlungsdichte und ungünstiger Witterung 28 Wochen (8.11.95 – 21.5.96), dagegen beim Bucher Forst nur 12 Wochen (8.8.96 – 31.10.96). Die Mächtigkeit der organischen Auflagehorizonte im Forstboden betrug zu Versuchsbeginn 1-2 cm (L-Horizont) bzw. 3,5-6 cm (Of- und Oh-Horizont zusammen). Die Gazebehälter lagen damit entweder noch im Oh-Horizont oder schon dem Mineralboden auf. Bei der Entnahme der Testgefäße zu Versuchsende wurde zum Vergleich jeweils eine Probe unter und über dem Ring von derselben Größe wie dieser mit dem Bodenstecher entnommen (= drei Teilproben je Probestelle inklusive Testgefäß). In dieser Weise wurden für die Bestimmung der Enchytraeidendichte fünf Proben, für die gravimetrische Wassergehaltsbestimmung vier Proben und für die pH-Bestimmung drei Proben gewonnen. Die verbleibenden vier der insgesamt sechzehn Ringe waren teils beschädigt, teils nicht mehr auffindbar und wurden daher nicht berücksichtigt. Außer den Proben für die beiden Versuchsvarianten „nPCB-Material“ und „Kontrolle mit Testgefäß“ wurden neben den 16m²-Versuchsflächen weitere fünf Stecherproben aus 2-8 cm Tiefe zur Bestimmung der Enchytraeidenabundanzen entnommen („Kontrolle ohne Testgefäß“). Der L-Horizont der organischen Auflage wurde in keinem Falle mit erfasst.

3.5 Zersetzergesellschaften, Zeigerwerte und Lebensformtypen

Die Gesamtheit der an Streuabbau und Mineralisierung beteiligten Organismen eines Standortes wird als Zersetzergesellschaft bezeichnet (GRAEFE 1993a). Die Artenzusammensetzung einer Zersetzergesellschaft steht u. a. über Lebensformtypen und Nahrungsansprüche der Arten in Zusammenhang mit der Zersetzungsintensität der Streu und daher mit Mineralisierung und ökosystemaren Stoffkreisläufen. Die Zersetzergesellschaft zeigt folglich eine enge wechselseitige Beziehung zur Humusform eines Standorts (GRAEFE & BELOTTI 1999) und lässt sich zur Bewertung eines Standorts als Lebensraum für Bodenorganismen heranziehen. Eine Übersicht über die bisher definierten Zersetzergesellschaften gibt Tabelle 6 (GRAEFE 1998). In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die gefundenen Gesellschaften einem der dort aufgeführten Typen zuzuordnen.

Tab. 6: Übersicht der Zersetzergesellschaften mit Standortbeispielen (aus GRAEFE 1998)

Ordnung	Verband	Assoziation
1. <i>Lumbricetalia</i> mäßig saure bis kalkreiche Standorte	1.1 <i>Lumbricion</i> gut durchlüftete, ungestörte Böden	1.11 <i>Stercuto-Lumbricetum</i> Wälder mit Mull-Humusformen
		1.12 <i>Fridericio-Lumbricetum</i> Grünländer und Äcker auf Lehmböden
	1.2 <i>Enchytraeion</i> gestörte und eutrophierte Böden	1.21 <i>Fridericio-Enchytraeetum</i> Äcker auf Sandböden
		1.22 <i>Buchholzio-Enchytraeetum</i> eutrophierte, verdichtete Böden im urbanen Raum
		1.23 <i>Eisenietum</i> Kompostplätze
	1.3 <i>Eiseniellion</i> durchnäßte und luftarme Böden	1.31 <i>Octolasiatum tyrtaei</i> basenreiche Niedermoore, Schwarzerlenbruchwälder
		1.32 <i>Eisenielletum</i> Fließgewässerufer
2. <i>Cognettietalia</i> saure Standorte mit Auflagehumus oder Torf	2.1 <i>Achaeto-Cognettion</i> durchlüftete basenarme Böden	2.11 <i>Achaeto-Cognettietum</i> Wälder und Heiden mit Moder-Humusformen
	2.2 <i>Cognettion sphagnetorum</i> nasse basenarme Böden	2.21 <i>Cognettietum sphagnetorum</i> oligotrophe Moore
3. <i>Henleetalia</i> mäßig saure bis kalkreiche Standorte mit Auflagehumus	3.1 <i>Mesenchytraeo-Henleion</i> kältebedingte Zersetzungs- hemmung	3.11 <i>Mesenchytraeo-Henleetum</i> Permafrostböden in der Tundra
	3.2 <i>Fridericio-Henleion</i> regenwurmarme Böden mit geringer Bioturbation	3.21 <i>Fridericio-Henleetum</i> Sukzessionsstadium der Marschentwicklung
4. Salzbeeinflusste Zersetzergesellschaften (noch nicht untergliedert)		

Außerdem wurden in die Artenlisten Zeigerwerte und Lebensformtypen gemäß GRAEFE & SCHMELZ (1999) aufgenommen (siehe Tab. 24 und 25). Zeigerwerte konzentrieren das Wissen über das ökologische Verhalten von Arten und erleichtern

damit den Überblick über große Datenmengen sowie den Vergleich von Biozönosen mehrerer Standorte. Zeigerwerte bezüglich Bodenfeuchtigkeit und Bodenreaktion wurden für terrestrische Anneliden erstmalig von GRAEFE (1990) vorgestellt. Die Definition der Feuchte- und Reaktionszahlen erfolgte dabei in Anlehnung an ELLENBERG (1979). Inzwischen liegen zu vielen Arten auch Informationen zum Lebensformtyp vor (GRAEFE & SCHMELZ 1999). Die mittleren, ungewichteten Zeigerwerte (umR, umF) eines Standortes berechnen sich durch die Addition der Zeigerwerte des gesamten Artenspektrums mit nachfolgender Division durch die Artenzahl. Arten mit indifferentem Verhalten werden dabei nicht berücksichtigt.

Arten eines Standortes zeigen meist ähnliche Ansprüche hinsichtlich Bodenreaktion und Bodenfeuchte. Das Vorkommen einzelner Arten mit abweichenden Zeigerwerten kann auf eine beginnende Veränderung der Bodeneigenschaften hindeuten. Entsprechend sind auch bei den Zersetzergesellschaften Übergangstypen möglich.

3.6 Zucht der Versuchstiere für die ökotoxikologischen Labortests

Die Laborversuche wurden mit Laborzuchten von *Enchytraeus christenseni christenseni* (im Folgenden als *Enchytraeus christenseni* bezeichnet) und *Enchytraeus sp. (RefB5)* durchgeführt. Die Zuchten wurden mit einem bzw. wenigen Exemplaren begonnen, welche auf den Freilandflächen gefunden wurden. Die Enchytraeiden wurden auf Agar (1,7 %) in Petrischalen gehalten und ein- bis zweimal wöchentlich mit gemörserten Haferflocken gefüttert. Die Haltung erfolgte bei $15\pm 2^\circ\text{C}$ im Dauerdunkel. Bei *E. christenseni* wurden einmal wöchentlich Kokons abgesammelt und auf frische Agarschalen übertragen. Die Kokons enthielten im Allgemeinen je 2-5 Eier. Juvenile Tiere schlüpften im Mittel nach 5,8 Tagen (n = 69 Zuchtschalen) und erreichten nach 16,6 Tagen Geschlechtsreife (n = 55 Zuchtschalen). Bei *E. sp. (RefB5)* erfolgte die Kokonabnahme seltener aufgrund der langsameren Vermehrung der Tiere. In den Kokons dieser Art befanden sich überwiegend ein oder zwei Eier. Juvenile Tiere wurden hier etwa 12,3 Tage nach Kokonabnahme gefunden (n = 6 Zuchtschalen), Adulte nach 49,3 Tagen (n = 4 Zuchtschalen). Da *E. sp. (RefB5)* eine geringere Reproduktionsrate zeigt als *E. christenseni*, standen seltener ausreichend Tiere für Versuche zur Verfügung. Mit *E. sp. (RefB5)* wurden daher weniger Versuche und diese mit weniger Parallelen durchgeführt.

3.7 Mortalitäts- und Reproduktionstests

Für die ökotoxikologischen Tests wurde käuflicher Standardboden der Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFA) Speyer verwendet, Typ 2.2, Chargen Sp 24697, Sp 21999 und Sp 24399. Für diesen Boden wird im Folgenden der Begriff „LUFA 2.2“ verwendet. Obwohl der von der LUFA verwendete Begriff „Standardboden“ eine gleich bleibende Qualität suggeriert, unterscheiden sich die verschiedenen Chargen erfahrungsgemäß durchaus in ihren Eigenschaften. Dies geht zum Teil auch aus den mitgelieferten Analysendaten der LUFA hervor (siehe Anhang 5). Für die hier beschriebenen Reproduktionstests wurde daher überwiegend dieselbe Charge (Sp 24697) benutzt. Das setzte allerdings eine längere Lagerung des Bodens voraus, was wiederum möglicherweise zur Veränderung der Bodeneigenschaften geführt hat.

Voruntersuchungen hatten gezeigt, dass LUFA 2.2 Enchytraeiden, Milben, Insektenlarven und Nematoden beherbergt. Der Boden wurde daher vor den Reproduktionstests zur Defaunierung für mindestens 24 h bei -20°C tiefgefroren. Kunstboden („artificial soil“), wie er üblicherweise bei ökotoxikologischen Tests Verwendung findet (OECD 1984, ISO 11286-1 1993, ISO/WD 16387 2000), wurde auf Grund seiner von Freilandbedingungen stark abweichenden Zusammensetzung als ungeeignet für die hier bearbeitete Fragestellung angesehen.

3.7.1 Durchführung der Mortalitätstests

Mit der ISO/WD 16387 (2000) steht seit kurzem ein Standard für die Durchführung eines Mortalitäts- und Reproduktionstests mit Enchytraeiden zur Verfügung. Von dem Normentwurf wurde hier jedoch wegen der Verwendung anderer als der dort vorgeschlagenen Enchytraeidenarten abgewichen, u. a. hinsichtlich Testlaufzeit, Temperatur und Auszählverfahren.

Wenn nicht anders angegeben, wurde ein Wassergehalt von 20 % eingestellt. Bei einer WHK von LUFA 2.2 von 47,8 % entspricht das 41,8 % der WHK. Für die Befeuchtung wurde der Boden mit der notwendigen Menge Aqua dest. mit einem Mixer in einem Polypropylen-Becher vermischt. Der angefeuchtete Boden wurde vor Einsetzen der Tiere 4-6 Tage in Glasgefäßen bei $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ gelagert. Als Testgefäße wurden 100 ml-Schraubdeckelgläser (Duran, Weithals) mit teflonbeschichtetem

Deckel verwendet. Die Bodeneinwaage je Testgefäß betrug 20 g (TG). Jedem Testgefäß wurde eine Spatelspitze (ca. 10 mg) gemörserte Haferflocken zugegeben.

Für die Versuche wurden geschlechtsreife, möglichst gleich große Tiere den Agarschalen 45-56 Tage nach Umsetzen der Kokons entnommen (*Enchytraeus sp. (RefB5)*: 56-65 und einmal 98 Tage). Aufgrund der geringen Generationszeit von *E. christenseni* gehörten die in einem Test verwendeten Tiere dieser Art nicht notwendigerweise derselben Generation an. Dies wird aber in der ISOWD 16387 (2000) auch nicht verlangt. Die Versuchstiere wurden mit Leitungswasser von der Agarplatte in eine Petrischale gespült. Je zehn Tiere (*E. sp. (RefB5)*: fünf) wurden dann in kleinere Petrischalen mit etwas Wasser und daraus mit einer Pipette mit möglichst wenig Wasser in die Testgefäße überführt. Es wurden sieben Parallelen (*E. sp. (RefB5)*: fünf) je Variante angesetzt sowie zusätzliche Gefäße ohne Tierbesatz zur pH-Wert- und Feuchtemessung nach Testende.

Die Mortalitätstests wurden bei $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ im Dauerdunkel über eine Laufzeit von sieben Tagen durchgeführt. Für die Versuchsauswertung wurden die Testgefäße mit Leitungswasser gefüllt, kurz vorsichtig geschüttelt und der aufgeschwemmte Inhalt jeweils auf zwei Petrischalen (\varnothing 14 cm) verteilt. Nach Verschwinden der Trübung wurden die Tiere mit Hilfe einer Stereolupe gezählt.

3.7.2 Durchführung der Reproduktionstests

Die Testvorbereitung entsprach der der Mortalitätstests. Die Laufzeit der Reproduktionstests betrug 21 Tage (*Enchytraeus sp. (RefB5)*: 42 Tage) bei $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ im Dauerdunkel. Zur Belüftung wurden die Gefäße zweimal wöchentlich kurz aufgeschraubt. Nach 14 Tagen (*E. sp. (RefB5)*: nach 28 Tagen) erfolgte eine Fütterung sowie eine gravimetrische Kontrolle des Wassergehalts. Lediglich die Zusatzgefäße ohne Versuchstiere wurden nicht mit weiterem Futter versorgt.

Für die Versuchsauswertung wurden die Testgefäße mit Leitungswasser gefüllt, kurz vorsichtig geschüttelt und der aufgeschwemmte Inhalt jeweils auf drei Petrischalen (\varnothing 14 cm) verteilt. Dann wurden die Juvenilen mit Hilfe einer Stereolupe gezählt. Die anfangs eingesetzten zehn Adulten ließen sich klar von ihren Nachkommen unterscheiden, da diese am Testende noch nicht geschlechtsreif waren. Allerdings zeigte sich schon bald, dass es zwischen den Adulten der verschiedenen

Testvarianten eines Tests zu Versuchsende makroskopisch sichtbare Größenunterschiede gab. Daher wurde in einigen Versuchen bei den Adulten nach Testende eine Segmentzählung durchgeführt, um die Aussagekraft der Körperlänge als zusätzlichem Testparameter zu überprüfen. Dafür wurden die Tiere in 70 %igem Ethanol fixiert und bei 200facher Vergrößerung mikroskopiert.

3.7.3 Vorversuch zur Ermittlung einer optimalen Versuchslaufzeit

Gemäß der ISO/WD 16387 (2000) werden die zu Testbeginn eingesetzten Adulten nach der Hälfte der Testlaufzeit aus den Gefäßen entfernt. Damit ist die Möglichkeit gegeben, die Mortalität der Adulten zu erfassen, die die Gesamtzahl der Juvenilen zu Testende beeinflussen kann. Diese Prozedur ist allerdings arbeitsaufwendig und bedeutet eine mechanische Störung des Testbodens. Hier wurde daher eine Testlaufzeit angestrebt, die einerseits eine Identifizierung der eingesetzten Adulten am Testende erlaubt, andererseits aber eine Reproduktion gewährleistet, die eine statistische Bearbeitung der Ergebnisse ermöglicht. Es wurden Laufzeiten von 14, 21 und 28 Tagen im Reproduktionstest mit *Enchytraeus christenseni* untersucht. Abweichend von den o. g. Bedingungen betrug der Wassergehalt 32 % und die Zahl der Parallelen fünf statt sieben. Für *Enchytraeus sp. (RefB5)* wurde eine geeignete Versuchslaufzeit anhand der aus der Zucht gewonnenen Lebenszyklusdaten geschätzt (42 Tage).

3.7.4 Versuche zum Einfluss der Bodenfeuchte

Die Versuche zum Einfluss der Bodenfeuchte wurden mit LUFA 2.2 bei unterschiedlichen Bodenwassergehalten durchgeführt (Tab. 7). Da LUFA 2.2 nicht trocken geliefert wird, musste der Boden für die Varianten mit < 20 % zunächst getrocknet werden. In Abweichung von dem o. g. Verfahren wurden bereits bei der Untermischung des Wassers ca. 0,25 % gemörserte Haferflocken als Futter zugegeben und nach dem Befeuchten keine Wartezeit von 4-6 Tagen eingehalten.

Tab. 7: Wassergehalte der Reproduktionstests zum Einfluss der Bodenfeuchte in % TG.

	<i>Enchytraeus christenseni</i>	<i>Enchytraeus sp. (RefB5)</i>
Reproduktionstest WG 1	20; 25; 30; 35 %	5; 15; 25 %
Reproduktionstest WG 2	5; 10; 15; 20 %	-
Reproduktionstest WG 3	35; 40; 45; 50 %	-

3.7.5 Versuch zum Einfluss des Mixens des Bodens

Bei den Versuchen zur Bodenfeuchte zeigte sich, dass es in Abhängigkeit vom Wassergehalt beim Mischen des Bodens zu mehr oder weniger starker Klumpenbildung kam. Es konnte daher nicht ausgeschlossen werden, dass unterschiedliche Reproduktionsraten bei verschiedenen Wassergehalten nicht ausschließlich auf den Faktor Feuchte sondern auch auf den Faktor Bodenstruktur (Klumpengröße) zurückzuführen waren. Zu diesem Problem wurde ein Reproduktionstest mit *Enchytraeus christenseni* bei drei Wassergehalten (15 %, 20 % und 30 %) in zwei Varianten durchgeführt. Die Variante „gemixt“ wurde entsprechend der Versuche zur Bodenfeuchte vorbereitet. Bei der Variante „ungemixt“ wurden Boden und Futter in die Testgefäße eingewogen und das Wasser zur Einstellung der gewünschten Feuchte darauf pipettiert. Beide Varianten wurden vor Einsetzen der Tiere 3-4 Stunden ruhen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit hatte sich auch in den ungemixten Ansätzen, soweit äußerlich sichtbar, das Wasser im Boden verteilt.

3.7.6 Versuche zum Einfluss des pH-Wertes

Für diese Versuche wurde Standardboden mit unterschiedlichen pH-Werten durch Zugabe von HCl (37 %, reinst, Merck No. 1.00314.2500) bzw. CaCO₃ (gefällt, reinst Merck No. 2064.5000) vorbereitet. Dabei wurde nicht versucht, einen bestimmten pH-Wert genau einzustellen, sondern es wurden verschiedene, definierte Mengen CaCO₃ bzw. HCl zugegeben. Das Calciumcarbonat wurde mit dem befeuchteten Boden (Wassergehalt 20 %) gemischt. Die Salzsäure wurde dem Wasser für die Wassergehaltseinstellung zugegeben. Nach 4-6 Tagen Lagerung bei 15±2°C wurde der pH-Wert gemessen (Tab. 8). Danach wurden je zwei angesäuerte und zwei aufgekalkte Varianten für den Versuch ausgewählt.

Tab. 8: pH-Werte von LUFA 2.2 mit und ohne Zugabe von CaCO₃ und HCl.

Variante	pH-Wert	Verwendung im Reproduktionstest pH
LUFA 2.2	5,3	+
0,05 % (TG) CaCO ₃	6,6	+
0,10 % (TG) CaCO ₃	6,7	-
0,15 % (TG) CaCO ₃	7,0	+
0,1 ml HCl/100g (TG) LUFA 2.2	4,8	+
0,2 ml HCl/100g (TG) LUFA 2.2	4,2	+

3.7.7 Versuche mit Zinkchlorid

Der Standardboden LUFA 2.2 wurde für diese Versuche mit Zinkchlorid kontaminiert (ZnCl_2 trocken z.A., Merck 8816). Das ZnCl_2 wurde in einer geeigneten Menge Aqua dest. gelöst und im Rahmen der Befeuchtung mit dem Boden vermischt. Die untersuchten Zinkgehalte sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Für die Reproduktionstests 1 und 2 mit *Enchytraeus christenseni* wurde der Boden im selben Arbeitsgang vorbereitet. Mit der einen Hälfte wurde der Versuch wie üblich nach einer Lagerung von 4-6 Tagen begonnen (Reproduktionstest Zink 1). Die zweite Hälfte des kontaminierten Bodens wurde bei $15\pm 2^\circ\text{C}$ 26 Wochen gelagert und dann für einen weiteren Versuch eingesetzt (Reproduktionstest Zink 2). Damit sollte der Effekt der „Alterung“ der Zink-Kontamination auf die Toxizität geprüft werden. Daraus können sich Hinweise für die Vergleichbarkeit der übrigen ökotoxikologischen Tests (frische Kontamination) mit den Freilanddaten (gealterte Kontamination) ergeben.

Tab. 9: Eingesetzte Zinkgehalte (mg/kg TG).

	<i>Enchytraeus christenseni</i>	<i>Enchytraeus sp. (RefB5)</i>
Mortalitätstest Zink 1	81; 146; 262; 472; 850	178; 216; 262; 319; 388; 472
Mortalitätstest Zink 2	178; 216; 262; 319; 388; 472	319; 359; 404; 454; 511; 575
Reproduktionstest Zink 1	25; 45; 81; 146; 262; 472	45; 81; 146
Reproduktionstest Zink 2	(gealtert) 25; 45; 81; 146; 262	-
Reproduktionstest Zink 3	81; 103; 124; 146	-

3.7.8 Versuche mit Natriumchlorid und Calciumchlorid

Bei ökotoxikologischen Tests mit Schwermetallchloriden besteht die Möglichkeit, dass nicht nur das Zink-Kation, sondern auch das Chlorid-Anion toxisch wirkt. Zur Abschätzung dieses Effektes wurden Versuche mit NaCl (Roth Art. No. 9265.1) und $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck Art. 2382 z.A.) durchgeführt. Dabei wurden bei den Versuchen mit CaCl_2 ähnliche Molaritäten wie bei den ZnCl_2 -Versuchen verwendet. NaCl wurde jeweils bei der zweifachen Molarität getestet, da 1 Mol NaCl bei vollständiger Lösung nur halb so viele Cl^- -Ionen liefert wie 1 Mol CaCl_2 oder ZnCl_2 . 1 mmol entspricht 136,28 mg ZnCl_2/kg bzw. 58,44 mg NaCl/kg bzw. 110,98 mg CaCl_2/kg (Tab. 10). Die Reproduktionstests mit NaCl und CaCl_2 wurden nur mit fünf Replikaten je Variante durchgeführt.


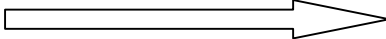
Tab. 10: In zwei Reproduktionstests mit *E. christenseni* untersuchte NaCl- und CaCl_2 - Gehalte.

	NaCl	CaCl_2
Reproduktionstest Chloride 1	1; 2; 4; 8 mmol	0,5; 1; 2; 4 mmol
Reproduktionstest Chloride 2	8; 16; 32 mmol	4; 8; 16 mmol

3.7.9 Kombinationsversuche


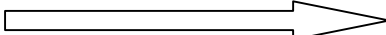
Ein möglicher Kombinationseffekt von pH-Wert und Bodenfeuchte auf die Reproduktion von *Enchytraeus christenseni* wurde durch Kombination von zwei pH-Werten mit zwei Wassergehalten untersucht. Dabei wurde jeweils ein pH-Wert und ein Wassergehalt verwendet, der sich in den vorangegangenen Versuchen als günstig für die Reproduktion erwiesen hatte. Außerdem wurden je ein pH-Wert und ein Wassergehalt untersucht, von dem ein schwach ungünstiger Effekt, d. h. eine Reproduktionseinschränkung, erwartet wurde (Tab. 11).

Tab. 11: Die vier Versuchsvarianten im kombinierten pH-Bodenfeuchte-Test (Reproduktionstest pH - WG). WG: Wassergehalt

 zunehmend ungünstige Bedingungen	zunehmend ungünstige Bedingungen 	
	LUFA 2.2 WG 20 %	LUFA 2.2 WG 20 % + 0,05 ml HCl / 100g
	LUFA 2.2 WG 15 %	LUFA 2.2 WG 15 % + 0,05 ml HCl / 100g


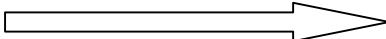
Ein möglicher Kombinationseffekt von Bodenfeuchte und Zinkkontamination auf die Reproduktion von *Enchytraeus christenseni* wurde durch Kombination von zwei Wassergehalten mit drei Zinkgehalten untersucht (Tab. 12).

Tab. 12: Die sechs Versuchsvarianten im kombinierten Zink-Bodenfeuchte-Test (Reproduktionstest Zink – WG 1). WG: Wassergehalt

 zunehmend ungünstige Bedingungen	zunehmend ungünstige Bedingungen 		
	LUFA 2.2 WG 20 %	LUFA 2.2, WG 20 % + 60 mg Zn/kg	LUFA 2.2, WG 20 % + 81 mg Zn/kg
	LUFA 2.2 WG 15 %	LUFA 2.2, WG 15 % + 60 mg Zn/kg	LUFA 2.2, WG 15 % + 81 mg Zn/kg

Schließlich wurde ein möglicher Kombinationseffekt von pH-Wert und Zinkkontamination auf die Reproduktion von *Enchytraeus christenseni* durch Kombination von zwei pH-Werten mit drei Zinkgehalten untersucht (Tab. 13).

Tab. 13: Die sechs Versuchsvarianten im kombinierten Zink-pH-Test (Reproduktionstest Zink – pH 1)

 zunehmend ungünstige Bedingungen	zunehmend ungünstige Bedingungen 		
	LUFA 2.2	LUFA 2.2 + 60 mg Zn/kg	LUFA 2.2 + 81 mg Zn/kg
	LUFA 2.2 + 0,05 ml HCl / 100g	LUFA 2.2 + 0,05 ml HCl / 100g + 60 mg Zn/kg	LUFA 2.2 + 0,05 ml HCl / 100g + 81 mg Zn/kg

Da außerdem eine EC_{50} für Zink unter Säureeinfluss berechnet werden sollte, wurde ein weiterer Reproduktionstest mit *Enchytraeus christenseni* in angesäuertem Boden durchgeführt (Reproduktionstest Zink – pH 2). Es wurden die Varianten Kontrolle, 60 mg Zn/kg, 81 mg Zn/kg, 103 mg Zn/kg und 124 mg Zn/kg untersucht. Die Säurezugabe betrug in allen Varianten 0,05 ml HCl / 100g (TG) LUFA 2.2. Dieser Test wurde mit fünf Replikaten je Variante durchgeführt.

3.8 Statistik

Die statistische Bearbeitung der Ergebnisse erfolgte mit SigmaStat 2.03 und SigmaPlot 5.0 (SPSS Inc.). Je nach Datenstruktur und Fragestellung kamen unterschiedliche statistische Tests zum Einsatz, die in Tabelle 14 zusammengefasst sind. Die Auswertung der Kombinationsversuche beinhaltet eine zweifaktorielle Varianzanalyse zur Prüfung von signifikanten Wechselwirkungen zwischen den beiden jeweils untersuchten Faktoren. Eine mögliche Korrelation zwischen zwei Faktoren, z. B. Enchytraeidenabundanzen und Bodenwassergehalten, wurde mit der Pearson Produkt-Moment-Korrelation geprüft. Wenn nicht anders angegeben, beträgt das Signifikanzniveau bei allen statistischen Verfahren $p = 0,05$. Bei den Boxplotdarstellungen bezeichnen die durchgezogene Mittellinie in der Box den Median, die untere und obere Begrenzung der Box das erste und dritte Quartil, so dass innerhalb der Box 50 % der Messwerte liegen.

Tab. 14: Verwendete statistische Tests (FOX ET AL. 1995)

Bedingungen:	zwei Varianten	> zwei Varianten	Post-Hoc-Tests nach Varianzanalyse		
			<i>Parallelenzahl</i>		
			<i>gleich</i>		<i>ungleich</i>
			<i>Vergleich mit einer Kontrolle:</i>	<i>multipler Vergleich:</i>	
Normalverteilung und Varianzhomogenität	t-Test	ANOVA	Dunnett's Test; bei n < 6: Bonferroni t-Test	Tukey Test	-
keine Normalverteilung und / oder keine Varianzhomogenität	U-Test	Kruskal-Wallis Rangvarianzanalyse	Dunnett's Test	Tukey Test	Dunn's Test

Als NOEC (no observed effect concentration) wird bei den ökotoxikologischen Versuchen die höchste, getestete Konzentration angegeben, die sich als nicht signifikant verschieden von der Kontrolle erwiesen hat (ANOVA oder Kruskal-Wallis Rangvarianzanalyse). Als LOEC (lowest observed effect concentration) wird entsprechend die niedrigste getestete Konzentration angegeben, die signifikant von der Kontrolle verschieden ist. Aus dieser Definition der beiden Werte folgt, dass NOEC und LOEC von folgenden Größen abhängen (RÖMBKE ET AL. 1995):

- der Zahl der getesteten Konzentrationen
- der Größe der Intervalle zwischen den getesteten Konzentrationen
- der Varianz des untersuchten Parameters
- der Anzahl der Replikate.

Je geringer die Zahl der getesteten Konzentrationen und je größer die Intervalle zwischen diesen, desto ungenauer sind die ermittelten NOEC- und LOEC-Werte. Bei hoher Varianz der Daten kann die NOEC außerdem bereits deutlich im Wirkungsbereich der untersuchten Substanz liegen. Aufgrund dieser Schwachpunkte ist das Konzept dieser beiden Größen mehrfach kritisiert worden (LASKOWSKI 1995, LØKKE & VAN GESTEL 1998). In der vorliegenden Arbeit werden NOEC und LOEC trotzdem angegeben, um einen Vergleich mit Literaturdaten zu ermöglichen.

Darüber hinaus wurden die Konzentrationen abgeschätzt, die einen Effekt von 50 % auf die Mortalität (LC₅₀) bzw. auf die Reproduktion (EC₅₀) haben. Die LC₅₀- / EC₅₀-Werte wurden in Anlehnung an WEBER (1986) und RÖMBKE ET AL. (1995) durch Probit-Transformation ermittelt. Dazu wurden für die EC₅₀-Berechnung die Ergebnisse zunächst in % der Kontrolle umgerechnet (ISO/WD 16387 2000). Dann

erfolgte eine Transformation der prozentualen Effekt-Daten in Probits (y-Achse). Die Metall-Konzentration wurde logarithmisch (log) aufgetragen (x-Achse). Auf diese Weise wird die ursprünglich sigmoide Dosis-Effekt-Kurve im Idealfall in eine Gerade umgewandelt. Durch lineare Regression erhält man eine Geradengleichung, aus der sich die LC_{50} / EC_{50} berechnen lässt.

Probleme ergeben sich dadurch, dass ein Teil der Daten nicht in die Regression eingeht. Die Kontrolle wird bei der logarithmischen Transformation nicht berücksichtigt, da $\log 0$ nicht definiert ist. Außerdem werden Effekte von 0 % und ≥ 100 % vom Programm verworfen, da diese Werte in Probits transformiert Werte von $-\infty$ bzw. $+\infty$ annehmen. Daher kommt es in Versuchen, bei denen weniger als drei Konzentrationen einen Effekt >0 % und <100 % zeigen, zu z. T. absurden Ergebnissen. Es empfiehlt sich in diesen Fällen, den Versuch mit einer engeren Abstufung der getesteten Konzentrationen zu wiederholen. Das zu den Regressionsgeraden angegebene Bestimmtheitsmaß r^2 beschreibt die Stärke des Zusammenhangs zwischen der abhängigen und der unabhängigen Variablen einer Regression. Je näher r^2 dem Wert 1 kommt, desto stärker ist der Zusammenhang. SigmaStat bestimmt bei der linearen Regression außerdem mittels Varianzanalyse, ob der Zusammenhang zwischen dem abhängigen und dem unabhängigen Faktor signifikant ist.